

(案)

動物用医薬品評価書

ジルパテロール

2012年11月

食品安全委員会動物用医薬品専門調査会

目 次

	頁
○審議の経緯	3
○食品安全委員会委員名簿	3
○食品安全委員会動物用医薬品専門調査会専門委員名簿	3
○要 約	4
I. 評価対象動物用医薬品の概要	5
1. 用途	5
2. 有効成分の一般名	5
3. 化学名	5
4. 分子式	5
5. 分子量	5
6. 構造式	5
7. 使用目的及び使用状況	5
II. 安全性に係る知見の概要	6
1. 薬物動態試験	6
(1) 薬物動態試験 (ラット①)	6
(2) 薬物動態試験 (ラット②)	6
(3) 薬物動態試験 (ラット③)	7
(4) 薬物動態試験 (豚)	8
(5) 薬物動態試験 (牛①)	8
(6) 薬物動態試験 (牛②)	10
(7) 結合型残留物の生物学的利用率 (ラット)	11
2. 残留試験	12
(1) 残留試験 (牛①)	12
(2) 残留試験 (牛②)	14
(3) 標的組織及び残留マーカーについて	15
3. 遺伝毒性試験	15
4. 急性毒性試験	17
5. 亜急性毒性試験	17
(1) 30日間亜急性毒性試験 (ラット)	17
(2) 30日間亜急性毒性試験 (イヌ)	18
(3) 4週間亜急性毒性試験 (サル)	19
(4) 90日間亜急性毒性試験 (ラット)	19
(5) 13週間亜急性毒性試験 (ラット)	20
(6) 13週間亜急性毒性試験 (豚)	21
6. 慢性毒性及び発がん性試験	22
(1) 52週間慢性毒性試験 (ラット)	22
(2) 18か月間発がん性試験 (マウス)	22
(3) 104週間発がん性試験 (ラット)	23
7. 生殖発生毒性試験	23
(1) 2世代繁殖試験 (ラット)	23
(2) 発生毒性試験 (マウス)	24

(3) 発生毒性試験 (ラット)	25
(4) 発生毒性試験 (ウサギ)	25
8. 対象動物を用いた安全性試験	26
9. その他の試験	26
(1) 皮膚刺激性試験 (ウサギ)	26
(2) 眼刺激性試験 (ウサギ)	26
(3) 皮膚感作試験 (モルモット)	27
10. 薬理試験	27
(1) ジルパテロール塩酸塩の一般薬理試験	27
(2) ジルパテロール塩酸塩及びその代謝物の心臓及び血管への影響 (ラット)	30
11. ヒトにおける知見	31
(1) 健常ヒトボランティアにおける忍容性試験	31
(2) 喘息患者ボランティアにおける薬理試験	32
III. 食品健康影響評価	33
1. FDA における評価	33
2. 毒性学的影響について	33
(1) 遺伝毒性について	33
(2) 亜急性毒性試験	33
(3) 慢性毒性及び発がん性試験	33
(4) 生殖発生毒性について	34
(5) 薬理試験について	34
(6) ヒトに対する影響	34
3. 一日摂取許容量 (ADI) の設定について	34
・表 26 FDA における各種試験の無毒性量等の比較	36
・別紙 1 : 検査値等略称	37
・参照	38

〈審議の経緯〉

- 2012年 3月 26日 厚生労働大臣から残留基準設定に係る食品健康影響評価について
要請（厚生労働省発食安第0323第5号）、関係書類の接受
- 2012年 3月 29日 第425回食品安全委員会（要請事項説明）
- 2012年 6月 19日 第141回動物用医薬品専門調査会
- 2012年 11月 12日 第453回食品安全委員会（報告）

〈食品安全委員会委員名簿〉

(2012年6月30日まで)	(2012年7月1日から)
小泉 直子（委員長）	熊谷 進（委員長）
熊谷 進（委員長代理*）	佐藤 洋（委員長代理）
長尾 拓	山添 康（委員長代理）
野村 一正	三森 国敏（委員長代理）
畑江 敬子	石井 克枝
廣瀬 雅雄	上安平 冽子
村田 容常	村田 容常

* : 2011年1月13日から

〈食品安全委員会動物用医薬品専門調査会専門委員名簿〉

(2012年6月30日まで)	(2012年7月1日から)
三森 国敏（座長）	山手 丈至（座長*）
山手 丈至（座長代理）	小川 久美子（座長代理*）
石川 さと子 福所 秋雄	石川 さと子 舞田 正志
石川 整 舞田 正志	石川 整 松尾 三郎
小川 久美子 松尾 三郎	寺本 昭二 山口 成夫
寺本 昭二 山口 成夫	天間 恭介 山崎 浩史
天間 恭介 山崎 浩史	頭金 正博 吉田 敏則**
頭金 正博 渡邊 敏明	能美 健彦 渡邊 敏明
能美 健彦	福所 秋雄

* : 2012年8月22日から

** : 2012年10月1日から

要 約

牛の増体量、飼料効率及び枝肉成績の改善を目的として使用される栄養再分配剤「ジ
ルパテロール塩酸塩」(CAS No. 119520-06-8) について、各種試験成績等を用いて食品
健康影響評価を実施した。

評価に用いた試験成績は、薬物動態 (ラット、豚及び牛)、残留 (牛)、遺伝毒性、急
性毒性 (マウス及びラット)、亜急性毒性 (ラット、イヌ、豚及びサル)、慢性毒性 (ラ
ット)、発がん性 (マウス及びラット)、生殖発生毒性 (マウス、ラット及びウサギ)、一
般薬理試験、ヒトへの影響等の試験成績である。

各種遺伝毒性試験においては、いずれも陰性の結果が得られている。発がん性試験に
おいては、マウスを用いた試験については発がん性が認められておらず、また、ラット
を用いた試験については、卵巣提鞴帯に平滑筋腫が誘発されているが、遺伝毒性試験の
結果が全て陰性であることから、薬理作用に伴う非遺伝毒性機序により誘発されたもの
と推察され、ADI の設定が可能であると考えられた。

各種動物を用いた毒性試験及び薬理試験においては、最も低い用量でみられた影響は
心臓血管系への影響であった。一方、ヒトにおける試験においては、喘息患者における
薬理試験において、心臓血管系への影響が認められた用量よりも低い用量で気管支拡張
作用がみられていることから、この喘息患者における気管支拡張作用に基づく NOAEL
は、ヒトにおける心臓血管系への影響も勘案していると考えられた。

以上より、喘息患者における薬理試験の気管支拡張作用に基づく NOAEL 0.83 µg/kg
体重に、安全係数として個体差 10 を適用し、ADI を 0.083 µg/kg 体重/日と設定した。

I. 評価対象動物用医薬品の概要

1. 用途

牛の増体量、飼料効率及び枝肉成績の改善

2. 有効成分の一般名

和名：ジルパテロール塩酸塩

英名：Zilpaterol Hydrochloride

3. 化学名

IUPAC

英名：(±)-*trans*-4,5,6,7-tetrahydro-7-hydroxy-6-(isopropylamino)imidazo
[4,5,1-*jk*][1]benzazepin-2(1*H*)-one, monohydrochloride

CAS (No. 119520-06-8)

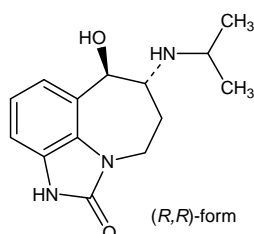
4. 分子式

$C_{14}H_{19}N_3O_2 \cdot HCl$

5. 分子量

297.8

6. 構造式



• HCl

及び鏡像異性体

(参照 3)

7. 使用目的及び使用状況

ジルパテロールは、 β_2 -アドレナリン作動薬の作用機序を持ち、脂肪蓄積の抑制、脂質代謝回転の亢進、グリコーゲン分解及びタンパク質合成を介した筋肉増大の亢進作用により、牛の飼育成績の改善及び枝肉組成に影響を及ぼす栄養再分配剤である。

ジルパテロール塩酸塩を有効成分とする動物用医薬品は、牛の飼料添加剤が海外で承認を受けている。1995年にメキシコ及び南アフリカ共和国で初めて承認を受け、次いでラテンアメリカ諸国（コスタリカ、ドミニカ共和国、コロンビア、エクアドル、ホンジュラス、ニカラグア及びパナマ）で承認されている。その後、2006年に米国、2009年にカナダで承認された。

日本では、ジルパテロールを含有する動物用医薬品は承認されていない。また、ヒト

用医薬品としても使用されていない。

今回、厚生労働省よりインポートトレランス申請に伴う残留基準設定に係る評価が要請されたものである。(参照 1、2)

II. 安全性に係る知見の概要

各種試験はジルパテロール塩酸塩を用いて実施されている。検査値等略称を別紙に示した。

1. 薬物動態試験

(1) 薬物動態試験 (ラット①)

胆管カニューレ挿管ラット (SD 系、6~10 週齢、雌雄各 2 匹) に ^{14}C 標識ジルパテロール塩酸塩 (1 mg/kg 体重) を単回経口投与し、吸収率が調べられた。(本試験は [1. (7)] の対照試験として実施された。)

結果を表 1 に示した。単回経口投与後 72 時間における吸収率は約 89 %であった。(参照 1)

表 1 ラットにおける ^{14}C 標識ジルパテロール塩酸塩単回経口投与後の放射活性の吸収率* (%)

尿	胆汁	カーカス**	合計
66.40	20.60	1.66	88.66

* : ^{14}C 標識ジルパテロール塩酸塩+飼料 (0~72 時間) n=4

** : 肝臓及び腸管壁を含む

(2) 薬物動態試験 (ラット②)

ラット (Wistar 系、雌雄各 3 匹) に ^{14}C 標識ジルパテロール塩酸塩を単回経口投与 (0.2 mg/kg 体重) し、薬物動態試験が実施された。投与後 8 日までに尿、糞、肝臓及びカーカス (肝臓を除いた体全体) 中の放射活性が調べられた。

結果を表 2 に示した。投与後 8 日までに、投与量の放射活性の 48.89 %が尿中から、42.29 %が糞中から回収された (雌雄の平均値)。肝臓及びカーカスからはそれぞれ 0.1 % 以下及び 1 %以下の割合で回収された。

表 2 ラットにおける ^{14}C 標識ジルパテロール塩酸塩単回経口投与後 8 日間の放射活性回収率 (%投与量)

性別	尿	糞	肝臓	カーカス*	合計
雄	51.08	41.29	0.06	0.57	93.00
雌	46.70	43.29	0.07	0.78	90.84

* : 肝臓を除く体全体

n=3

投与後 1 及び 2 日に回収された尿及び糞中の総放射活性に対するジルパテロール及び代謝物の放射活性の占める割合が調べられた。

結果を表 3 に示した。尿中では未変化体、糞中ではジルパテロールのヒドロキシル体が主要化合物であった。(参照 1、2)

表 3 尿及び糞中の総放射活性に占めるジルパテロール及び代謝物の割合 (%)

化合物名	尿中		糞中	
	投与後 1 日	投与後 2 日	投与後 1 日	投与後 2 日
ジルパテロール	60.3	46.7	15.8	3.9
ヒドロキシジルパテロール	19.5*	14.2*	60.3	55.9
デイソプロピルジルパテロール			Trace	Trace
未同定化合物 1	2.2	0.7	3.1	1.3
ヒドロキシジルパテロールのグルクロン酸抱合体	9.3	22.3	3.3	5.3
未同定化合物 2	0.5**	ND	ND	ND
アセチル化デイソプロピルジルパテロール	4.4	4.2	7.1	8.7

ND : 検出せず

n=6

Trace : ヒドロキシジルパテロールの保持時間に近接のため定量不能。

* : ヒドロキシジルパテロール及びデイソプロピルジルパテロールが分離不能のため、合計の検出値。

** : 雌雄各 1 例の平均値 (他は不検出)

(3) 薬物動態試験 (ラット③)

ラット (SD 系、雌雄 3 匹) に ^{14}C 標識ジルパテロール塩酸塩を単回経口投与 (0.2 mg/kg 体重) し、薬物動態試験が実施された。

投与後 8 日までににおける尿、糞及び肝臓中の放射活性の回収率は表 4 に示したとおりで、[1. (2)] の Wistar ラットで得られた結果とほぼ同様であった。

表 4 ラットにおける ^{14}C 標識ジルパテロール塩酸塩単回経口投与後 8 日の放射活性回収率 (% : 投与量)

性別	尿	糞	肝臓	合計
雄	55.62	40.89	0.06	96.57
雌	46.02	46.49	0.05	92.56

n=3

投与後 1~3 日までに回収された尿及び糞中の総放射活性に占めるジルパテロール及び代謝物の放射活性の割合が調べられた。

結果を表 5 に示した。代謝物は、[1. (2)] の Wistar ラットで得られた結果と同様であった。(参照 1、2)

表 5 尿及び糞中の総放射活性に占めるジルパテロール及び代謝物の割合 (%)

化合物名	尿中		糞中
	投与後 1 日	投与後 2 日	投与後 1~3 日*
ジルパテロール	61.6	47.9	7.1
ヒドロキシジルパテロール	4.6	11.5	68.8**
デイソプロピルジルパテロール	11.8	9.1	4.1**
未同定化合物 1	2.2	4.7	2.7
ヒドロキシジルパテロールのグルクロン酸抱合体	3.8	5.6	1.5***
未同定化合物 2	0.3	0.4****	ND
アセチル化デイソプロピルジルパテロール	7.1	9.0	3.7

ND : 検出せず

n=6

* : 投与後 1~3 日の間で最も高い放射活性を示した試料の測定結果 (投与後 1 日の 1 例、投与後 2 日の 3 例及び投与後 3 日の 2 例の平均値)。

** : 雄 3 例の平均値 (雌 3 例ではヒドロキシジルパテロールとデイソプロピルジルパテロールが分離不能)

*** : 雄 3 例の平均値 (雌では 1/3 例で低い値を検出)

**** : 雄 3 例の平均値 (雌 3 例では検出せず)

(4) 薬物動態試験 (豚)

豚 (ユカタンマイクロ種、約 8 か月齢、雌雄各 1 匹) に ^{14}C 標識ジルパテロール塩酸塩を単回混餌投与 (1 mg/kg 体重) し、薬物動態パラメーター及び血漿中濃度が調べられた。

血漿中の総放射活性は投与 1 時間後に最高濃度 (C_{\max}) の 414 ng eq/g に達し、投与 48 時間後では 5.20 ng eq/g に低下した。AUC_(0-48hr) は 3,720 ng eq·h/g であった。また、血漿中濃度は 2、4、7 及び 24 時間後にそれぞれ 319、253、170 及び 21.1 ng eq/g であった。(参照 1)

(5) 薬物動態試験 (牛①)

牛 (雄 : サレール、去勢、雌 : シャロレー×サレール、未経産、雌雄各 1 頭/群) に非標識ジルパテロール塩酸塩を 6~8 日間混餌投与後、 ^{14}C 標識ジルパテロール塩酸塩 (対照群には非標識ジルパテロール塩酸塩) を単回混餌投与 (0.2 mg/kg 体重) し、各組織中分布、代謝及び排泄が調べられた。血液の採取は最終投与から 10 時間後まで毎時、並びに最終投与 12、14、21 及び 24 時間後に行い、組織 (肝臓、腎臓、筋肉、第 1 胃から第 4 胃、腎周囲脂肪及び内臓脂肪) の採取は最終投与 12 及び 48 時間後並びに 8 日後に行った。尿及び糞については最終投与後 8 日間採取した。

血漿中の総放射活性は速やかに増加し、雄では投与 12 時間後 (16.8 ng eq/mL) に、雌では投与 10 時間後 (22.4 ng eq/mL) に C_{\max} に達した。消失半減期 ($T_{1/2}$) は雄では 11.9 時間、雌では 13.2 時間であった。

組織中放射活性濃度を表 6 に示した。いずれの組織においても最終投与 12 時間後に

最も高い濃度を示した。性差による相違は認められなかった。

表 6 牛における ¹⁴C 標識ジルパテロール塩酸塩単回混餌投与後の組織中放射活性濃度 (µg eq/kg 組織*)

組織	性別	最終投与後時間		
		12 時間	48 時間	8 日
肝臓	雄	112.1	41.5	15.4
	雌	116.4	38.6	10.7
腎臓	雄	110.0	24.8	ND
	雌	118.3	22.5	ND
第 1 胃	雄	60.6	20.4	ND
	雌	42.8	20.0	ND
第 2 胃	雄	83.0	13.6	ND
	雌	147.0	16.2	ND
第 3 胃	雄	82.2	59.8	ND
	雌	78.9	34.0	ND
第 4 胃	雄	49.9	12.1	ND
	雌	62.7	15.8	ND
筋肉	雄	17.0	3.5	ND
	雌	14.8	3.4	ND
腎周囲脂肪	雄	1.5	1.2	ND
	雌	1.5	NS	ND
内臓脂肪	雄	6.5	3.5	ND
	雌	2.5	1.8	ND

* : ジルパテロール塩酸塩当量 ND : 検出せず

尿及び糞中への放射活性の排泄は迅速で、投与 24 時間後では投与量の 60 %以上、48 時間後では約 90 %が排泄された。投与後 8 日間における放射活性回収率を表 7 に示した。ジルパテロールの主な排泄経路は尿であると考えられた。

表 7 投与後 8 日間の尿及び糞中の放射活性回収率 (%投与量)

性別	尿	糞	合計
雄	88.2	8.7	96.9
雌	84.3	8.6	92.9

尿中に回収された総放射活性のうち、ジルパテロールが 60 %以上を占め、その他に 4 つの代謝物が分離された。糞中においては回収された総放射活性のうち、ジルパテロールが 40 %以上を占め、ラットの糞中で検出されたヒドロキシジルパテロールは牛の糞中では検出されなかった。肝臓、腎臓及び筋肉中ではジルパテロールが主要残留物で、そ

の他に主要代謝物 1 つが分離され、デイソプロピルジルパテロールと同定された (表 8)。
(参照 1、2)

表 8 尿、糞及び組織中の総放射活性に占めるジルパテロール及び代謝物の割合 (%)

化合物名	尿*	糞*	肝臓**	腎臓**	筋肉**
ジルパテロール	65.7	45.5	62.3	69.5	71.9
ヒドロキシジルパテロール	ND	ND	ND	ND	ND
デイソプロピルジルパテロール	13.2	18.1	20.6	17.9	21.2
未同定化合物 1	11.3	Trace	ND	ND	ND
ヒドロキシジルパテロールのグルクロン酸抱合体	Trace	ND	ND	ND	ND
未同定化合物 2	3.5	ND	ND	ND	ND
アセチル化デイソプロピルジルパテロール	7.0	8.6	ND	ND	ND

ND : 検出せず

Trace : 雄においてのみ微量検出。

* : 投与後 1~3 日間の雌雄各 1 例ずつの平均値。

** : 投与後 24 及び 48 時間の雌雄各 1 例ずつの平均値。

(6) 薬物動態試験 (牛②)

牛 (シャロレー種、去勢雄及び未経産雌、雌雄各 1 頭/群) に ^{14}C 標識ジルパテロール塩酸塩を 10、12、15 及び 21 日間混餌投与 (0.15 mg/kg 体重/日) し、最終投与 20~24 時間後の肝臓、腎臓、筋肉及び腎周囲脂肪を採取して、各組織中の放射活性が調べられた。

結果を表 9 に示した。腎周囲脂肪以外では放射活性が検出され、全ての投与期間において肝臓、腎臓、筋肉の順に高い値を示した。投与 12 日後には定常状態となった。

表 9 牛における ^{14}C 標識ジルパテロール塩酸塩混餌投与後の組織中総放射活性濃度 ($\mu\text{g eq/kg}$ 組織*)

組織	性別	投与日数 (日)			
		10	12	15	21
肝臓	雄	249	361	329	383
	雌	292	417	456	344
腎臓	雄	129	183	228	234
	雌	154	240	251	166
筋肉	雄	23	28	34	21
	雌	18	32	31	22
腎周囲脂肪	雄	ND	ND	ND	ND
	雌	ND	ND	ND	ND

* : ジルパテロール塩酸塩当量

ND：検出限界未満（腎周囲脂肪における検出限界：5～12 µg/kg）

肝臓、腎臓及び筋肉中の抽出可能な放射活性におけるジルパテロール及びデイソプロピルジルパテロールの占める割合を表 10 に示した。また、肝臓及び腎臓中の抽出可能な放射活性におけるジルパテロール及びその代謝物の割合の平均値を表 11 に示した。（参照 1、2）

表 10 肝臓、腎臓及び筋肉中のジルパテロール及びデイソプロピルジルパテロールの割合* (%)

組織	化合物	投与日数（日）			
		10	12	15	21
肝臓	ジルパテロール	68.1	76.4	66.9	68.8
	デイソプロピルジルパテロール	16.3	7.5	12.0	13.3
腎臓	ジルパテロール	62.3	86.6	78.7	72.1
	デイソプロピルジルパテロール	12.5**	4.5	6.2	6.8**
筋肉	ジルパテロール	73.2	84.6	85.6	93.8
	デイソプロピルジルパテロール	12.7**	10.3	15.0**	12.5**

*：抽出可能な放射活性に対する割合。

n=2

**：雌雄のいずれか 1 例の値。

表 11 肝臓及び腎臓中に占めるジルパテロール及び代謝物の割合* (%)

化合物	肝臓	腎臓
ジルパテロール	70.0	74.9
ヒドロキシジルパテロール	ND	ND
デイソプロピルジルパテロール	12.3	6.8 (6/8 例)
未同定化合物 1	ND	9.1 (4/8 例)
ヒドロキシジルパテロールのグルクロン酸抱合体	ND	ND
未同定化合物 2	3.8 (7/8 例)	5.7 (6/8 例)
アセチル化デイソプロピルジルパテロール	ND	4.9 (5/8 例)

() 内は 8 例中測定した例数を示した。 ND：検出せず

n=8

*：抽出可能な放射活性に対する割合、投与日数 10～21 日の平均値。

(7) 結合型残留物の生物学的利用率（ラット）

牛肝臓中に残留する総放射活性の約 40% が結合型残留物であったことから、牛肝臓中の結合型残留物の生物学的利用率が調べられた。

牛（ヘレフォード種、投与群：雌雄計 3 頭/群、対照群：雌雄各 1 頭）に ¹⁴C 標識ジルパテロール塩酸塩を 12 日間強制経口投与（標識飼料ペレット使用、6.8 ppm 混餌投与相当、0.15 mg/kg 体重/日相当）した。最終投与 12、24、48 及び 96 時間後に溶媒による抽出を行った後の肝臓から試料を調製し、胆管カニューレ挿管ラット（SD 系、6～10

週齢、雌雄各 2 匹/群) に単回経口投与した。対照群のラットには ^{14}C 標識ジルパテロール塩酸塩 (1 mg/kg 体重) 及び対照群の牛肝臓から同様に調製した試料を単回経口投与した。ラットの尿及び胆汁中に排泄された放射活性及びカーカスに残留した放射活性の総量を生物学的に利用可能な結合型残留物とみなした。

結果を表 12 及び 13 に示した。 ^{14}C 標識ジルパテロール塩酸塩及び牛肝臓から調製した試料の単回経口投与後のラットにおける放射活性の吸収率は約 92 %であった。結合型残留物の放射活性の吸収率は 0.75~3.28 %で、 ^{14}C 標識ジルパテロール塩酸塩投与後と比較して、非常に低かった。(参照 1)

表 12 対照群のラットにおける ^{14}C 標識ジルパテロール塩酸塩単回経口投与後の放射活性の吸収率* (%)

尿	胆汁	カーカス**	合計
69.40	21.00	1.27	91.67

* : ^{14}C 標識ジルパテロール塩酸塩+牛肝臓から調製した試料 (0~48 時間) +飼料 (48~72 時間)

** : 肝臓及び腸管壁を含む。

表 13 牛肝臓中の結合型残留物投与ラットにおける放射活性の吸収率 (ラットに経口投与した放射活性量に対する%)

牛肝臓採取時間 (最終投与後時間)	尿	胆汁	カーカス	合計
12	2.35	0	0.93	3.28
24	2.02	0	0	2.02
48	0.75	0	0	0.75
96	1.07	0.13	0	1.20

2. 残留試験

(1) 残留試験 (牛①)

牛 (ヘレフォード種、投与群 : 雌雄計 3 頭/群、対照群 : 雌雄各 1 頭) に ^{14}C 標識ジルパテロール塩酸塩を 12 日間強制経口投与 (標識飼料ペレット使用、混餌濃度 6.8 ppm 相当、0.15 mg/kg 体重/日相当) し、最終投与 12、24、48 及び 96 時間後の組織中残留が調べられた。また、同様に ^{14}C 標識ジルパテロール塩酸塩を 15 日間強制経口投与し、最終投与 12 時間後の組織中残留が調べられた。

結果を表 14 に示した。投与期間 12 及び 15 日における最終投与 12 時間後の組織中濃度はほぼ同様であった。

表 14 牛における ^{14}C 標識ジルパテロール塩酸塩 12 又は 15 日間強制経口投与後の組織中総放射活性濃度 ($\mu\text{g eq/kg}^*$)

組織	最終投与後時間 (時間)				
	12	12**	24	48	96
肝臓	262	321	205	157	113
腎臓	189	179	100	37	9
筋肉	21	23	12	<LOD	<LOD
脂肪	10	11	<LOD	<LOD	<LOD

LOD : 検出限界 ($1.50 \mu\text{g eq/kg}$)

* : ジルパテロール塩酸塩当量

** : 15 日間強制経口投与後

肝臓、腎臓及び筋肉中の抽出可能な放射活性におけるジルパテロール及び代謝物が Radio-HPLC 法により調べられた。測定結果は[1. (6)]で得られた結果と近似しており、肝臓及び腎臓中の抽出可能な放射活性は主に未変化体であるジルパテロール及びデイソプロピルジルパテロールとして存在していた。

肝臓、腎臓及び筋肉中の総放射活性に対する抽出可能な放射活性残留の割合を表 15 に、抽出可能な放射活性におけるジルパテロール及びデイソプロピルジルパテロール濃度を表 16 に示した。

表 15 組織中の総放射活性に対する抽出可能な放射活性残留の割合 (%)

組織	最終投与後時間 (時間)				
	12	12*	24	48	96
肝臓	57.6	45.4	40.0	31.2	23.9
腎臓	92.5	84.5	85.1	73.8	37.9
筋肉	99.8	103.3	99.1	ND	ND

* : 15 日間強制経口投与後

ND : 検出せず

表 16 組織中の抽出可能な放射活性におけるジルパテロール及びデイソプロピルジルパテロール濃度 ($\mu\text{g eq/kg}^*$: Radio-HPLC 法)

組織	対照物質	最終投与後時間 (時間)				
		12	12**	24	48	96
肝臓	ジルパテロール	104.7	84.4	48.4	22.9	7.5
	デイソプロピルジルパテロール	11.2	15.7	6.6	2.5	1.1
腎臓	ジルパテロール	127.1	92.6	57.9	18.9	0.3
	デイソプロピルジルパテロール	14.9	16.3	7.8	1.4	0.1##
筋肉	ジルパテロール	13.3	12.7	4.8	2.3##	ND
	デイソプロピルジルパテロール	1.6#	3.7	ND	ND	ND

ND : 検出せず (検出限界 : $0.1 \mu\text{g eq/kg}$)

n=3

* : ジルパテロール塩酸塩当量又はデイソプロピルジルパテロール塩酸塩当量

** : 15 日間強制経口投与後

: 2 例の平均値 (1 例は検出せず)

: 1 例の値 (2 例は検出せず)

肝臓、腎臓及び筋肉中の抽出可能な放射活性におけるジルパテロール濃度を HPLC 蛍光検出法により測定した結果を表 17 に示した。Radio-HPLC 法及び HPLC 蛍光検出法によるジルパテロール濃度の測定結果には相関性がみられた。(参照 1、2)

表 17 組織中の抽出可能な放射活性におけるジルパテロール濃度
($\mu\text{g}/\text{kg}^*$: HPLC 蛍光検出法)

組織	最終投与後時間 (時間)				
	12	12**	24	48	96
肝臓	89.9	73.1	39.9	14.6	<LOQ
腎臓	119.4	93.3	57.6	21	NT
筋肉	14.9	15.1	7.7	4.5#	NT

LOQ : 定量限界 (3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (肝臓)、5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (腎臓)、1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (筋肉))

n=3

NT : 測定せず

* : ジルパテロール塩酸塩当量

** : 15 日間強制経口投与後

: 1 例の値 (2 例は定量限界未満)

(2) 残留試験 (牛②)

牛 (交雑種、去勢雄及び未経産雌、投与群 : 雌雄各 2 頭/群、対照群 : 雄雌各 1 頭) にジルパテロール塩酸塩を 12 日間混餌投与 (混餌濃度 6.8 ppm、0.15 mg/kg 体重/日相当) し、最終投与 12、24、48 及び 96 時間後の肝臓、腎臓及び筋肉中のジルパテロールの残留が HPLC 蛍光検出法により測定された。

結果を表 18 に示した。いずれの組織中においても最終投与 96 時間後までに検出限界未満となった。(参照 1、2)

表 18 牛におけるジルパテロール塩酸塩 12 日間混餌投与後の組織中ジルパテロール濃度 ($\mu\text{g}/\text{kg}^*$)

組織	最終投与後時間 (時間)			
	12	24	48	96
肝臓	28.3	11.4	7.0#	<LOD
腎臓	50.8	12.9	5.7	<LOD
筋肉	5.0	2.1	1.4##	<LOD

LOD : 検出限界 (1 (肝臓)、0.5 (腎臓)及び0.1 (筋肉) $\mu\text{g}/\text{kg}$)

n = 4

* : ジルパテロール塩酸塩当量

: 雄 2 例の平均値 (雌 2 例は定量限界 (3 µg/kg) 未満)。

: 雄 1 例の値 (雄 1 例及び雌 2 例は定量限界 (1 µg/kg) 未満)。

(3) 標的組織及び残留マーカーについて

FDA では、¹⁴C 標識ジルパテロール塩酸塩を用いた薬物動態及び残留試験の結果、肝臓中の総残留が最も高く、未変化体のジルパテロールが主要残留物であったことから、肝臓が標的組織であり、未変化体であるジルパテロールが残留マーカーとなることが示されたとしている。(参照 2)

3. 遺伝毒性試験

ジルパテロール塩酸塩の遺伝毒性に関する各種 *in vitro* 及び *in vivo* 試験の結果を表 19 及び表 20 にまとめた。(参照 1、2)

表 19 ジルパテロール塩酸塩の *in vitro* 試験

試験	対象	用量	結果
復帰突然変異試験	<i>Salmonella typhimurium</i> TA1535、TA1537、TA98、 TA100、TA102 <i>Escherichia coli</i> WP2 <i>uvrA</i>	0、312.5、625、1,250、2,500、5,000 µg/plate(±S9)	陰性
前進突然変異試験	L5178Y マウスリンパ腫細胞 (TK ^{+/+})	・ 500～5,000 µg/mL(−S9) ・ 250～2,500 µg/mL(−S9) ・ 500～3,000 µg/mL(+S9)	陰性
	チャイニーズ・ハムスター卵巣 由来細胞 (CHO/HPRT)	・ 500、3,000、4,000、5,000 µg/mL(− S9) ・ 1,000、2,000、3,000、4,000、5,000 µg/mL(±S9)	陰性
不定期 DNA 合成試験	ラット肝臓初代培養細胞	0.5～5,000 µg/mL* 19.4 時間処理	陰性
		2.5～500 µg/mL** 19.0 時間処理	

* : 1,000 µg/mL 以上で細胞毒性あり。500 µg/mL では細胞形態不良のため、試験に用いるのは不適切とされた。

** : 500 µg/mL で細胞毒性あり

表 20 ジルパテロール塩酸塩の *in vivo* 試験

試験	対象	用量	結果
小核試験	マウス (Swiss Webster) 骨髄細胞、雌雄各 5 匹/投与群	0、31.25、62.5、125、250、500 mg/kg 体重、単回経口投与*	陰性
	マウス (ICR) 骨髄細胞、雌雄各 5 匹/投与群	0、100、200、400 mg/kg 体重、単回経口投与** 判定：投与 24、48、72 時間後	陰性

*：125～500 mg/kg 体重で細胞毒性あり。500 mg/kg 体重で 1 例が死亡。

**：400 mg/kg 体重で細胞毒性あり。400 mg/kg 体重で 2 例が死亡。

ジルパテロールの主な代謝物であるデイソプロピルジルパテロールの遺伝毒性に関する各種 *in vitro* 及び *in vivo* 試験の結果を表 21 及び 22 にまとめた。

表 21 デイソプロピルジルパテロールの *in vitro* 試験

試験	対象	用量	結果
復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> TA1535、TA1537、TA98、 TA100、TA102 <i>E. coli</i> (WP2 <i>uvrA</i>)	0、312.5、625、1,250、2,500、5,000 µg/plate(±S9)	陰性
		0、37.5、75、150、300、600 µg/plate(+S9)	
前進突然変異試験	L5178Y マウスリンパ腫細胞 (TK ^{+/+})	・250～2,500 µg/mL(−S9) ・100～800 µg/mL(−S9) ・250～1,700 µg/mL(+S9)	陰性
不定期 DNA 合成試験	ラット肝臓初代培養細胞	・1.6、8、40、200、1,000 µg/mL* ・93.3、155.5、259.2、432、720 µg/mL**	陰性

*：1,000 µg/mL 以上で細胞毒性あり。

**：720 µg/mL 以上で細胞毒性あり。

表 22 デイソプロピルジルパテロールの *in vivo* 試験

試験	対象	用量	結果
小核試験	マウス (Swiss Webster) 骨髄細胞、雌雄各 5 匹/投与群	0、125、250、500、1,000、2,000 mg/kg 体重、単回経口投与	陰性
	マウス骨髄細胞、雌雄各 5 匹/投与群	0、1,500 mg/kg 体重、単回経口投与	陰性

ジルパテロール塩酸塩を用いた *in vitro* の復帰突然変異試験、前進突然変異試験及び不定期 DNA 合成試験並びに *in vivo* の小核試験の結果はいずれも陰性であった。したがって、ジルパテロールは生体にとって問題となる遺伝毒性は示さないものと考えられた。

また、ジルパテロールの主な代謝物であるデイソプロピルジルパテロールについても *in vitro* 及び *in vivo* 試験の結果はいずれも陰性であった。

4. 急性毒性試験

マウス及びラットを用いたジルパテロール塩酸塩の LD₅₀ 等の急性毒性試験の結果を表 23 に示した。(参照 1)

表 23 マウス及びラットにおけるジルパテロール塩酸塩の LD₅₀ 及び LC₅₀

動物種	投与経路	LD ₅₀ (mg/kg 体重)		主な所見
		雄	雌	
CD-1 マウス 雌雄各 10 匹/群	経口投与	430	580	アパシー (無気力)、脊柱後弯、立毛、運動低下、運動困難、呼吸困難。投与後 15 分～4 時間で死亡例。
CD-1 マウス 雌雄各 10 匹/群	腹腔内投与	155	170	筋緊張低下又はアパシー (無気力)、運動低下、脊柱後弯、運動困難、振戦。投与直後に雌の最高用量 (265 mg/kg 体重) で死亡例。
SD ラット 雌雄各 10 匹/群	経口投与	1,325	890	運動低下、脊柱後弯、立毛、軽度の運動困難、呼吸困難、流涎。投与後 45 分～5 時間以内に死亡例。
SD ラット 雌雄各 10 匹/群	腹腔内投与	280	225	筋緊張低下、脊柱後弯、軽度な運動困難。投与後 20 分～2 時間で死亡例。死亡例では肺及び肝臓に中等度のうっ血。
SD ラット 雌雄各 5 匹/群	経皮投与	> 2,000		臨床症状に異常なし。体重減少。死亡例なし。
SD ラット 雌雄各 5 匹/群	吸入	LC ₅₀ > 5.04 (mg/L)		暴露直後に呼吸運動の亢進、部分的閉眼、全身の振戦、濡れ毛。死亡例なし。

経口投与ではマウス及びラットに中等度の毒性がみられ、腹腔内投与ではわずかに毒性が高まった。経口及び腹腔内投与後に観察された主な毒性学的所見は、活動低下、脊柱後弯、呼吸困難及び運動機能障害であった。

5. 亜急性毒性試験

(1) 30日間亜急性毒性試験 (ラット)

ラット (SD 系、6 週齢、雌雄各 10 匹/群) を用いたジルパテロール塩酸塩の 30 日間強制経口投与 (0、1、10 及び 100 mg/kg 体重/日) による亜急性毒性試験が実施された。

試験期間中に死亡例は認められなかった。

一般状態及び摂餌量については投与に起因する影響は認められなかった。

飲水量は、100 mg/kg 体重/日投与群の雌で、一過性の (投与 1 週間後) 増加が認められた。

体重は、10 mg/kg 体重/日以上投与群の雄で有意な増加、雌では100 mg/kg 体重/日投与群で有意な増加がみられた。

心拍数では、全投与群の雌で減少がみられ、100 mg/kg 体重/日投与群で顕著であった。雄では有意な減少はみられなかった。

血圧（雌雄各5匹/群）及び心電図（雌雄各5匹/群）では、投与に起因する影響は認められなかった。

眼検査では、投与に起因する影響は認められなかった。

血液学的検査では、雄では全投与群で用量依存性のあるAPTTのわずかな減少、100 mg/kg 体重/日投与群でWBCのわずかな増加並びにRBC及びRDW（赤血球分布幅）のわずかな減少がみられた。雌では10 mg/kg 体重/日以上投与群でPTのわずかな減少が認められた。

血液生化学的検査では、雄では1 mg/kg 体重/日以上投与群でNaの増加、10 mg/kg 体重/日以上投与群でCaの増加及びGluの低下、100 mg/kg 体重/日投与群でTGの低下がみられた。雌では100 mg/kg 体重/日投与群でLDH及びCKの増加がみられた。

尿検査及び糞便検査では、投与に起因する影響は認められなかった。

臓器重量については、全投与群の雄で肝臓の比重量¹、雌で副腎の比重量の低下が認められた。また、100 mg/kg 体重/日投与群の雌雄で、脳及び甲状腺の比重量の低下が認められた。

病理組織学的検査では、投与に起因する影響は認められなかった。（参照1）

本試験において、全投与群の雌で心拍数の減少及び副腎の比重量の低下が、並びに雄で肝臓の比重量の低下が認められたことから、NOAELは得られず、LOAELは1 mg/kg 体重/日と考えられた。

（2）30日間亜急性毒性試験（イヌ）

イヌ（ビーグル種、8か月齢、雌雄各3匹/群）を用いたジルパテロール塩酸塩の30日間強制経口投与（0、0.5、5及び50 mg/kg 体重/日）による亜急性毒性試験が実施された。

試験期間中に0.5 mg/kg 体重/日投与群の雄1例及び5 mg/kg 体重/日投与群の雌1例が死亡したが、投与に起因するものではないと考えられた。

一般状態では、全投与群の全例に末梢血管の拡張による症状がみられ、雄では用量依存性であった。この症状は、投与30分後に現れ、数時間持続し、50 mg/kg 体重/日投与群では1日中持続した。5 mg/kg 体重/日以上投与群では自発運動量の低下がみられた。5 mg/kg 体重/日投与群の雄（2/3例）及び50 mg/kg 体重/日投与群の雌雄では不規則な嘔吐がみられ、50 mg/kg 体重/日投与群ではカプセル投与時に不安行動（興奮及び拒絶）がみられた。

体重では、投与に起因する影響は認められなかった。摂餌量では、50 mg/kg 体重/日投与群の雌（1例）で一時的な食欲減退がみられた。飲水量では、投与4週間後の50 mg/kg 体重/日投与群の雌（2/3例）でわずかに増加が認められた。

¹ 体重比重量を比重量という（以下同じ）。

尿検査では、50 mg/kg 体重/日投与群の雄で Glu (1/3 例) 及び Bil (2/3 例) の増加が認められたが、血中濃度との関連はみられなかった。

血圧及び心拍数では、全投与群の雌雄で、投与 1 時間後に拡張期血圧の低下及び心拍数の増加がみられたが、投与 24 時間後には回復した。この変化は、投与後第 1 週から投与終了時まで継続して認められた。

眼検査では、投与に起因する影響は認められなかった。

血液学的検査では、50 mg/kg 体重/日投与群で RBC、Hb 及び Ht (雄：1/3 例、雌：1/3 例) 並びに PLT の低下 (雄：1/3 例、雌：2/3 例) が認められた。

血液生化学的検査では、投与に起因する影響は認められなかった。

臓器重量では、0.5 及び 5 mg/kg 体重/日投与群の雌各 1 例で子宮及び卵巣重量の増加がみられたが、自然生理的なものと考えられた。

剖検では、投与に起因する所見は認められなかった。

病理組織学的検査では、全投与群の雄で精子形成異常を反映する巨大細胞が精細管内腔及び壁又は精巣上体内腔にみられた (0.5、5 及び 50 mg/kg 体重/日投与群でそれぞれ 2/3、2/3 及び 1/3 例) が、被験動物の年齢 (9 か月齢) ではこのような病変がしばしばみられることから、投与に起因する影響ではないと考えられた。(参照 1)

本試験において、全投与群の雌雄で末梢血管の拡張及び拡張期血圧低下及び心拍数増加が認められたことから NOAEL は得られず、LOAEL は 0.5 mg/kg 体重/日と考えられた。

(3) 4 週間亜急性毒性試験 (サル)

サル (カニクイザル、雌雄各 2 頭/群) を用いたジルパテロール塩酸塩の 4 週間強制経口投与 (0、5、10、50 及び 5,000 µg/kg 体重/日) による亜急性毒性試験が実施された。

試験期間中に死亡例は認められなかった。

一般状態では、用量依存性のない嘔吐が散発的に認められ、また、1 例のみ水様便及び外傷がみられたが、いずれも投与に起因する影響とは考えられなかった。

体重、摂餌量、血圧測定、心電図検査、眼検査、血液学的検査、血液生化学的検査及び尿検査では、投与に起因する影響は認められなかった。

また、臓器重量、剖検及び病理組織学的検査においても、投与に起因する影響は認められなかった。(参照 1、2)

本試験における NOAEL は、最高用量の 5,000 µg/kg 体重/日と考えられた。

(4) 90 日間亜急性毒性試験 (ラット)

ラット (SD 系、4 週齢、雌雄各 20 匹/群) を用いたジルパテロール塩酸塩の 90 日間強制経口投与 (0、1、10 及び 100 mg/kg 体重/日) による亜急性毒性試験が実施された。試験終了後、対照群及び各投与群の生存動物 8 匹には、32 又は 33 日間の休薬による無投与期間を設定した。

試験期間中の死亡例は、対照群の雌 1 例、1 mg/kg 体重/日投与群の雄 1 例及び 100 mg/kg 体重/日投与群の雌 2 例で認められた。投与に起因するものかどうかは定かではなかった。

一般状態では、10 mg/kg 体重/日投与群の雄 12 例及び雌 9 例並びに 100 mg/kg 体重/日投与群の全例で過流涎が認められた。

体重では、10 mg/kg 体重/日以上投与群の雌及び 100 mg/kg 体重/日投与群の雄で有意な増加が認められた。摂餌量では、10 mg/kg 体重/日以上投与群の雄で有意な増加がみられた。

眼検査では、投与に起因する影響は認められなかった。

心電図検査では、雄では全投与群で QT 値の増加、10 mg/kg 体重/日以上投与群で PQ 値の増加、100 mg/kg 体重/日投与群で心拍数の有意な減少が認められた。雌では、1 及び 100 mg/kg 体重/日投与群で心拍数の有意な減少並びに PQ 及び QT 値の増加がみられた。

血圧では、全投与群の雌雄で上昇がみられたが、対照群でもみられているため加齢によるものと考えられた。

血液学的検査では、種々の変動がみられたが、明確な用量依存性は認められず、被験動物の年齢では生理的な範囲内にあると考えられた。

血液生化学的検査では、全投与群の雌及び 10 mg/kg 体重/日以上投与群の雄で BUN の増加が認められた。

尿検査では、全投与群の雄（投与 5 及び 13 週後）及び 10 mg/kg 体重/日以上投与群の雌（投与 5 週後）で尿量の増加が認められたが、少数の動物による変動であり、投与に起因する影響とは考えられなかった。

臓器重量は、雄では 100 mg/kg 体重/日投与群の脳の絶対及び比重量の低下並びに甲状腺及び胸腺の比重量の低下が認められた。雌では 10 mg/kg 体重/日以上投与群で肝臓及び子宮の比重量の低下が、100 mg/kg 体重/日投与群で心臓の絶対及び比重量の増加が認められた。

剖検及び病理組織学的検査においては、投与に起因する影響は認められなかった。（参照 1）

本試験において、全投与群の雄で QT 値の増加が認められたことから NOAEL は得られず、LOAEL は 1 mg/kg 体重/日と考えられた。

（5） 13 週間亜急性毒性試験（ラット）

ラット（SD 系、約 6 週齢、雌雄各 20 匹/投与群）を用いたジルパテロール塩酸塩の 13 週間強制経口投与（0、0.05、0.5 及び 1 mg/kg 体重/日）による亜急性毒性試験が実施された。

試験期間中に投与に起因する死亡例は認められなかった。

一般状態では、投与に起因する影響は認められなかった。

摂餌量及び体重増加量は、0.5 mg/kg 体重/日以上投与群でわずかに増加がみられた。飼料効率是对照群と比較して差異は認められなかった。

眼検査では、投与に起因する影響はみられなかった。

心電図検査では、全投与群の雌で、用量依存性は認められなかったが平均心拍数の有意な減少が認められた（0.05 mg/kg 体重/日投与群の投与 13 週間後、0.5 mg/kg 体重/日投与群の投与 8 週間後、1 mg/kg 体重/日投与群の投与 3、4 及び 8 週間後）。心拍数

が減少した群では、有意な PQ 値の増加がみられた。PQ 値の増加は、雄でも認められた (0.5 及び 1 mg/kg 体重/日投与群の投与 13 週間後)。

血圧では、0.5 mg/kg 体重/日以上投与群の雄で収縮期血圧の低下がみられた。

血液学的検査では、投与に起因する影響はみられなかった。

血液生化学的検査では、1 mg/kg 体重/日投与群の雌雄で K の増加が見られた。

尿検査では、0.5 mg/kg 体重/日以上投与群の雌で尿量の増加が認められたが、比重の低下は 0.5 mg/kg 体重/日投与群のみでみられ、腎臓に関連のある変化が認められないことから、投与に起因する影響とは考えられなかった。

臓器重量では、0.5 mg/kg 体重/日以上投与群の雌及び 1 mg/kg 体重/日投与群の雄で心臓の絶対及び比重量の増加が認められた。

剖検では、投与に起因する影響は認められなかった。

病理組織学的検査では、心筋症の所見が全投与群の雌雄で認められた。雄では、0.5 mg/kg 体重/日以上投与群で発生率の有意な増加が認められ用量依存性がみられたことから投与に起因する影響と考えられた。また、肝動脈炎の所見が全投与群の雄で認められ、0.5 mg/kg 体重/日以上投与群で発生頻度の上昇がみられたが、雌では、1 mg/kg 体重/日投与群でのみ認められた。この所見は対照群でもみられており、被験動物の種類及び週齢における変動の範囲内であり、投与に起因する影響ではないと考えられた。(参照 1、2)

本試験において、全投与群の雌で心拍数の低下及び PQ 値の増加が認められたことから NOAEL は得られず、LOAEL は 0.05 mg/kg 体重/日と考えられた。

(6) 13 週間亜急性毒性試験 (豚)

豚 (ユカタンミニ豚、4~7 か月齢、雌雄各 4 頭/群) を用いたジルパテロール塩酸塩の 13 週間強制経口投与 (0、1、50、1,000 及び 10,000 µg/kg 体重/日) による亜急性毒性試験が実施された。

試験期間中に 1 µg/kg 体重/日投与群の 1 例が死亡したが、投与に起因するものではないと考えられた。

一般状態、摂餌量、体重、血圧及び心電図検査については、投与に起因する影響は認められなかった。

眼検査、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、臓器重量及び剖検においても投与に起因する影響は認められなかった。

病理組織学的検査では、1,000 µg/kg 体重/日以上投与群の雌で内臓上皮の過形成を伴う子宮筋肥大が認められた。また、呼吸器疾患に伴う肺病変 (気管支炎、気管支肺炎及び線維症) が認められたが、この病変は対照群及び全投与群にみられ、被験動物では広く一般的なものであったことから、投与に起因する影響ではないと考えられた。(参照 1、2)

本試験において、1,000 µg/kg 体重/日以上投与群の雌で内臓上皮の過形成を伴う子宮筋肥大が認められたことから、NOAEL は 50 µg/kg 体重/日と考えられた。

6. 慢性毒性及び発がん性試験

(1) 52週間慢性毒性試験（ラット）

ラット（SD系、約6週齢、雌雄各20匹/群、回復期群：雌雄各10匹/群（対照群及び250 µg/kg 体重/日投与群））を用いたジルパテロール塩酸塩の52週間混餌投与（0、25、50、125及び250 µg/kg 体重/日）による慢性毒性試験が実施された。回復期群には、投与終了後4週間の無投与期間が設定された。

投与に起因すると考えられる死亡例は認められなかった。

一般状態、摂餌量、体重、飼料効率及び眼検査において、投与に起因する影響は認められなかった。

心電図検査では、心拍数のわずかな減少が125 µg/kg 体重/日以上投与群で散発的に認められ、投与によるものと考えられた。この変化は無投与期間（4週間）後には回復した。

血圧は、50 µg/kg 体重/日以上投与群で散発的な上昇（50 µg/kg 体重/日以上投与群の雌の投与13週間後、250 µg/kg 体重/日投与群の雄の投与51週間後）が認められ、投与によるものと考えられた。この変化は無投与期間（4週間）後には回復した。

血液学的検査では、投与に起因する影響は認められなかった。

血液生化学的検査では、CK及びLDHの濃度が対照群に比べて高い群が散発的に認められたが、通常の変動の範囲内であり、投与に起因する影響ではないと考えられた。

臓器重量、剖検及び病理組織学的検査では、投与に起因する影響は認められなかった。（参照1、2）

本試験において、50 µg/kg 体重/日以上投与群の雌で血圧の上昇が認められたことから、NOAELは25 µg/kg 体重/日と考えられた。

(2) 18か月間発がん性試験（マウス）

マウス（CD-1系、約8週齢、雌65匹/群）を用いたジルパテロール塩酸塩の18か月間強制経口投与（0、10、20、50及び250 µg/kg 体重/日、溶媒：コーン油）による発がん性試験が実施された。

生存率は、対照群及び全投与群ではほぼ同様（それぞれで75、66、77、74及び75%）であり、試験期間中に投与に起因すると考えられる死亡例は認められなかった。

一般状態及び体重において投与に起因する影響は認められなかった。摂餌量については、50 µg/kg 体重/日投与群のみで増加がみられたが、この群は投与試験の前からわずかに対照群より高い値で、用量依存性はなく投与に起因する影響とは考えられなかった。

血液学的検査では、全投与群でPLTの減少が、20 µg/kg 体重/日以上投与群でHbの増加が、50 µg/kg 体重/日以上投与群でHt及びRBCの増加並びに単核白血球数の減少が認められた。しかし、これらの所見に用量依存性は認められず、個々の測定値は正常の範囲内であることから投与に起因する影響とは考えられなかった。

剖検では、全投与群で卵巣及び子宮の嚢胞が認められたが、対照群にも同様にみられ、これらの所見は加齢により一般にみられることから、投与による影響とは考えられなかった。

病理組織学的検査では、全投与群で心臓及び子宮に腫瘍性の病変が認められたが、対

照群にも同様にみられ、加齢に伴う通常の発生頻度であるため、投与に起因する影響とは考えられなかった。(参照 1、2)

(3) 104週間発がん性試験(ラット)

ラット(SD系、約6週齢、雌雄各66匹/群)を用いたジルパテロール塩酸塩の104週間混餌投与(0、25、50、125及び250 µg/kg 体重/日)による発がん性試験が実施された。血液学的検査は、投与26、53、78及び104週間後に実施した。さらに、雌雄各10匹を無処置群として試験開始前日に血液学的検査を行い、と殺した。投与期間終了後、全動物について病理組織学的検査を実施した。

生存率は、250 µg/kg 体重/日投与群の雌雄で低下が認められた(死亡率は、対照群に比し10~20%高かった)。

一般状態では、投与による影響は認められなかった。摂餌量は250 µg/kg 体重/日投与群の雌でわずかに増加し、体重増加量は250 µg/kg 体重/日投与群の雌雄でわずかに低下した。

血液学的検査、臓器重量及び剖検では、投与に起因する影響は認められなかった。

触診可能な腫瘍の発現や発生場所は対照群と同様であった。

病理組織学的検査では、非腫瘍性病変については投与による影響はみられなかったが、腫瘍性病変に関しては、125 µg/kg 体重/日以上投与群の雌で卵巣提靭帯に平滑筋腫がみられ、発生の頻度は低いが用量依存性が認められた(125 µg/kg 体重/日投与群:2/63例、250 µg/kg 体重/日投与群:5/64例)。平滑筋腫は動物及びヒトにみられる良性腫瘍の一つである。げっ歯類を用いた試験では、β作動薬の soterenol、mesuprine、medroxalol、salbutamol 及び terbutaline で卵巣間膜平滑筋腫の発生が知られ、このうち medroxalol 及び salbutamol については、β受容体拮抗薬である propranolol により平滑筋腫の発生が抑制されたと報告されている。これらのことから、上記所見は、被験物質の薬理作用により誘発された腫瘍性病変であると考えられた。(参照 1、2、4~6)

本試験において、125 µg/kg 体重/日投与群で卵巣に良性腫瘍性病変が認められたことから、催腫瘍性の NOAEL は 50 µg/kg 体重/日と考えられた。

7. 生殖発生毒性試験

(1) 2世代繁殖試験(ラット)

ラット(SD系、雄:約7週齢、雌:約10週齢、雌雄各30匹/群)を用いたジルパテロール塩酸塩の混餌投与(0、0.9、3.6及び14.4 ppm)による2世代(F₀及びF₁)繁殖試験が実施された。

親動物(F₀)の雄には交配前71日間及び交配開始後はF₁児離乳後にと殺するまでの間、雌には交配前15日間並びに交配、妊娠及び授乳期を通じてジルパテロール塩酸塩を投与した。交配期には、雌雄を最長3週間同居させて交配し、自然分娩させ離乳まで児動物(F₁)を哺育させた。

F₁世代は、離乳後(分娩後22日)、各群25腹から雌雄各1匹ずつの同腹児(F₁)を選択し、雌雄各25匹/群を設定した。F₁動物の成熟後、兄妹を避けてF₀と同様に交配し、分娩及び児動物(F₂)の哺育をさせた。ジルパテロール塩酸塩の投与は、離乳後か

ら交配、妊娠及び授乳期を通じて実施した。

全ての親動物 (F₀ 及び F₁) は、児動物の離乳時にと殺し、剖検、臓器重量測定及び病理組織学的検査を実施した。生後 4 日に淘汰した児動物 (F₁ 及び F₂)、F₁ 世代選抜時に淘汰した F₁ 離乳児及び全ての F₂ 離乳児については剖検のみを実施した。

親動物 (F₀ 及び F₁) におけるジルパテロール塩酸塩の一日平均摂取量を表 24 に示した。

表 24 親動物 (F₀ 及び F₁) のジルパテロール塩酸塩平均摂取量 (mg/kg 体重/日)

投与量 (ppm)	F ₀		F ₁	
	雄	雌	雄	雌
0.9	0.06	0.10	0.08	0.12
3.6	0.23	0.40	0.32	0.45
14.4	0.94	1.61	1.26	1.77

親動物 (F₀ 及び F₁) の一般状態には投与に起因する影響は認められなかった。摂餌量については、対照群と比較し全投与群で増加傾向がみられたが、用量依存性は明確でなかった。体重については、14.4 ppm 投与群 F₀ 雄の投与 8 日と 15 日の値並びに 3.6 ppm 以上投与群の F₀ 雌の交配前期、妊娠期及び授乳期の値が有意に高かった。繁殖成績に関しては、F₀ 世代では投与に起因する影響は認められなかったが、F₁ 世代で 14.4 ppm 投与群に妊娠期間の有意な延長が認められた。剖検では投与に関連した変化は認められなかったが、臓器重量では、3.6 ppm 以上投与群において F₀ 雌に心臓の絶対重量の増加、肝臓及び腎臓の比重量の減少並びに F₁ 雌に心臓の絶対及び比重量の増加が、14.4 ppm 投与群において F₀ 及び F₁ 雄に心臓の絶対及び比重量の増加が、F₀ 雌に膈の比重量並びに子宮の絶対及び比重量の減少が、並びに F₁ 雌に肝臓比重量の減少が認められた。病理組織学的検査では、これらの臓器に投与に関連した変化は認められなかった。

児動物 (F₁ 及び F₂) では、生産児数、性比、生後発達及び剖検結果に投与による影響は認められなかったが、14.4 ppm 投与群において F₁ 児 (生後 21 日) の平均体重及び F₂ 児 (生後 1~4 日) の生存率にそれぞれ有意な低値がみられた。(参照 1、2)

本試験において、3.6 ppm 以上投与群に体重増加などが認められたことから親動物の一般毒性的影響に関する NOAEL は、0.9 ppm (雄：0.06 mg/kg 体重/日、雌：0.10 mg/kg 体重/日)、生殖毒性に関しては 14.4 ppm 投与群に妊娠期間の延長などがみられたことから NOAEL は 3.6 ppm (雄：0.23 mg/kg 体重/日、雌：0.40 mg/kg 体重/日) と考えられた。

(2) 発生毒性試験 (マウス)

妊娠マウス (CD-1 系、13~14 週齢、第 1 試験：6 又は 9 匹/群、第 2 試験：9 匹/群) を用いたジルパテロール塩酸塩の強制経口投与 (第 1 試験：0 及び 300 mg/kg 体重/日、第 2 試験：0 及び 450 mg/kg 体重/日、溶媒：水) による発生毒性試験が実施された。投与は妊娠 6~16 日に行い、妊娠 18 日にと殺した。

母動物では試験期間中に投与に起因する死亡例は認められず、一般状態、体重、妊娠率、妊娠経過及び流産率に投与に起因する影響は認められなかった。

胎児については、胎児数（同腹児数）に投与に起因する影響は認められず、投与群に奇形は認められなかった。（参照 1）

本試験における母動物及び胎児の NOAEL は、ともに最高用量である 450 mg/kg 体重/日と考えられた。催奇形性は認められなかった。

（3）発生毒性試験（ラット）

妊娠ラット（SD 系、12 週齢、23～26 匹/群）を用いたジルパテロール塩酸塩の強制経口投与（0、0.2、2、10 及び 50 mg/kg 体重/日）による発生毒性試験が実施された。投与は妊娠 6～15 日に行い、妊娠 20 日にと殺した。胎児は帝王切開で摘出した。

母動物では、試験期間中に投与に起因する死亡例及び流産は認められなかったが、2 mg/kg 体重/日以上投与群で過流産が認められた。摂餌量は、2 mg/kg 体重/日以上投与群で、用量依存的に妊娠 6～9 日では減少し、12～15 日では増加した。飲水量は、対照群に比較し 50 mg/kg 体重/日投与群で増加し、体重増加量は、2 mg/kg 体重/日以上投与群で増加した。剖検では、投与に起因する影響は認められなかった。黄体数及び着床数は対照群と投与群で同等であった。

生存胎児数（同腹児数）及び着床後胚損失率に投与に起因する影響は認められなかった。胎児の性比、体重並びに外表及び内臓検査では、投与に起因する影響はみられなかった。骨格観察では、50 mg/kg 体重/日投与群で骨化遅延（頭骨頭頂部、第 5 及び第 6 胸骨、恥骨等）及び波状肋骨の発生頻度の上昇がみられた。（参照 1、2）

本試験において、2 mg/kg 体重/日以上投与群で過流産などがみられたことから、母動物に対する NOAEL は 0.2 mg/kg 体重/日と考えられた。また、50 mg/kg 体重/日投与群で胎児の骨化遅延がみられたことから、胎児に対する NOAEL は 10 mg/kg 体重/日と考えられた。催奇形性は認められなかった。

（4）発生毒性試験（ウサギ）

妊娠ウサギ（ニュージーランドホワイト種、約 22～28 週齢、12～13 匹/群）を用いたジルパテロール塩酸塩の強制経口投与（0、20、60 及び 180 mg/kg 体重/日）による発生毒性試験が実施された。投与は妊娠 6～18 日に行い、妊娠 29 日にと殺し、剖検を行った。

母動物では試験期間中に投与に起因する死亡例及び流産は認められず、一般状態においても投与に起因する影響は認められなかった。体重増加量に、対照群と投与群の間で有意な差はみられなかった。剖検では、特筆すべき病理所見は認められず、受胎成績に投与に起因する影響は認められなかった。

胎児については、生存胎児数、胚・胎児死亡率及び胎盤重量に投与に起因する影響はみられなかったが、180 mg/kg 体重/日投与群において雌胎児の体重が有意に低かった。胎児の奇形学的検査では、20 mg/kg 体重/日投与群の 1 例で骨格の形成異常が認められたが、その他の群では認められず、偶発的なものと考えられた。また、対照群を含む全群で骨格異常がみられ、20 及び 180 mg/kg 体重/日投与群の胎児で対照群と比較して異

常胎児数が有意に多かったが、一腹当たりの異常胎児発生頻度及び胎児に異常がみられた腹の頻度には有意な差が認められないことから投与に起因する影響ではないと考えられた。(参照 1)

本試験において、母動物に対する NOAEL は、最高用量の 180 mg/kg 体重/日と考えられた。また、180 mg/kg 体重/日投与群で雌胎児に体重減少がみられたことから、胎児に対する NOAEL は 60 mg/kg 体重/日と考えられた。催奇形性は認められなかった。

8. 対象動物を用いた安全性試験

牛 (14 か月齢、雌雄各 10 頭/群) にジルパテロール塩酸塩を 28 日間混餌投与 (混餌濃度 0、7.5 (1 倍量) 及び 75 (10 倍量) ppm、それぞれ 37.6~47.0 及び 236.6~368.1 mg/頭/日相当) し、安全性試験が実施された。

一般状態は、全ての被験動物で健康な状態であった。

1 日平均増体重は、対照群、1 倍量群及び 10 倍量群でそれぞれ 0.84、1.00 及び 0.62 kg であった。10 倍量群における 1 日平均増体重の低下は投与 1 週間後における増体重低下によるものであった。摂餌量は予想される量より低下 (投与 4 週後の対照群、1 倍量群及び 10 倍量群でそれぞれ 7.94、6.95 及び 6.20 kg) したが、この原因は体重測定時等の被験動物の取扱いが原因と考えられた。

心拍数では、10 倍量群で投与 21 日後まで一過性の増加傾向が認められた。頻脈の症状が少なくとも 1 回認められた被験動物及び頻脈の発生が認められた被験動物の頭数に増加は認められなかった。

血液学的検査、血液生化学検査、尿検査及び病理組織学的検査では、投与に起因する影響はみられなかった。(参照 1)

9. その他の試験

(1) 皮膚刺激性試験 (ウサギ)

ウサギ (アルビノ/ニュージーランド種、3~3.5 か月齢、雄 3 匹) にジルパテロール塩酸塩をガーゼを用いて 4 時間閉塞塗布 (500 mg/6 cm² 露出皮膚/匹) し、ガーゼを除去後、経時的 (除去 1、24、48 及び 72 時間後) に皮膚反応を観察し、皮膚刺激性を調べた。

試験期間を通して皮膚刺激の徴候は認められず、皮膚刺激性インデックス (Cutaneous Primary Irritation index) のスコアは 0 (C.P.I.: 0) で判定区分「刺激性なし」であった。一般状態及び体重に異常は認められなかった。(参照 1)

(2) 眼刺激性試験 (ウサギ)

ウサギ (アルビノ/ニュージーランド種、3~3.5 か月齢、雄 3 匹) にジルパテロール塩酸塩を点眼投与 (100 mg/右目、対照: 左目) し、経時的 (点眼 1、24、48 及び 72 時間後) に眼の反応を観察し、眼刺激性を評価した。

投与 1 時間後、結膜に軽度の赤みが、及び軽度から中等度の流涙が全例 (3/3) でみられ、さらに虹彩のうっ血が 1/3 例で認められた。48 時間後には、軽度から中等度の角膜混濁が全例でみられたが 72 時間までに全ての症状は回復した。急性眼刺激性インデ

ックス (Acute Ocular Irritation index) のスコアは、14.6 (C.O.I:14.6) で「軽度眼刺激性」と判定された。(参照1)

(3) 皮膚感作試験 (モルモット)

モルモット (Dunkin-Hartley種、約3か月齢、雌雄各10匹/群、対照群：雌雄各5匹/群)を用いたジルパテロール塩酸塩(10%(W/W)溶液)の皮膚感作性試験(Maximization法：Freund'sアジュバント使用)が実施された。

感作後24時間では、雄1例の右側腹部のみに感作性判定スコア1(範囲0~4)が認められた。感作後48時間では、雄1例で皮膚の乾燥がみられたが、スコアは0で、感作性なしと判定された。(参照1)

10. 薬理試験

(1) ジルパテロール塩酸塩の一般薬理試験

ジルパテロール塩酸塩を用いた一般薬理試験の結果を表25に示した。(参照1)

表25 ジルパテロール塩酸塩を用いた一般薬理試験

影響	検査項目又は試験の種類	動物種 (匹数)	投与経路 投与量	試験結果 (投与量の単位省略)
中枢神経系	自発行動試験	マウス (10匹/群)	経口 0~30 mg/kg 体重	運動能力、体温変化及び瞳孔径への影響なし
	牽引試験	マウス (10匹/群)	経口 0~30 mg/kg 体重	運動能欠損なし
	ロータロッド試験	マウス (10匹/群)	経口 0~50 mg/kg 体重	20~50：精神運動性の障害
	一般状態及び行動に及ぼす作用 (Irwin 法)	ラット (5匹/群)	経口 0~50 mg/kg 体重	50：低度の眼瞼下垂を伴う呼吸困難
	レセルピン誘発性低体温試験	マウス (10匹/群)	経口 0~30 mg/kg 体重	眼瞼下垂に対する拮抗作用なし 3~30：体温低下に対するわずかな拮抗作用
			経口 0~50 mg/kg 体重	50：体温低下に対する拮抗作用
	オキソトレモリン誘発諸症に対する作用	マウス (10匹/群)	経口 0~30 mg/kg 体重	1~30：低体温に対する拮抗作用。流涎、下痢及び振戦に対する拮抗作用なし
			経口 0~50 mg/kg 体重	50：流涎及び流涙に対する拮抗作用あり
アポモルヒネ誘導常同行動に対する作用	マウス (10匹/群)	経口 0~30 mg/kg 体重	1~30：低体温に対する顕著な拮抗作用あり	
	ラット (8匹/群)	経口 0~30 mg/kg 体重	10~30：常同行動時間遷延、抗うつ作用	

中 枢 神 經 系	デキサンフェタミン誘導 常同行動に対する作用		ラット (5匹/群)	経口 0~50 mg/kg 体重	5~50 : 常同行動増強
	バルビタール誘導睡眠試 験		マウス (10匹/群)	経口 0~30 mg/kg 体重	影響なし
	ヘキソバルビタール誘導 睡眠試験		マウス (10匹/群)	経口 0~30 mg/kg 体重	10~30 : 睡眠時間遷延性
				経口 0~50 mg/kg 体重	影響なし
	抗痙攣作用		マウス (10匹/群)	経口 0~30 mg/kg 体重	電撃及びペンテトラゾール誘発痙攣に影響 なし
			マウス (10匹/群)	経口 0~50 mg/kg 体重	ペンテトラゾール誘発痙攣に影響なし
	5-HTP 誘発性 行動症 候群に 対する 作用	5-HTP : 200 mg/kg 体重	マウス (10匹/群)	経口 0~30 mg/kg 体重	影響なし
		5-HTP : 150 mg/kg 体重 (MAOI 添加)	マウス (10匹/群)	経口 0~50 mg/kg 体重	10~50 : セロトニン作動性作用の増強
		5-HTP : 400 mg/kg 体重	マウス (10匹/群)	経口 0~20 mg/kg 体重	5~20 : 首振り運動(Head-twitch)の増強
	鎮 痛 効 果	酢酸ライジンゲテ スト	マウス (10匹/群)	経口 0~30 mg/kg 体重	10~30 : ストレッチ反応回数の減少
		ホットプレートテ スト	マウス (10匹/群)	経口 0~30 mg/kg 体重	鎮痛効果なし
	yohimbine (α_2 受容体遮 断薬) の毒性に対する影 響		マウス (10匹/群)	経口 0 又は 50 mg/kg 体重	yohimbine 毒性 (死亡率) の増強作用なし
	受容体親和性		ラット摘出脳	$1 \times 10^{-9} \sim 1 \times 10^{-3} M$	α_1 及び α_2 受容体並びに D_2 受容体に弱い親和 性。 D_1 受容体には親和性なし
心 臓 血 管 系	心拍数に対する作用		神経節遮断麻醉ラ ット (6~9 匹/群)	静脈内 0.001~10 mg/kg 体重	0.3~10 : 心拍数増加
	拡張期動脈圧に対する作 用		神経節遮断麻醉ラ ット (5~9 匹/群)	静脈内 0.003~3 mg/kg 体重	0.01~3 : 拡張期動脈圧の顕著な低下
	拡張期及び 収縮期動脈圧、心拍数に 対する影響		麻醉ラット (5~6 匹/群)	静脈内 0.03~1 mg/kg 体重	0.03~1 : 血圧低下 (拡張期圧で顕著)
	拡張期及び 収縮期動脈圧、心拍数に 対する影響		麻醉ラット (5~8 匹/群)	静脈内 0.01~3 mg/kg 体重	0.01~3 : 動脈圧低下 (主に拡張期圧) 0.03~3 : 心拍出量増加

心 臓 血 管 系	拡張期及び 収縮期動脈圧、心拍数に 対する影響	閉鎖胸部麻酔イヌ (4匹/群)	静脈内 0~10 µg/kg 体重	3~10: 動脈圧低下 (主に拡張期圧) 10: 心拍数増加 1~10: 末梢血管抵抗減少 (10 では投与 90 分後まで) 3~10: 大腿部抵抗減少 10: 心拍数・心拍出量・収縮期駆出量・心仕 事量・大腿部流量 (femoral flow) 増加
	末梢血流量に対する影響 (放射標識ミクロスフィ ア法)	麻酔イヌ (6匹/群)	静脈内 3~30 µg/kg 体重	3~10: 筋肉組織への血流量増加
	肢還流血圧に対する影響	麻酔イヌ (4~5匹/群)	動脈内 0.3~30 µg/イヌ	0.3~30: 肢還流血圧低下
	冠状動脈流に対する影響	開胸麻酔イヌ (5匹/群)	カテーテル静脈内 3及び10 µg/kg 体重	冠状動脈流量の変化なし 3及び10: 動脈圧低下に起因する陽生の心 変時及び変力動作用 10: 動脈圧及び末梢抵抗低下
	大脳皮質血流量に対する 影響	ラット (6匹/群)	腹腔内 1及び10mg/kg 体重	大脳皮質血流量の変化なし
	拡張期及び 収縮期動脈圧、心拍数に 対する影響	イヌ (4匹/群)	静脈内 0~30 µg/kg 体重	3~30: 心拍数増加 10~30: 動脈圧低下 (主に拡張期圧)
	拡張期及び 収縮期動脈圧、心拍数に 対する影響	イヌ (4匹/群)	経口 (カプセル) 0~100 µg/kg 体重	10~100: 心拍数増加 10~100: 動脈圧低下 (主に拡張期圧)
	収縮期動脈圧及び心拍数 に対する影響	自然発症高血圧麻 酔ラット (9~10匹/群)	経口 1~10 mg/kg 体重	頻脈はみられなかった 1~10: 動脈圧低下
	収縮期動脈圧及び心拍数 に対する影響	腎性高血圧イヌ (6 匹/群)	経口 (カプセル) 0~100 µg/kg 体重	10~100: 動脈圧低下 (収縮期) 10~100: 心拍数増加
	心臓毒性	ラット (4~6匹/群)	皮下 0及び30 µg/kg 体重	心臓重量及び比重量に影響なし 30: 中程度の浮腫
	心臓への影響	モルモット摘出心 房	$1 \times 10^{-7} \sim 1 \times 10^{-4} \text{ M}$	$1 \times 10^{-4} \text{ M}$: 中程度の心房収縮力増強、心拍 数への影響なし
	心臓への影響	モルモット摘出心 耳	$1 \times 10^{-9} \sim 3 \times 10^{-5} \text{ M}$	$1 \times 10^{-6} \sim 1 \times 10^{-5} \text{ M}$: 心拍数増加 $1 \times 10^{-6} \sim 3 \times 10^{-5} \text{ M}$: 心収縮力増強
	PGF _{2α} 誘発血管収縮に対 する作用	イヌ摘出冠状動脈	$1.4 \times 10^{-6} \sim 1.4 \times 10^{-3} \text{ M}$	$1.4 \times 10^{-6} \text{ M} \sim$: PGF _{2α} に対する拮抗作用あり $1.4 \times 10^{-3} \text{ M}$ では収縮の 76% を抑制

呼吸器系	気管支に対する作用	麻酔モルモット (4匹/群)	静脈内 0~30 µg/kg 体重	1~30 : アセチルコリン及びヒスタミン誘導 痙攣に対する鎮痙作用あり
	抗原誘発気道閉塞に対する作用 (Konzett-Rossler法)	麻酔モルモット (8~10匹/群)	静脈内 0.1 及び 1 mg/kg 体重	0.1 及び 1 : 換気流量増大 ED ₅₀ : 0.1 mg/kg 体重
	抗原誘発気道閉塞に対する作用	モルモット (5~8匹/群)	経口 0.5~10 mg/kg 体重	2~10 : 気道コンダクタンス増大 10 : 胸郭内ガスボリューム減少
	抗原誘発気道閉塞に対する作用	モルモット灌流肺 (<i>in vitro</i>)	$1 \times 10^{-2} \sim 1 \times 10 \mu\text{M}$	$1 \times 10^{-2} \sim$: 気道閉塞抑制 IC ₅₀ : $1 \times 10^{-2} \mu\text{M}$
消化器系	胃内容排出試験	ラット (10匹/群)	経口 0~30 mg/kg 体重	1~30 : 胃排出遅滞
	胃液分泌試験	ラット (10匹/群)	腹腔内 0~10 mg/kg 体重	10 : 胃酸分泌減少、酸性度の低下
	腸管輸送試験	ラット (10匹/群)	経口 0~30 mg/kg 体重	1~30 : 腸管移行遅滞
	回腸の自動運動に対する影響	モルモット摘出回腸	$1 \times 10^{-7} \sim 1 \times 10^{-4} \text{ M}$	$1 \times 10^{-5} \text{ M} \sim$: 中程度の鎮痙作用
生殖器系	子宮の自発収縮に対する影響	ラット (発情期) 摘出子宮	1×10^{-9} 及び $1 \times 10^{-8} \text{ M}$	$1 \times 10^{-9} \text{ M} \sim$: 自発収縮の回数と振幅の減少 $1 \times 10^{-8} \text{ M}$: 対照に対して 60% の抑制作用
	輸精に対する作用	モルモット摘出精囊	$1 \times 10^{-6} \sim 1 \times 10^{-4} \text{ M}$	抗アドレナリン作用なし
血液系	血中 Glu への影響	ラット (10匹/群)	経口 0~30 mg/kg 体重	10~30 : 血中 Glu のわずかな上昇
	凝固時間への影響	ラット (10匹/群)	経口 0~30 mg/kg 体重	内因性血液凝固時間に影響なし ワルファリン拮抗作用なし
	血小板凝集に対する影響	ウサギ血小板多血漿	$1 \times 10^{-5} \sim 1 \times 10^{-3} \text{ M}$	$1 \times 10^{-4} \text{ M} \sim$: コラーゲン及びアラキドン酸の血小板凝集作用に対する弱い拮抗作用、ADP の血小板凝集作用に対しては拮抗作用なし
その他	利尿への影響	ラット (6匹/群)	経口 0~3 mg/kg 体重	0.3~3 : 一過的な尿量の減少
	カラギーナン誘発足浮腫に対する作用	ラット (10匹/群)	経口 0~30 mg/kg 体重	1~30 : 抗浮腫作用

(2) ジルパテロール塩酸塩及びその代謝物の心臓及び血管への影響 (ラット)

ジルパテロール塩酸塩は、自然界に存在するβ作動薬とは化学構造上では関連性はないが、動物及びヒトにおける薬理試験における気管支平滑筋の弛緩の誘発による気管支拡張、用量依存的な心拍数の増加及び拡張期血圧の低下などのβ作動薬としての特徴を示すことが確認されている。そこで、ジルパテロール塩酸塩及びその主要代謝物である

デイソプロピルジルパテロール並びにその塩酸塩について薬理試験が行われた。

脊髄穿刺したラット (SD 系、雄、12~15 週齢、10 匹/群) にジルパテロール塩酸塩、デイソプロピルジルパテロール及びその塩酸塩を静脈内投与 (0、0.001、0.003、0.01、0.03、0.1、0.3、1 及び 3 mg/kg 体重) し、心臓血管系への影響を調べた。これらの動物は、気管カニューレで呼吸ポンプに接続され、血圧監視用カテーテルが頸動脈内に、薬剤投与のためのカテーテルが外陰部の静脈内に装着された。試験に供した動物は正常血圧と考えられた。

ジルパテロール塩酸塩は 0.01 mg/kg 体重から用量依存的に拡張期血圧 (低血圧) の低下を誘発し、0.1 mg/kg 体重で定常状態における最大効果を示した。その低下は約 20 mmHg であった。心拍数の増加 (頻脈) は 0.3 mg/kg 体重以上の用量で観察され、3 mg/kg 体重で 87.2 ± 4.5 (拍/分) に増加した。

代謝物のデイソプロピルジルパテロール及びその塩酸塩の作用は、未変化体より弱く、血管拡張作用はジルパテロール塩酸塩の約 10 % であり、頻脈作用は認められなかった。(参照 1)

1.1. ヒトにおける知見

(1) 健常ヒトボランティアにおける忍容性試験

① 単盲検漸増投与試験

健常人 (男性、8 名、30~55 歳) に、ジルパテロール塩酸塩を飲水に溶解してクロスオーバー試験 (4-way) により単回漸増投与 (0、0.25、0.5、1.0 及び 2.0 mg/ヒト、それぞれ 0、0.00417、0.00833、0.01667 及び 0.03333 mg/kg 体重相当) し、一般状態、心電図、心機能 (心拍数、心拍出量、1 回拍出量及び駆出速度)、動脈圧 (収縮期及び拡張期)、血中 Glu、気道内径の測定、血液学的検査及び血液生化学的検査が行われた。

2.0 mg/ヒト投与群では、顔面潮紅、動悸及び緊張感がみられたことから、より高い用量の投与は行われなかった。振戦の発生率は 0.5 mg/ヒト以上投与群で増加した。

心拍数は全投与群で有意な増加が認められた。1 回拍出量では 0.5 mg/ヒト以上投与群から有意な減少がみられた (用量依存性なし)。収縮期血圧は 1.0 mg/ヒト以上投与群で有意な増加がみられ (用量依存性なし)、拡張期血圧は 0.5 mg/ヒト投与群のみで有意な増加が認められた。

血中 Glu は、全投与群で用量依存的な増加がみられた。

気道内径は、全投与群で用量依存的に増加 (0.5 mg/ヒト以上投与群で有意差あり) した。

血液学的検査及び血液生化学的検査では、血中 Glu を除き投与に起因する影響はみられなかった。(参照 1、2)

全投与群で有意な心拍数の増加及び血中 Glu の上昇が認められたことから、本試験において NOAEL は得られず、LOAEL は 0.25 mg/ヒト (0.00417 mg/kg 体重相当) と考えられた。

② 二重盲検 7 日間反復投与比較試験

健常人 (男性、13 名、20~30 歳) にジルパテロール塩酸塩を飲水に溶解して 7 日間

反復投与 (0 及び 0.25 mg/ヒト(ヒト体重 60 kg として 0.00417 mg/kg 体重に相当)、3 回/日、投与群 : 8 名、対照群 : 4 名(プラセボ)、1 名 : 途中離脱) し、振戦、心拍数、血圧及び肺活量の測定並びに血液生化学的検査が行われた。

投与期間中に、9 例中 6 例で投与による毒性影響 (動悸 : 6/9 例、手指の振戦 : 4/9 例等) がみられた。

投与群では、心拍数の有意な増加及び気管支拡張が認められ、FEV₁ (1 秒間努力呼気容量) 及び VC (肺活量) は投与 2 時間後に有意に増加した。MEF₂₅₋₇₅ (肺活量の 25 ~ 75 %における平均呼気流量) は投与 1 日目の投与 2 時間後で有意に増加した。

血液生化学的検査では、投与群でわずかに ALT の上昇がみられた。また、血中 K の低下及び Glu の上昇がみられた。(参照 1、2)

投与群で心拍数の増加、気管支拡張等が認められたことから、本試験において NOAEL は得られず、LOAEL は 0.25 mg/ヒト (0.00417 mg/kg 体重相当) と考えられた。

(2) 喘息患者ボランティアにおける薬理試験

①二重盲検ランダム化プラセボ対照試験 (1 用量比較)

喘息患者 (12 名 (男性 9、女性 3)、19~57 歳) に対して、クロスオーバー試験 (2-way) によりジルパテロール塩酸塩の単回経口投与 (0 及び 0.25 mg/ヒト) を行った。12 名のうち 6 名をプラセボ対照者とし、振戦、心拍数、血圧、気管支拡張作用及びその他の副作用影響を調べた。

振戦は 12 例中 2 例の投与患者で観察され、いずれの患者も中等度で短時間であった。

心拍数の増加は 12 例中 5 例の投与患者でみられ、心拍数は投与 0.5~1.5 時間後で有意な増加を示した。

血圧は投与 0.5 及び 1 時間後に拡張期血圧の有意な低下を示した。

FEV₁ は投与 0.5、1、1.5、2 及び 4 時間後に有意に増加し、投与による気管支拡張が認められた。(参照 1、2)

投与群で心拍数の増加、拡張期血圧の低下等が認められたことから、本試験において NOAEL は得られず、LOAEL は 0.25 mg/ヒト (0.00417 mg/kg 体重相当) と考えられた。

②二重盲検ランダム化プラセボ対照試験 (3 用量比較)

喘息患者 (11 名 (男性 10、女性 1)、24~61 歳) に対して、クロスオーバー試験 (4-way) によりジルパテロール塩酸塩を単回経口投与 (0、0.05、0.10 及び 0.25 mg/ヒト) し、振戦、心拍数、血圧、気管支拡張作用並びに血中 K 及び Glu 値の測定が行われた。

中等度の振戦が、臨床所見として 0.05 (2/11 例)、0.10 (2/11 例) 及び 0.25mg/ヒト投与群 (8/11 例) で一過性にみられたが、正弦波描画法 (sinusoidal drawing method) による客観的評価では、いずれの濃度においても有意ではなかった。

心拍数では、0.25 mg/ヒト投与群で投与 1、1.5、2.5 及び 6 時間後に有意な増加が認められた。

血圧への有意な影響はみられなかった。

気管支拡張は、0.10 (9/11 例) 及び 0.25 mg/ヒト投与群 (11/11 例) でみられ、FEV₁

は、0.10 mg/ヒト投与群の投与1、1.5及び4時間後に、0.25 mg/ヒト投与群では0.5から4時間後に有意な増加がみられた。

血中 Glu の平均値は0.25 mg/ヒト投与群で有意に増加したが、K の平均値では変動はみられなかった。(参照1、2)

0.10 mg/ヒト以上投与群で気管支拡張作用が認められたことから本試験におけるNOAELは0.05 mg/ヒト (0.83 µg/kg 体重) と考えられた。

III. 食品健康影響評価

1. FDAにおける評価

FDAでは、ボランティア喘息患者における薬理試験で得られた気管支拡張作用に基づくNOAEL 0.83 µg/kg 体重に安全係数10を適用し、ジルパテロール塩酸塩のADIを0.083 µg/kg 体重/日と設定している。

2. 毒性学的影響について

(1) 遺伝毒性について

ジルパテロール塩酸塩を用いた *in vitro* の復帰突然変異試験、前進突然変異試験及び不定期DNA合成試験、並びに *in vivo* の小核試験の結果はいずれも陰性であった。したがって、ジルパテロールは生体にとって問題となる遺伝毒性は示さないものと考えられた。

(2) 亜急性毒性試験

亜急性毒性試験では、ラットを用いた30及び90日間並びに13週間の投与試験、イヌを用いた30日間の投与試験が実施され、最低用量群(ラット(30及び90日間):1 mg/kg 体重/日、ラット(13週間):0.05 mg/kg 体重/日、イヌ(30日間):0.5 mg/kg 体重/日)でも心臓への影響等が認められたためNOAELは得られなかった。豚(ユカタンミニ豚)を用いた13週間の投与試験では、1,000 µg/kg 体重/日以上投与群の雌で子宮筋肥大が認められたことから、NOAELは50 µg/kg 体重/日と考えられた。サルを用いた4週間の投与試験では、投与に起因する影響はみられず、NOAELは最高用量の5,000 µg/kg 体重/日と考えられた。

(3) 慢性毒性及び発がん性試験

慢性毒性試験では、ラットを用いた52週間の投与試験が実施され、50 µg/kg 体重/日以上投与群の雌で血圧の上昇が認められたことから、NOAELは25 µg/kg 体重/日と考えられた。

発がん性試験では、マウスを用いた18か月間の投与試験が実施され、発がん性は認められなかった。ラットを用いた104週間の投与試験では、125 µg/kg 体重/日以上投与群で卵巣提鞅帯に良性腫瘍の平滑筋腫が認められたことから、NOAELは50 µg/kg 体重/日と考えられた。卵巣提鞅帯の平滑筋腫については、げっ歯類を用いた試験において、β作動薬により卵巣間膜平滑筋腫の発生が報告されている。また、平滑筋腫の発生はβ受容体拮抗薬の併用により抑制されたことが報告されていることから、当該試験でみら

れた卵巣の平滑筋腫の所見は、被験物質の薬理作用により誘発された腫瘍性病変であると考えられた。この誘発腫瘍については、遺伝毒性試験結果が全て陰性であることから、薬理作用に伴う非遺伝毒性機序により誘発されたものと推察され、催腫瘍性の閾値は、125 µg/kg 体重/日と判定された。

(4) 生殖発生毒性について

2 世代繁殖毒性試験では、ラットを用いた試験が実施され、親動物 (F₀ 及び F₁) に体重増加量などが認められたことから一般毒性的影響に関する NOAEL は 0.06 (雄) 及び 0.10 mg/kg 体重/日 (雌)、生殖毒性に関しては、妊娠期間の延長などが認められたことから NOAEL は 0.23 mg/kg 体重/日 (雄) 及び 0.40 mg/kg 体重/日 (雌) と考えられた。

発生毒性試験では、マウスを用いた試験において投与に起因する影響はみられず、NOAEL は最高用量の 450 mg/kg 体重/日と考えられた。一方、ラットを用いた試験では、母動物に過流涎が認められ、胎児に骨化遅延が認められたことから、NOAEL は、母動物では 0.2 mg/kg 体重/日と、胎児では 10 mg/kg 体重/日と考えられた。ウサギを用いた試験では、母動物に対する NOAEL は最高用量の 180 mg/kg 体重/日、胎児に対する NOAEL は 60 mg/kg 体重/日と考えられた。いずれの試験においても、催奇形性は認められなかった。

(5) 薬理試験について

各種動物を用いた多数の薬理試験が実施されているが、それらの試験の中で、経口投与において最も低い用量でみられた影響は、イヌを用いた 2 つの薬理試験において、10 µg/kg 体重の用量でみられた心拍数の増加及び動脈圧の低下であった。

(6) ヒトに対する影響

ヒトボランティアにおける試験で認められた影響の多くは、心臓血管系及び呼吸器への用量依存的な作用であった。ヒトで得られた NOAEL は喘息患者への単回投与で認められた気管支拡張作用に基づく 0.83 µg/kg 体重 (0.05 mg/ヒト) であった。

3. 一日摂取許容量 (ADI) の設定について

ジルパテロール塩酸塩は、各種遺伝毒性試験において、いずれも陰性の結果が得られている。発がん性試験においては、マウスを用いた試験については発がん性は認められていない。また、ラットを用いた試験については、卵巣提韧带に平滑筋腫が誘発されているが、遺伝毒性試験の結果が全て陰性であることから、薬理作用に伴う非遺伝毒性機序により誘発されたものと推察され、ADI の設定が可能であると考えられた。

各種動物を用いた毒性試験及び薬理試験においては、最も低い用量でみられた影響は心臓血管系への影響であった。一方、ヒトにおける試験においては、喘息患者における薬理試験において、心臓血管系への影響が認められた用量よりも低い用量で気管支拡張作用がみられたことから、この喘息患者における気管支拡張作用に基づく NOAEL は、ヒトにおける心臓血管系への影響も勘案していると考えられた。

したがって、ジルパテロール塩酸塩の ADI としては、喘息患者における薬理試験の気管支拡張作用に基づく NOAEL 0.83 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重に、安全係数として個体差 10 を適用し、0.083 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日と設定することが適当であると考えられた。

以上より、ジルパテロール塩酸塩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。

ジルパテロール塩酸塩 0.083 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日

表 26 FDA における各種試験の無毒性量等の比較

動物種	試験	投与量 (mg/kg 体重/日)	無毒性量 (mg/kg 体重/日)
マウス	18 か月間発がん性	0、10、20、50、250 強制経口投与	20 µg/kg 体重/日 発がん性なし
ラット	13 週間亜急性毒性	0、0.05、0.5、1 強制経口投与	LOEL 0.05 心拍数低下等
	52 週間慢性毒性	0、25、50、125、250 µg/kg 体重/日、混餌投与	250 µg/kg 体重/日 (最高用量)
	104 週間発がん性	0、25、50、125、250 µg/kg 体重/日、混餌投与	50 µg/kg 体重/日 卵巣平滑筋腫 発がん性なし
	2 世代繁殖	0、0.9、3.6、14.4 ppm、 混餌投与	14.4 ppm (最高用量) (雄：0.94、雌：1.77 mg/kg 体 重/日に相当)
	発生毒性	0、0.2、2、10、50 強制経口投与	母動物：0.2、過流涎 胎児：10、骨化遅延
豚	13 週間亜急性毒性	0、1、50、1,000、10,000 µg/kg 体重/日、強制経口 投与	50 µg/kg 体重/日 体重増加 (雄)、子宮肥大 (雌)
サル	4 週間亜急性毒性	0、5、10、50、500 µg/kg 体重/日、強制経口投与	10 µg/kg 体重/日 血圧低下、QT 減少、心拍数増加
ヒト	漸増投与忍容性試験	0、0.25、0.50、1.00、2.00 mg/ヒト、健常ヒトボラ ンティア、経口投与	心拍数、血圧、血中 Glu 及び振 戦頻度の増加
	7 日間反復投与忍容 性試験	0、0.25 mg/ヒト 健常ヒトボランティア、 経口投与	心拍数増加、気管支拡張
	薬理試験	0、0.25 mg/ヒト ボランティア喘息患者、 経口投与	振戦、心拍数増加、拡張期血圧 低下、気管支拡張
	薬理試験	0、0.05、0.10、0.25 mg/ ヒト、ボランティア喘息 患者、経口投与	0.83 µg/kg 体重 気管支拡張 (0.10 mg/ヒトで一 時的、0.25 mg/ヒトで顕著)
毒性学的 ADI			0.083 µg/kg 体重/日
毒性学的 ADI 設定根拠資料			NOAEL：0.83 µg/kg 体重/日 SF：10 薬理試験 (喘息患者)
ADI			0.083 µg/kg 体重/日

〈別紙 1：検査値等略称〉

略称等	名称
ADI	一日摂取許容量
ADP	アデノシン二リン酸
ALT	アラニンアミノトランスフェラーゼ [=グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ (GPT)]
APTT	活性化部分トロンボプラスチン時間
AUC	薬物濃度曲線下面積
Bil	ビリルビン
BUN	血中尿素窒素
CK	クレアチニンキナーゼ
C _{max}	最高濃度
ED ₅₀	半数有効濃度
FDA	米国医薬品食品庁
FEV ₁	1 秒間努力呼気容量
Glu	グルコース (血糖)
HPLC	高速液体クロマトグラフィー
Hb	ヘモグロビン量 (血色素量)
Ht	ヘマトクリット値
IC ₅₀	半数阻害濃度
LC ₅₀	半数致死濃度
LD ₅₀	半数致死量
LDH	乳酸脱水素酵素
LOAEL	最小毒性量
MEF25-75	肺活量の 25～75%における平均呼気流量
NOAEL	無毒性量
PLT	血小板数
PT	プロトロンビン時間
RBC	赤血球数
RDW	赤血球分布幅
T _{1/2}	消失半減期
TG	トリグリセリド
VC	肺活量
WBC	白血球数

〈参照〉

1. 株式会社インターベット. ジルパテロール塩酸塩 (未公表)
2. FDA, FREEDOM OF INFORMATION SUMMARY ORIGINAL NEW ANIMAL DRUG APPLICATION NADA 141-258 ZILMAX (Zilpaterol Hydrochloride), 2006
3. The Merck Index
4. Gibson JP, Sells DM, Cheng HC & Yuh L: Induction of uterine leiomyomas in mice by medroxalol and prevention by propranolol. *Toxicol. Pathol.*: 1987; 15: No.4, 468-473.
5. Nelson LA, Kelly WA & Weikel Jr JH: Mesovarian leiomyomas in the rats in a chronic toxicity study of mesuprine hydrochloride. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 1972; 23: 731-737.
6. Jack D, Poynter D & Spurling NW: Beta-adrenoceptor stimulants and mesovarian leiomyomas in the rat. *Toxicology*, 1983; 27: 315-320.