

(案)

動物用医薬品評価書

キシラジン

2012年2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	4
○要約	5
 I. 評価対象動物用医薬品の概要	6
1. 用途	6
2. 有効成分の一般名	6
3. 化学名	6
4. 分子式	6
5. 分子量	6
6. 構造式	6
7. 使用目的及び使用状況等	6
 II. 安全性に係る知見の概要	7
1. 薬物動態試験	7
(1) 薬物動態試験（ラット）	7
(2) 薬物動態試験（牛）	7
(3) 各種動物における比較薬物動態	8
(4) 代謝試験（ラット）	10
(5) 代謝試験（牛）	11
(6) 代謝試験（馬）	12
2. 残留試験	13
(1) 残留試験（羊及び牛）	13
(2) 残留試験（牛）	13
3. 遺伝毒性試験	15
(1) 遺伝毒性試験（キシラジン）	15
(参考) 2,6-キシリジンの遺伝毒性試験	16
4. 急性毒性試験	17
(参考) 2,6-キシリジンの急性毒性試験	19
5. 亜急性毒性試験	19
(1) 4週間亜急性毒性試験（ラット）＜参考データ＞	19
(2) 32週間亜急性毒性試験（ラット）	19
(3) 13週間亜急性毒性試験（イヌ）	20
(4) 14～16週間亜急性毒性試験（イヌ）	21
(参考) 2,6-キシリジンの毒性試験	21
6. 慢性毒性及び発がん性試験	23
(1) 慢性毒性及び発がん性試験	23

(2) キシラジンの発がん促進作用に関する知見	23
(参考) 2,6-キシリジンの 102 週間発がん性試験 (ラット)	26
7. 生殖発生毒性試験	27
8. 一般薬理試験	28
(1) 一般薬理試験	28
(2) 忍容性試験 (イヌ、牛及び馬)	29
9. ヒトにおける知見	30
10. その他の知見	31
(1) 免疫毒性試験 (イヌ及び馬)	31
(参考) 2,6-キシリジンのメトヘモグロビン及びヘモグロビン付加体形成に関する 試験	31
Ⅲ. 食品健康影響評価	32
1. 各国際機関における評価	32
(1) JECFA の評価	32
(2) EMEA の評価	32
2. 毒性学的影響について	33
・表 17 各種試験におけるキシラジンの無毒性量等の比較	34
・表 18 各種試験における 2,6-キシリジンの無毒性量等の比較	34
・別紙 1 代謝物一覧	35
・別紙 2 検査値等略称	36
・参照	37

1 〈審議の経緯〉

2005 年 11 月 29 日 暫定基準告示（参照 1）

2007 年 7 月 13 日 厚生労働大臣より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 0713008 号）

2007 年 7 月 19 日 第 199 回食品安全委員会（要請事項説明）

2012 年 2 月 29 日 第 137 回動物用医薬品専門調査会

2

3

4 〈食品安全委員会委員名簿〉

(2008 年 12 月 20 日まで)

寺田 雅昭（委員長）

見上 彪（委員長代理）

小泉 直子

長尾 拓

野村 一正

畑江 敬子

本間 清一

(2009 年 6 月 30 日まで)

見上 彪（委員長）

小泉 直子（委員長代理）

長尾 拓

野村 一正

畑江 敬子

廣瀬 雅雄

本間 清一

(2011 年 1 月 6 日まで)

小泉 直子（委員長）

見上 彪（委員長代理）

長尾 拓

野村 一正

畑江 敬子

廣瀬 雅雄

村田 容常

5

(2011 年 1 月 7 日から)

小泉 直子（委員長）

熊谷 進（委員長代理*）

長尾 拓

野村 一正

畑江 敬子

廣瀬 雅雄

村田 容常

*: 2011 年 1 月 13 日から

6

7

8

1 <食品安全委員会動物用医薬品専門調査会専門委員名簿>

(2011 年 10 月 1 日から)

三森 国敏 (座長)

山手 丈至 (座長代理)

石川 さと子 福所 秋雄

石川 整 舞田 正志

小川 久美子 松尾 三郎

寺本 昭二 山口 成夫

天間 恭介 山崎 浩史

頭金 正博 渡邊 敏明

能美 健彦

2

3

要 約

鎮静剤であるキシラジン（CAS No. 7361-61-7）について、食品健康影響評価に関する資料、JECFA 及び EMEA の評価書等を用いて食品健康影響評価を実施した。

（以下調査会終了後作成）

I. 評価対象動物用医薬品の概要

1. 用途

鎮静剤

2. 有効成分の一般名

和名：キシラジン

英名：Xylazine

3. 化学名

IUPAC

英名：2-(2,6-dimethylphenylamino)-5,6-dihydro-4*H*-thiazine

CAS (No. 7361-61-7)

英名：5,6-dihydro-2-(2,6-xylidino)-4*H*-1,3-thiazine

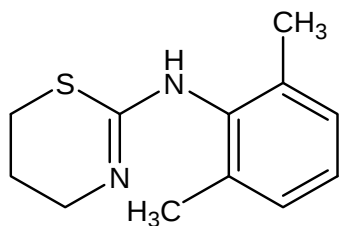
4. 分子式

 $C_{12}H_{16}N_2S$

5. 分子量

220.334

6. 構造式



(参照 3) [Merck index]

7. 使用目的及び使用状況等

キシラジンは α_2 アドレナリン作動薬として中枢神経系に強力に作用し、鎮静、鎮痛及び筋弛緩作用を示す。この中で最も強いのは鎮静作用である。化学構造的にはヒト用医薬品の降圧剤であるクロニジンと似ており、同様の作用スペクトルを示すと考えられている。ヒト用医薬品としては使用されていない。

日本では動物用医薬品として承認されており、その用法及び用量は、牛に対しては 0.05～0.3 mg/kg 体重の筋肉内投与、馬に対しては 0.5～1.0 mg/kg 体重の静脈内投与であり、追加投与を行う場合でも、それぞれの常用最高量を超えないようにする必要があるとされている。(参照 2、4) [2: B 社資料-概要 1.3] [4: Nval HP -DB]

海外では、静脈又は筋肉内投与用に 2 %注射剤及び溶解用液付乾燥製剤が市販されている。投与経路及び適応症によるが、推奨用量は、牛に対しては 0.016～0.3 mg/kg 体重、馬に対しては 0.6～1 mg/kg 体重である。(参照 5、6) [5: EMEA (1)-1] [6: EMEA (2)-1]

キシラジンは、筋肉内、静脈内又は皮下の投与経路により、しばしばバルビツール酸、抱水クロラル、ハロタン、ケタミン等の他の睡眠薬と組み合わせて投与される。(参照 7) [7: FAS38- 1]

なお、ポジティブリスト制度導入に伴う残留基準値¹が設定されている。

II. 安全性に係る知見の概要

本評価書では、食品健康影響評価に関する資料、JECFA 及び EMEA の評価書等をもとに、毒性に関する主な知見を整理した。代謝物一覧及び検査値等略称を別紙 1 及び 2 に示した。(参照 2、5～11)

1. 薬物動態試験

(1) 薬物動態試験 (ラット)

ラット (SD 系、雄) に ³⁵S 又は ¹⁴C 標識キシラジン (チアジン環標識) が投与 (静脈内: 0.02～10 mg/kg 体重、経口: 0.02～100 mg/kg 体重) された。

経口投与では、~~約 5 分の $T_{1/2}$ で~~投与量の 95 % 以上が吸収された。静脈内投与では、2～3 分以内にほぼ全ての組織に分布し、主に腎臓及び中枢神経系に分布した。し、その他に比較的高い放射活性が、脾臓、胸腺、肝臓及び頭蓋腺 (cranial glands) (例えば、眼窩外涙腺 (extraorbital)、舌下腺) にみられた。2 mg/kg 体重の静脈内投与数時間後では極わずかな濃度 (0.3 µg/g 未満) が筋肉中に存在した。経口又は静脈内投与後では、投与量の約 70 % が尿中に排泄され、 $T_{1/2}$ は 2～3 時間であった。残り 30 % が糞中に排泄された。~~経口又は静脈内投与の腎排泄については、100 mg/kg 体重の経口投与では遅延した。経口又は静脈内投与後の糞中排泄量は、胆汁中排泄量と同程度であった。ことから、腸肝循環は注目すべきほど起こらなかった。顕著な腸肝循環は起こっていないと考えられた。~~(参照 2、5～8) [2: B 社資料 B-76: B-77] [5: EMEA (1)-3] [6: EMEA (2)-2] [7: FAS38- 2.1.2.1] [8: TRS876- p.15]

【専門委員よりコメント】

- ・吸収相で $T_{1/2}$ とは? T_{max} のことでしょうか?
- ・「腎排泄が遅延した」とは理解が難しいです。「半減期が延長した」という意味でしょうか?

(2) 薬物動態試験 (牛)

雄牛 (体重 200～250 kg、3 頭) 及び泌乳牛 (体重 450 kg、1 頭) に ¹⁴C 標識キシラジン (チアジン環標識) が単回筋肉内投与 (0.33 mg/kg 体重) された。

血漿中濃度は、投与 1.5 時間後以内にピークに達し、~~その濃度は (0.46 mg/L であ~~
~~った。血漿中濃度は)~~に達し、投与 10 時間後以内には約 0.05 mg/L にまで低下した。(参照 5) [5: EMEA (1)-3]

投与後 10、24、48 及び 72 時間の尿及び糞中への総排泄率は、それぞれ 68、86、83 及び 100 % であった。(参照 2、7) [2: B 社資料 B-80] [7: FAS38- 2.1.2.2]

¹ 平成 17 年厚生労働省告示第 499 号によって新たに定められた残留基準値 (参照 1)。

キシラジン

子牛（2 ヶ月齢、5 頭）にキシラジン塩酸塩が単回筋肉内投与（0.3 及び 0.6 mg/kg 体重）された。

全血中濃度は、投与 20 分後にピークに達し、その濃度は 0.3 及び 0.6 mg/kg 体重の投与でそれぞれ 0.04 及び 0.06 mg/L であった。投与 8 時間後の全血中にはキシラジンはみられなかった。検出されなかった。（参照 2、7） [2: B 社資料 B-81] [7: FAS38- 2.1.2.2]

泌乳牛（5 頭）にキシラジンを単回筋肉内投与（3 頭に 0.2 mg/kg 体重、2 頭に 0.4 mg/kg 体重）し、キシラジンの乳汁中排泄が検討された。

投与 5 及び 21 時間後の乳汁を分析したところ、何れの時点及び用量でもキシラジンは検出されなかった。検出限界は、0.06 mg/L であった。（参照 2、7） [2: B 社資料 B-82B] [7: FAS38- 2.1.2.2]

乳牛（3 頭）にキシラジンを筋肉内投与（2 頭に 0.2 mg/kg 体重、1 頭に 0.5 mg/kg 体重）し、尿中排泄が検討された。

投与量の 1 %未満が尿中に未変化体のまま排泄された。未変化体キシラジンは投与 6 時間後に、代謝物は投与 10 時間後に検出されなくなった。未変化体キシラジンの検出限界は、1～5 µg/L であった。（参照 2、7） [2: B 社資料 B-82C] [7: FAS38- 2.1.2.2]

子牛に ¹⁴C 標識キシラジン（フェニル環標識）を単回筋肉内投与（常用量 0.3 mg/kg 体重）し投与後 24 時間の尿中残留濃度が調べられた。

筋肉内投与後、放射活性は速やかに排出され、投与後 24 時間の尿中に 85.3 %が排泄された。（参照 2） [2: B 社資料 B-代謝 1]

乳牛（高及び低泌乳牛群）に ¹⁴C 標識キシラジン（フェニル環標識）を単回筋肉内投与（0.3 mg/kg 体重）し、薬物動態試験が実施された。

血漿中薬物動態パラメータを表 1 に示した。低泌乳牛群の血漿中総残留濃度は、高泌乳牛群に比べて高かった。放射活性は尿中に速やかに排泄され、投与後 24 時間以内に投与量の 54.7～82.4 %が排泄された。（参照 2） [2: B 社資料 B-代謝 2]

表 1 牛におけるキシラジンの単回筋肉内投与後の血漿中薬物動態パラメータ

群	C _{max} (µg eq/mL)	T _{max} (時間)	T _{1/2} (時間)	AUC _{0~72} (µg eq.h/mL)	AUC _{0~inf} (µg eq.h/mL)
高泌乳牛	0.343	0.75	48.6	2.39	2.67
低泌乳牛	0.517	0.625	34.1	3.31	3.61

（3）各種動物における比較薬物動態

イヌ、羊、牛及び馬に推奨用量を単回静脈内又は筋肉内投与後投与したところ、キシラジンは急速に広範囲にわたって急速に分布した。結果を表 2 にまとめた。分布半減期 T_{1/2α} は 1～6 分で、見かけの分布容は 1.9～2.7 L/kg 体重であった。本化合物の排泄は速やかで消失半減期 T_{1/2β} は 22～58 分であった。（参照 5） [5: EMEA (1)-3]

静脈内投与後の薬物動態パラメータの種差はさほど大きく変化しなかったうち、全身クリアランスには種差がみられた。

キシラジンの速やかな排泄は、広範な代謝によるもので、未変化体キシラジンの速やかな腎排泄によるものではない。投与後 10 分間隔で採取した羊の尿中には、さほど多くの未変化体キシラジンはみられなかった。腎動脈を閉塞されたウサギにキシラジンを投与しても、キシラジンの薬物動態に変化はみられなかった。牛におけるキシラジンの薬物動態パラメータと臨床影響の間に相関関係がみられなかったことから、牛における臨床影響は急速に生成された長期作用性代謝物によるものであり、キシラジンに対する感受性が増大したためではないことが示唆された。(参照 2、5～7) [2: B 社資料 B-78] [5: EMEA (1)-3] [6: EMEA (2)-2] [7: FAS38- 2.1.2.3]

【専門委員よりコメント】

- ・全身クリアランスには種差があると思います。

表 2 各動物種におけるキシラジンの単回静脈内又は筋肉内投与後の薬物動態パラメータ

薬物動態パラメータ	イヌ	羊	牛	馬
体重 (kg)	14～24	42～65	240～440	415～550
投与量 (mg/kg 体重) ¹⁾	1.4	1.0	0.2	0.6
動物数	4	6	4	4
静脈内 ²⁾				
分布半減期 $T_{1/2\alpha}$ (分)	2.57	1.89	1.21	5.97
分布容積 (L/kg)	2.52	2.74	1.94	2.46
排泄半減期 $T_{1/2\beta}$ (分)	30.1	23.1	36.5	49.5
全身クリアランス (mL/分/kg)	81	83	42	21
筋肉内 ²⁾				
吸収半減期 $T_{1/2ka}$ (分)	3.44	5.45	ND	2.72
排泄半減期 $T_{1/2\beta}$ (分)	34.7	22.4	ND	57.7
C_{max} (mg/mL)	0.43	0.13	ND	0.17
T_{max} (分)	12.7	14.7	ND	13.0
生体内利用率：				
平均±標準偏差 (%)	73.9±17.9	40.8±23.8	ND	44.6±4.2
範囲 (%)	52～90	17～73		40～48

1) 投与量は、キシラジンとして表示。

2) 投与後の採血時間は、1、2、4、8、16、30 及び 120 分。

“ND” = 検出限界 (0.01 mg/L) 未満。

【専門委員よりコメント】

- ・「分布半減期」や「吸収半減期」という言葉が使われています。意味は推測できますが、あまり馴染みのない言葉です。

(4) 代謝試験 (ラット)

ラット (SD 系、雄) に ^{35}S 又は ^{14}C 標識キシラジン (チアジン環標識) を静脈内投与 (2 mg/kg 体重) し、尿及び胆汁中代謝物が検討された。

約 20 種類の代謝物が検出された。投与後 24 時間までに投与量の約 8 % が未変化体として投与後 24 時間の尿中に排泄された。主要代謝物は、投与量の 35 % を占めていた。代謝の最終産物は、無機硫酸及び二酸化炭素であった。(参照 2、5～7) [2: B 社資料 B-76: B-77] [5: EMEA (1)-4] [6: EMEA (2)-3] [7: FAS38- 2.1.3.1]

~~キシラジンの特異的代謝物がラットの肝ミクロソームとキシラジンを用いたキシラジンのインキュベートすることにより同定された、キシラジンの特異的代謝物が生成した。~~

代謝物は、2-(3'-hydroxy-2',6'-dimethylphenylamino)-5,6-dihydro-4H-1,3-thiazine (以下「代謝物 A」という。)、2-(4'-hydroxy-2',6'-dimethylphenylamino)-5,6-dihydro-4H-1,3-thiazine (以下「代謝物 B」という。)、N-(2,6-dimethyl phenyl) thiourea (以下「代謝物 D」という。)、及び 2-(2',6'-dimethylphenylamino)-4-oxo-5,6-dihydro-1,3-thiazine (以下「代謝物 C」という。) であった。代謝物 D が *in vitro* で生成された主要代謝物であった。これらの所見に基づき推定されたキシラジンの代謝経路を図 1 に示した。(参照 2、7) [2: B 社資料 B-79] [7: FAS38- 2.1.3.1]

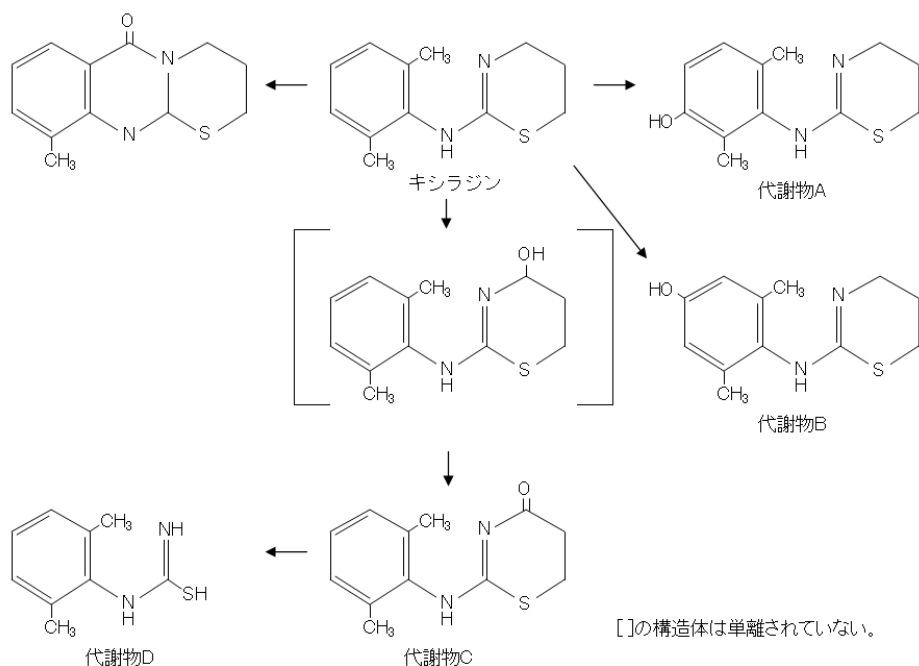


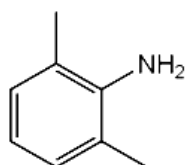
図 1 ラットで推定されたキシラジンの代謝経路

ラット (8 匹) に ^{14}C 標識キシラジン塩酸塩 (アニリン部位標識) を経口投与 (5 mg/kg 体重(遊離塩基)) し、尿中代謝物が TLC により同定された。

放射活性は、主に尿中に排泄された（24 時間以内に 68.3～78.4 %）。尿中放射活性は主に極性抱合体に結合し、酵素的に 5 種類の主要代謝物（代謝物 E～I）に脱抱合化された。これらにはフェニル環の水酸化物及びその後のグルクロン酸抱合体、チアジン環の酸化及び開環由来の代謝物が含まれていた。（参照 2、5、6）[2: B 社資料 B-代謝ラット][5: EMEA (1)-4][6: EMEA (2)-3]

(5) 代謝試験（牛）

乳牛（3 頭）にキシラジンを筋肉内投与（2 頭は 0.2 mg/kg 体重、1 頭は 0.5 mg/kg 体重）し、尿中代謝物が検討された。尿代謝物として同定された 2,6-キシリジン²（図 2）が遊離型及び抱合型の両方の形で認められ、牛ではキシラジンは基本的に速やかな生体内変換により排泄されると考えられた。2,6-キシリジンを生成するチアジン環の分解が主要な生体内変換経路であると提唱された。（参照 2、7）[2: B 社資料 B-82][7: FAS38-2.1.3.3]



[日化辞 J43.456F]

図 2 2,6-キシリジン (2,6-Xylidine)

子牛に ¹⁴C 標識キシラジン（フェニル環標識）を単回筋肉内投与（常用量 0.3 mg/kg 体重）し、子牛の投与後 24 時間の尿中代謝物（β-グルクロニダーゼ処理及び未処理）が TLC により、投与 4 時間及び 1 日後の肝臓、腎臓、筋肉、脂肪及び投与部位中代謝物が HPLC 及び TLC により定量された。

投与後 24 時間以内の尿中排泄量は、投与量の 85 %であった。が尿中に排泄された。尿中には計 10 種類の代謝物が検出され、尿中放射活性の 90 %以上を占めた。尿中放射活性の約 80 %を構成する主要な 5 種類の成分が HPLC/MS により分離され、構造が同定された。これらは、フェニル環が水酸化されたキシラジンのグルクロン酸抱合体並びにチアジン環の酸化及び開環を含んだ抱合体及び/又は未抱合体誘導体（代謝物 E～I）であった。最も多くみられた化合物は、抱合体酸化生成物である代謝物 F であった。TLC 及び HPLC の組み合わせた分析により、未変化体キシラジン及び 2,6-キシリジンは尿中に存在しないことが示された。（参照 5、6）[5: EMEA (1)-4][6: EMEA (2)-3]

投与 1 日後の肝臓以外の組織中放射活性は低すぎて定量できなかった。組織中の代謝物パターンは、尿中のものと同様であった。未変化体キシラジンは、投与 4 時間後では主要な成分であったが、急速に消失し投与 24 時間後には肝臓中放射活性の 4 %に過ぎなくなった。重要な意味を持つ化合物である 2,6-キシリジンは TLC による定性的にも、また、LC/MS/MS（検出限界 5 µg/kg）による定量的にも検出されなかった。

² 2,6-キシリジンは、1-amino-2,6-dimethylbenzene 又は 2,6-dimethylaniline として知られている。

組織及び尿に関するこれらの新しいデータから、牛でのキシラジンの生体内変換には、遺伝毒性及び発がん性を有する 2,6-キシリジンの生成に必須条件である代謝過程（チアジン環とフェニル環の間のアミン架橋の開裂、又はチアジン環の完全分解）が含まれないことが示された。

~~牛乳汁中のキシラジンの代謝物パターンは調べられなかった。~~（参照 2、5、6）[2: B 社資料 B-資料概要 p. 11、代謝 1] [5: EMEA (1)-5] [6: EMEA (2)-4]

乳牛（高及び低泌乳牛群）に ^{14}C 標識キシラジン（フェニル環標識）を単回筋肉内投与（0.3 mg/kg 体重）し、投与 6 日後まで一日 2 回搾乳し、TLC 及びバイオイメージ分析により乳汁中代謝物が調べられた。また、LC/MS により乳汁中 2,6-キシリジン濃度について測定した。

投与日の午後の乳汁から、未変化体キシラジンが高泌乳牛及び低泌乳牛でそれぞれ 0.0095 及び 0.0183 $\mu\text{g eq/mL}$ みられた。これは乳汁中放射活性のそれぞれ約 21 及び 29 %を占めた。残りの放射活性は尿中代謝物の代謝物 E、G 及び H に相当した。投与日の午後及び投与 1 日後の乳汁中 2,6-キシリジン濃度は、すべて定量限界（0.005 $\mu\text{g eq/mL}$ ）未満であった。（参照 2）[2: B 社資料 B-代謝 2]

（6）代謝試験（馬）

馬（雌 1 頭）にキシラジンを投与（1 g、投与経路不明）し、投与後 24 時間にわたって尿を採取して、尿中代謝物が検討された。

馬では、キシラジンは多くの極性及び非極性代謝物に変換された。 β グルクロニダーゼで加水分解された尿のみから代謝物 A 及び B が回収された。尿中に排泄された主要代謝物はグルクロン酸抱合体として存在していた。代謝経路は、ラットでみられたものと定性的に同じで、フェニル環の水酸化、グルクロン酸抱合、チアジン環の酸化及び開環であった。（参照 2、5～7）[2: B 社資料 B-79] [5: EMEA (1)-4] [6: EMEA (2)-3] [7: FAS38- 2.1.3.2]

馬（雌 2 頭）にキシラジンを単回静脈内投与（それぞれ 0.98 及び 1.01 mg/kg 体重）し、投与後 1、3、5、9、13、25、37、49、61、73 及び 85 時間の尿中キシラジン及び代謝物が GC/MS により調べられた（検出限界 0.035 $\mu\text{g/mL}$ 、定量限界 0.105 $\mu\text{g/mL}$ ）。

キシラジンは速やかに代謝され、投与後 1～3 時間で尿中キシラジン濃度が約 1.0 $\mu\text{g/mL}$ まで低下した。尿中に 7 種類の代謝物（A～D、J、K 及び 2,6-キシリジン）が同定されたが、代謝物 K が投与 25 時間後まで追跡できる長期間の代謝物と考えられた。

2,6-キシリジンが馬におけるキシラジンの代謝物として初めて報告された。（参照 9）[9: 文献 1/ Spyridaki et al., 2004]

[事務局より]本試験は、事務局にて MEDLINE 検索して入手した文献になります。代謝試験のデータとして記載は適か不適か、ご確認をお願いいたします。→【専門委員コメント】十分な資料です。

【専門委員よりコメント】2,6-キシリジンが代謝物として生成されるかどうかについて：

- ① 出発物質の量に依存すると思われます。大量であれば、数段階の代謝の過程を経て懸案の物質が出来ると思われます。これが検出される否かは、親化合物のレベルの問題でしょう。
- ② 検出感度にも影響されると思います。投与量を増やして検出感度を上げれば、若干は検出されるので

はないかと思います。問題は、それが毒性的に意味があるかということではないでしょうか。遺伝毒性試験や毒性試験で用いられている投与量とはかなりの差があります。

2. 残留試験

(1) 残留試験（羊及び牛）

羊にキシラジンの過用量（1.0 mg/kg 体重）、牛にキシラジンの推奨用量（0.2 mg/kg 体重）を筋肉内投与し、投与部位及び投与部位から離れた筋肉中のキシラジン残留が UV 検出法により調べられた。

羊において、投与量の 1/3 が投与 10 分後の投与部位にみられたが、投与 20 時間後にはわずかな量まで低下した。投与部位から離れた筋肉（腰筋（incide psoas muscle））からは、投与 20～40 分後に最大値 0.2 µg/kg が検出された。

牛において、投与部位及び投与部位から離れた筋肉では、投与 24 時間後に全く検出されなくなった。（参照 2）[2: B 社資料 B-12]

(2) 残留試験（牛）

子牛（3 頭）及び乳牛（1 頭）に ¹⁴C 標識キシラジン（チアジン環標識）を筋肉内投与（最高推奨用量 0.33 mg/kg 体重）し、投与 10、24、48 及び 74 時間後の各組織中及び投与 12、24、36、48、60 及び 72 時間後の乳汁中の総残留濃度³が調べられた。また、各組織中残留物における未変化体キシラジンを定性的に確認した。

肝臓、腎臓及び投与部位並びに乳汁中における総残留濃度を表 3 に示した。投与 10 時間後の肝臓及び腎臓からは未変化体キシラジンは検出されなかった。乳汁中のキシラジン濃度についてはこの試験では測定され調べられなかった。（参照 2、5、6）[2: B 社資料 B-80] [5: EMEA (1)-16] [6: EMEA (2)-6]

表 3 牛におけるキシラジンの筋肉内投与後の各組織及び乳汁中総残留濃度①（µg eq/kg）

投与量	測定部位	投与後時間（時間）										
		10		24		48		74				
0.33 mg/kg 体重 筋肉内投与	肝臓	240		120		120		<100				
	腎臓	410		110		<100		<100				
	投与部位	190		140		<100		<100				
	測定部位	投与後時間（時間）										
		12		24		36		48		60		72
	乳汁	60		50		30		20		10		<10

牛に ¹⁴C 標識キシラジン塩酸塩（フェニル環標識）を筋肉内投与（0.3 mg/kg 体重）し、投与 4 時間、1、2 及び 6 日後の各組織中の総残留濃度が調べられた。

³ 総残留放射活性を指標にして、キシラジン濃度に換算した。以下同じ。

キシラジン

肝臓、腎臓、筋肉、脂肪及び投与部位の総残留濃度を表 4 に示した。何れの組織中総残留濃度は投与 4 時間後以降急速に低下し、脂肪及び筋肉内では投与 1 日後までに、投与部位では投与 6 日後までに検出限界以下となった。肝臓中濃度は投与 1 日後の 93 µg eq/kg から 6 日後の 29 µg eq/kg まで減衰し、見かけ上の $T_{1/2}$ は 76 時間であった。腎臓中濃度は 6 日後に 10 µg eq/kg となり、これはほぼ検出限界値に近い値であった。この結果はチアジン環が標識された上記の試験で得られた結果と同様であった。(参照 2、5、6) [2: B 社資料 B-代謝 1] [5: EMEA (1)-17] [6: EMEA (2)-7]

表 4 牛におけるキシラジンの筋肉内投与後の各組織中総残留濃度② (µg eq/kg)

投与量	採取部位	投与後時間			
		4 時間	1 日	2 日	6 日
0.3 mg/kg 体重 筋肉内投与	肝臓	500	93	61	29
	腎臓	872	41	20	10
	筋肉	57	<8	<8	<8
	脂肪	56	<8	9	<9
	投与部位	8,320	15	17	<8

牛にキシラジンを単回筋肉内投与 (0.3 mg/kg 体重) し、投与 1、3、5 及び 7 日後の肝臓、腎臓、筋肉、脂肪及び投与部位中のキシラジンの残留が調べられた。

何れの試料中にもキシラジンは検出されなかった。検出限界は肝臓及び腎臓では 0.05 mg/kg、筋肉、脂肪及び投与部位では 0.01 mg/kg であった。(参照 2) [2: B 社資料 B-13]

牛にキシラジンを単回筋肉内投与 (0.3 mg/kg 体重) し、投与 24、48、96 及び 192 時間後の肝臓、腎臓、筋肉、脂肪及び投与部位中のキシラジンの残留が調べられた。

何れの試料中にもキシラジンは検出されなかった。検出限界は筋肉、脂肪及び投与部位では 0.01 mg/kg、肝臓及び腎臓では 0.05 mg/kg であった。(参照 2) [2: B 社資料 B-15(17)]

乳牛 (高及び低泌乳牛群) に ^{14}C 標識キシラジン塩酸塩 (フェニル環標識) を単回筋肉内投与 (目標用量 0.3 mg/kg 体重) し、投与 6 日後まで一日 2 回搾乳し、乳汁中の総残留濃度及びキシラジン濃度が調べられた。投与は午前に行った。

高及び低泌乳牛の乳汁中の平均総残留濃度を表 5 に示した。平均総残留濃度は投与 3 日後には定量限界 (0.5 µg eq/L) 未満となった。

1 回目の搾乳時点で、乳汁中キシラジン濃度は既に 2~21 µg/L の範囲と低くなっていた。(参照 2、6) [2: B 社資料 B-代謝 2] [6: EMEA (2)-8]

表 5 牛におけるキシラジンの単回筋肉内投与後の乳汁中総残留濃度 (μg eq/L)

群	試料採取時点					
	投与日	投与 1 日後		投与 2 日後		投与 3 日後
	午後	午前	午後	午前	午後	午前
	1 回目	2 回目	3 回目	4 回目	5 回目	6 回目
高泌乳牛	46.2	11.7	4.7	0.8	<0.5	<0.5
低泌乳牛	63.4	18.7	8.1	2.1	1.1	<0.5

乳牛 (6 頭) にキシラジンを単回筋肉内投与 (0.3 mg/kg 体重) し、投与 10 日後までの乳汁中のキシラジンの残留が調べられた。

1 回目の搾乳 (投与 7~8 時間後) の乳汁 3/6 例で 0.012~0.019 mg/L が検出されたが、それ以降は全て定量限界以下となった。定量限界は 0.01 mg/L であった。(参照 2、6) [2: B 社資料 B-19(20)] [6: EMEA (2)-9]

乳牛にキシラジンを単回筋肉内投与 (0.3 mg/kg 体重) 後、一日 2 回 (午前及び午後) 搾乳し、投与 6 日後までの乳汁中のキシラジンの残留が調べられた。

キシラジンは全く検出されなかった。検出限界は 0.01 mg/L であった。(参照 2) [2: B 社資料 B-18]

3. 遺伝毒性試験

(1) 遺伝毒性試験 (キシラジン)

キシラジンの遺伝毒性に関する各種 *in vitro* 及び *in vivo* 試験の結果を表 6 及び 7 に示した。(参照 2、5、7、10) [2: B 社資料 B-概要 1-3-5: B-125: B-追 Ames: B-126: B-127] [5: EMEA (1)-10] [7: FAS38- 2.2.5 Table4] [10: B 参考資料 1-10]

表 6 キシラジンの *in vitro* 試験

試験	試験対象	用量	結果
復帰突然変異試験	<i>Salmonella typhimurium</i> TA98、TA100	0~10,000 μg/plate (±S9 ¹⁾)	陰性 [10: B 参考資料 1-10]
	<i>S. typhimurium</i> TA98、TA100、TA1535、TA1537、TA1538	400~12,000 μg/plate (±S9)	一部陽性 ²⁾ [2: B-125]
	<i>S. typhimurium</i> TA98、TA100、TA102、TA1535、TA1537	0~5,000 μg/plate (±S9)	陰性 [2: B-追 Ames]
前進突然変異試験	チャイニーズハムスター V79 細胞、HPRT 座位	2.5~40 μg/mL (+S9) 62.5~1,500 μg/mL (-S9) ³⁾	陰性 [2: B-126]

1) ラットの肝臓由来。

2) TA1535 (-S9) 及び TA1538 (-S9) において陰性対照の 2 倍以上の変異コロニー数がみられた。

3) 1,500 µg/mLにおいて細胞毒性が観察された。

表 7 キシラジンの *in vivo* 試験

試験	試験対象	用量	結果
小核試験	マウス骨髄細胞	50 mg/kg 体重、 単回腹腔内投与	陰性 [2: B-127]

復帰突然変異試験については三試験が報告されている。一試験において、S9 非存在下の *S. typhimurium* TA1535 及び TA1538 に陰性対照の 2 倍以上の復帰突然変異コロニー数がみられたが、この増加には用量依存性はみられなかった。また、12,000 µg/plate までの用量で、いかなる細菌毒性作用は認められなかった。(参照 2、5、7) [2: B 社資料 B-125] [5: EMEA (1)-10] [7: FAS38- 2.2.5 Table4] また、残りの二試験では、キシラジンの変異原性は S9 の存在下及び非存在下の何れにおいても認められなかった。(参照 2、10) [2: B 社資料 B-追 Ames] [10: B 参考資料 1-10] さらに、チャイニーズハムスター V79 細胞を用いた *in vitro* の前進突然変異試験、マウスを用いた *in vivo* の小核試験では陰性であった。(参照 2、5、7) [2: B 社資料 B-126: B-127] [5: EMEA (1)-10] [7: FAS38- 2.2.5 Table4]

以上より、キシラジンは生体にとって特段問題となる遺伝毒性は示さないものと考えられた。

[事務局より]

JECFA に提出された復帰突然変異試験は、1 件(1984 年に報告されたもの(B-125 に該当))のみで、JECFA は弱い陽性と判断しています。また、JECFA はチャイニーズハムスターの V79 細胞を用いた *in vitro* の前進突然変異試験及びマウスを用いた *in vivo* の小核試験の結果を踏まえた上でも、キシラジンには弱い遺伝毒性があると判断しています。

一方、EMEA では、JECFA 提出されたデータ以外に、再試験された *in vitro* の復帰突然変異試験結果(1998 年、B-追 Ames)が提出されており、これらを元に EMEA はキシラジンに遺伝毒性はないと判断しています。

(参考) 2,6-キシリジンの遺伝毒性試験

2,6-キシリジンの遺伝毒性に関する各種 *in vitro* 及び *in vivo* 試験の結果を表 8 及び 9 に示した。(参照 7) [7: FAS38- 2.2.5 Table4]

表 8 2,6-キシリジンの *in vitro* の遺伝毒性試験結果

試験	試験対象	用量	結果
復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> TA98、 TA100、TA1535、TA1537	100～9,900 µg/plate (±S9 ¹⁾)	陰性
	<i>S. typhimurium</i> TA98、 TA100、TA1537	360 µg/plate (±S9)	陰性 ²⁾
	<i>S. typhimurium</i> TA1535	3 µmol/plate (±S9)	陰性 ²⁾
	<i>S. typhimurium</i> TA98、 TA100、TA1535、TA1537	0.1～10 mg/plate (±S9)	一部陽性 ³⁾
	<i>S. typhimurium</i> TA100	480～4,000 µg/plate (±S9)	陰性

遺伝子突然変異試験	マウスリンフォーマ L5178Y 細胞、tk 座位	用量記載なし (±S9)	陽性
姉妹染色分体交換試験	CHO 細胞	30～1,500 µg/mL (±S9)	陽性

1) ラットの肝臓由来。

2) スポット試験のみ。

3) TA100 について、研究室の内 2 研究室において +S9 で弱い陽性、1 研究室において陰性であった。

表 9 2,6-キシリジンの *in vivo* の遺伝毒性試験結果

試験	試験対象	用量	結果
細胞遺伝学試験	ICR マウス骨髄	350 及び 375 mg/kg 体重、 経口投与	陰性 ¹⁾
<i>in vivo</i> - <i>in vitro</i> DNA 修復試験	ラット初代肝細胞	40～850 mg/kg 体重、 経口投与	陰性
DNA 共有結合試験	ラット	87.2 µCi ¹⁴ C 標識 2,6-キシリジン/ ラット、腹腔内投与 ²⁾	陽性

1) 被験物質が標的組織（骨髄）に到達しなかったことを示唆する結果。

2) 前処置として、非標識 2,6-キシリジン 262.5 mg/kg 体重を 9 日間連続投与した。

2,6-キシリジンを用いた *in vitro* の復帰突然変異試験で一部陽性、遺伝子突然変異試験及び姉妹染色分体交換試験並びに *in vivo* の DNA 共有結合試験で陽性であった。

以上のことから、2,6-キシリジンは遺伝毒性を有することが示唆された。

4. 急性毒性試験

マウス、ラット、イヌ、ネコ、馬及び牛の各投与経路による急性毒性試験の結果を表 10 に示した。（参照 2、5、7、10）[2: B 社資料 B-87][5: EMEA(1)-6][7: FAS38- Table3][10: B 参考資料 1-概要]

表 10 各種動物におけるキシラジンの LD₅₀ (mg/kg 体重)

動物	投与経路			
	静脈内	皮下	経口	筋肉内
マウス	43±2.5	121±13.0 雄: 150、雌: 179	240±24.0 雄: 386、雌: 340	雄: 101、雌: 105
ラット		雄: 212、雌: 225	130±12.0 雄: 520、雌: 490	雄: 185、雌: 164
イヌ	22			47
ネコ		100～110		
馬	15～28 ¹⁾			60～70 ¹⁾
牛				0.9 ¹⁾

1) 最低致死量

イヌの筋肉内投与による LD₅₀ は 47 mg/kg 体重、静脈内投与による LD₅₀ は 22 mg/kg 体重であった。(参照 2、5、7) [2: B 社資料 B-88] [5: EMEA (1)-6] [7: FAS38- 2.2.1.1]

イヌに常用量の 10 倍量 (22 mg/kg 体重) のキシラジンを筋肉内投与した別の試験では、2/4 例が死亡したが、死亡しなかった動物は全て痙攣、意識消失及び呼吸抑制障害から後遺症なく回復した。(参照 2、5、7) [2: B 社資料 B-91] [5: EMEA (1)-6] [7: FAS38- 2.2.1.1]

ネコの皮下投与による LD₅₀ は 100~110 mg/kg 体重の範囲にあると考えられた。(参照 2、5、7) [2: B 社資料 B-89] [5: EMEA (1)-6] [7: FAS38- 2.2.1.1]

ネコにキシラジン 10 mg/kg 体重を静脈内投与した 30~60 秒後に痙攣が現れ、1~5 分間持続した。(参照 2、5、7) [2: B 社資料 B-90] [5: EMEA (1)-6] [7: FAS38- 2.2.1.1]

ネコに常用量の 10 倍量 (22 mg/kg 体重) のキシラジンを静脈内投与した別の試験では、1/3 例が死亡したが、死亡しなかった動物は全て痙攣、意識消失及び呼吸抑制障害から後遺症なく回復した。(参照 2、5、7) [2: B 社資料 B-91] [5: EMEA (1)-6] [7: FAS38- 2.2.1.1]

成馬にキシラジンが投与 (静脈内: 雌馬 3 頭及び去勢馬 1 頭に 11 mg/kg 体重、筋肉内: 雌馬 2 頭及び去勢馬 2 頭に 22 mg/kg 体重) された。静脈内投与により投与 4 分後に雌馬 1 頭が死亡した。他の全ての被験動物は、静脈内投与では 24 時間で、筋肉内投与では 48 時間で投与に関連した影響から回復した。(参照 2、5、7) [2: B 社資料 B-93] [5: EMEA (1)-6] [7: FAS38- 2.2.1.2]

馬に 0.5~2.8 mg/kg 体重のキシラジンの静脈内投与でも、予期しない死亡が報告されている。(参照 5) [5: EMEA (1)-6]

馬にキシラジン 1.5~3 mg/kg 体重を筋肉内、静脈内、動脈内投与した別の試験では、個体差による過量症状が認められたのみで、致死には至らなかった。2~3 mg/kg 体重を筋肉内投与した時にも何ら問題はなかった。しかしながら、雌馬に 2.16 mg/kg 体重を皮下投与した時に異常反応 (興奮) が認められた例も報告されている。(参照 2) [2: B 社資料 B-94: B-95: B-96]

牛にキシラジンの過剰用量 (2 mg/kg 体重) を静脈内投与した時に回復に時間がかかった例が認められた。一方、0.2 mg/kg 体重を筋肉内投与した例で心停止 (その後回復) が報告されている。(参照 2) [2: B 社資料 B-97]

また、妊娠牛に著しい過剰用量 (4.6 mg/kg 体重) を筋肉内投与した例では早産が報告されている。(参照 2) [2: B 社資料 B-98]

過剰用量 (0.18~0.35 mg/kg 体重) を静脈内投与した牛 34 頭 (Hereford 種及び Friesian 種各 17 頭) について、Hereford 種の方がキシラジンの投与後速やかに横臥し、回復も遅かったことが報告されている。(参照 2) [2: B 社資料 B-99]

最も感受性の高い牛では、最小致死量は最大推奨用量の約 3 倍量、すなわち 0.9 mg/kg 体重であった。(参照 5) [5: EMEA (1)-6]

(参考) 2,6-キシリジンの急性毒性試験

2,6-キシリジンは、染料に用いられる化学的中間物質、タバコの煙の成分、また、アニリン系殺虫剤 (pesticides) の分解産物であるため、その毒性について大規模に研究されている。2,6-キシリジンの LD₅₀ を表 11 にまとめた。(参照 7) [7: FAS38- 2. 2. 1 Table3]

表 11 2,6-キシリジンの急性毒性試験結果

動物種	雌雄	投与経路	LD ₅₀ (mg/kg 体重)
マウス	雄	経口	710
ラット	—	経口	2,042
	雄	経口	840
	雄	経口	630
	雄	経口	1,230
	雌雄	経口	1,160 及び 1,270 620~1,250 及び 1,310

5. 亜急性毒性試験

(1) 4 週間亜急性毒性試験 (ラット) <参考データ>

ラット (F344 系、6 週齢、雄 6 匹/対照群及び雄 14 匹/投与群) を用いたキシラジンの混餌投与 (0 及び 1,000 ppm) による 4 週間亜急性毒性試験が実施された。病理組織学的検査では鼻腔及び主要臓器を調べた。

明らかな臨床症状は観察されなかった。体重については、投与群と対照群との間に差はなかった。

剖検では、投与群に甲状腺肥大が観察された。この所見の組織学的検査では、甲状腺濾胞上皮細胞の肥大し、濾胞腔が狭くなっていた。濾胞のコロイド内容物が減少し、エオジンにわずかに染色された。

キシラジン及び 2,6-キシリジンの血漿中濃度はともに検出限界 (0.02 µg/mL) 以下であった。(参照 11) [11: B 参考資料 2-3-II]

[事務局より]

本試験の内容は、研究論文で GLP 基準に沿った毒性試験ではないため取扱いには配慮が必要と思われます。血液学的及び血液生化学的検査、限られた病理組織学的検査であり、NOAEL を求めるための毒性試験とは異なるため、「参考データ」と記載しています。

(2) 32 週間亜急性毒性試験 (ラット)

ラット (Wistar 系、雌雄各 10 匹/群) を用いたキシラジンの混餌投与 (0、50、100、250 及び 500 ppm : 体重 1 kg 当たりの投与量は表 12 参照。) による 32 週間亜急性毒性試験が実施された。血液学的検査 (Hb、RBC 及び WBC、血球分化 (differential blood picture))、尿検査並びに剖検及び病理組織学的検査を実施した。

各投与群の雄で各 1 例、対照群及び 100 ppm 群の雌で各 1 例が死亡した。

250 及び 100 ppm 群の雄において対照群より体重増加量が少ない傾向がみられたが、統計学的有意差は認められなかった。500 ppm 群の雌に体重増加量が有意に低下した ($p<0.02$)。

摂餌量、血液学的検査、尿検査、剖検所見及び臓器重量に対照群との差はなかった。尿細管上皮細胞の脂肪変性が対照群、50、100、250 及び 500 ppm 群にそれぞれ 1/10、2/10、3/10、3/10 及び 5/10 例みられたが、これらは重度の感染症によるものと考えられた。(参照 2、5、7) [2: B 社資料 B-105: B-106] [7: FAS38- 2.2.2.1] [5: EMEA (1)-5]

本試験では、全ての動物が感染症に罹患していたこと及び血液学的検査が十分に行われていないことから、NOAEL は求められなかった。

表 12 ラットにおけるキシラジンの 32 週間慢性毒性試験における投与量 (mg/kg 体重/日)

飼料濃度	0 ppm	50 ppm	100 ppm	250 ppm	500 ppm
雄	0	3	6	21	41
雌	0	4	8	19	45

[事務局より]

JECFA では NOAEL を混餌濃度 100 ppm (6 mg/kg 体重/日相当) としつつ、「全ての群に感染がみられたため、本試験の NOAEL の信頼性は疑問である」としています。[FAS 38-Comments]

一方、EMEA では、本試験では血液学的検査が不足し、病理組織学的検査も限られていること、全動物が重度の肺感染症に罹患していたこと等を理由に NOAEL は設定できなかったとしています。[EMEA (1)-7]

(3) 13 週間亜急性毒性試験 (イヌ)

イヌ (ビーグル種、約 8.5 ヶ月齢、体重 7~10kg、雌雄各 2 匹/群) を用いたキシラジンの混餌投与 (0、10、30 及び 100 ppm : 0、0.33、0.94 及び 3.1 mg/kg 体重/日に相当) による 13 週間亜急性毒性試験が実施された。一般状態、眼検査、心電図、血液学的、生化学的及び尿検査、剖検並びに病理組織学的検査を実施した。

一般状態に異常は認められず正常範囲であった。全ての試験群の体重が増加し、摂餌量も同様に順調であった。

眼検査、心電図等にも投与に起因した変化は認められなかった。

血液学的及び血液生化学的検査、尿検査、臓器重量、病理組織学的検査所見等についても投与による変化は認められなかった。

本試験においては最高用量の 100 ppm (3.1 mg/kg 体重/日に相当) まで投与しても毒性作用は認められなかった。これ以上の用量については、イヌが経口摂取を拒否するため検討されなかった。(参照 2、5、7) [2: B 社資料 B-108: B-109] [5: EMEA (1)-7] [7: FAS38- 2.2.2.1]

イヌにおける非経口投与の推奨治療用量は 1~3 mg/kg 体重であるが、本試験では最大用量である 3 mg/kg 体重/日における薬理学的影響が報告されておらず、本試験の飼料中のキシラジン含有量、均一性及び安全性についても確認されていないことから、実際の投与量は不明である。したがって、NOAEL は求められなかった。

[事務局より]

JECFA では本試験の NOAEL を最大用量である 3 mg/kg 体重/日と設定しています。[FAS 38- Comments]
一方、EMA では飼料中のキシラジンの含有量、均一性及び安定性について確認されていないことから実際の投与用量が不明であること、イヌにおける治療用推奨投与量は経口だが 1~3 mg/kg 体重であること、最高経口投与量 3 mg/kg までの薬理学的影響が記載されていないこと等を理由に明確な NOAEL を導き出せなかったとしています。[5:EMA (1)-7]

(4) 14~16 週間亜急性毒性試験 (イヌ)

イヌ(雑種、雄 5 匹及び雌 3 匹)⁴を用いたキシラジンのゼラチンカプセル経口投与(25、50 及び 100 mg/kg 体重/日)による 14~16 週間(5 日/週)亜急性毒性試験が実施された。一般状態、血液学的、生化学的及び尿検査、剖検並びに病理組織学的検査を実施した。

100 mg/kg 体重/日群の雄 1 例が試験 8 週目に死亡した。

一般症状については、100 mg/kg 体重/日群において、投与後すぐに無気力及び筋肉衰弱(muscular debility)がみられ、約 1 時間半続いた。同様の所見が 25 mg/kg 体重/日群にもみられた。試験期間中、25 mg/kg 体重/日群の雌 1 例で妊娠が発見された。体重変化については、死亡例に投与後の持続的な減少、妊娠例に持続的な増加が認められたが、他の被験動物に一定の傾向は認められなかった。

血液学的及び血液生化学的所見並びに尿検査に異常は認められなかった。

剖検では、死亡例の胃及び大腸の粘膜において発赤のみがみられた。

病理組織学的検査では、100 mg/kg 体重/日群において肝臓の脂肪変性及び肝細胞壊死、腎臓の脂肪蓄積及び尿細管上皮の壊死がみられた。25 及び 50 mg/kg 体重/日群に投与に関連した変化は認められなかった。(参照 2、5、7) [2: B 社資料 B-107] [5: EMA (1)-7] [7: FAS38-2.2.2.1b]

本試験において、対照群が設定されていないこと、病理組織学的検査が肝臓及び腎臓のみであることから、NOAEL は求められなかった。

[事務局より]

JECFA では本試験について対照群がないこと、各群の動物数が少ないこと及び試験計画が不備であることから、不十分な試験であるとしています。[7:FAS 38- Comments]

EMA でも、対照群が設定されていないこと、各投与群の動物数が少ないこと、血液生化学的検査及び病理組織学的検査が限られていることから NOEL の設定はできなかったとしています。[EMA (1)-7]

(参考) 2,6-キシリジンの毒性試験

① ラット

ラット(F344系、雄 9~10 匹/群)を用いた 2,6-キシリジンの強制経口投与(160 mg/kg 体重/日)による 5、10 及び 20 日間亜急性毒性試験が実施された。投与量は、推定 LD₅₀ の 25 %であった。

⁴ 各群の動物数の詳細は、25 mg/kg 体重/日群では雌雄各 1 匹、50 mg/kg 体重/日群では雄 2 匹、100 mg/kg 体重/日群では雌雄各 2 匹となっている。

1 投与 20 日後における脾ヘモジデリン沈着症（赤血球障害の指標）の有意な増加は、
2 投与に関連した影響であると見なされた。脾臓のうっ血及び赤血球増生の形跡は軽微で
3 あった。（参照 7） [7: FAS38- 2.2.2.2]

4
5 ラット（SD 系、対照群、低及び中用量投与群は雌雄各 5 匹/群、高用量投与群は雌雄
6 各 4 匹/群）を用いた 2,6-キシリジンの強制経口投与（0、20、100、500～700 mg/kg 体
7 重/日）による 4 週間亜急性毒性試験が実施された。

8 体重増加量の低下、Hb の減少及び肝腫大が投与に関連した影響であった。この試験
9 で、ラットにおける 2,6-キシリジンの肝毒性に対する感受性は、イヌの約 1/10 であると
10 考えられた。（参照 7） [7: FAS38- 2.2.2.2]

11
12 ラット（SD 系、8 週齢、雌雄 5 匹/群）に 2,6-キシリジンを 1 週間強制経口投与（0、
13 400 mg/kg 体重/日）し、続いて 3 週間連日投与（0、500 mg/kg 体重/日）して、亜急性
14 毒性試験が実施された。

15 体重増加量の低下及び肝腫大（小葉中心性領域が最も顕著）が投与に関連した影響で
16 あった。肝組織の電子顕微鏡検査では肝臓の滑面小胞体の増殖を示し、これが投与群の
17 肝腫大の原因であると考えられた。雄でミクロソームのグルクロン酸転移酵素の増加が
18 観察され、雌ではアニリン水酸化酵素濃度が増加した。肝グリコーゲン及びグルコース
19 -6-フォスファターゼ活性の低下が投与群の小葉中心性領域に観察された。（参照 7） [7:
20 FAS38- 2.2.2.2]

21
22 ラット（OM 系、雄）を用いた 2,6-キシリジンの混餌投与（～10,000 mg/kg 体重/日
23 ppm）による 3～6 ヶ月間亜急性毒性試験がされた。

24 25 %の体重減少、貧血、病理組織学的変化を伴わない肝腫大、脾臓のうっ血及び腎毒
25 性が投与に関連した影響であった。（参照 7） [7: FAS38- 2.2.2.2]

26
27 ラット（F344/N 系、雌雄各 5 匹/群）を用いた 2,6-キシリジン（コーン油懸濁）の強
28 制経口投与（0、80、160、310、620 及び 1,250 mg/kg 体重）による 2 週間（5 日/週）
29 亜急性毒性試験が実施された。

30 620 mg/kg 体重/日以上投与群で投与に関連する死亡がみられた。1,250 mg/kg 体重/
31 日群の全例が試験終了までに死亡した。310 mg/kg 体重/日以上投与群の雄及び 160
32 mg/kg 体重/日以上投与群の雌に 10 %以上の体重低下が観察された。

33 310 又は 620 mg/kg 体重/日群の雄に汎発性白血球增多症及び有核赤血球数の増加が
34 観察された。溶媒対照群に比較して投与群では、軽度の不同血球症、変形赤血球増加症
35 及び多染性赤血球症がより頻繁に起きた。310 mg/kg 体重/日群で中等度の変形赤血球増
36 加症が、310 及び 620 mg/kg 体重/日群で中等度の多染性赤血球症が起きた。620 及び
37 1,250 mg/kg 体重/日群で軽度の大赤血球增多症が観察された。310 及び 620 mg/kg 体重
38 /日群の雌で軽度の不同血球症、変形赤血球症及び多染性赤血球症が観察された。（参照
39 7） [7: FAS38- 2.2.2.2]

本試験において、310 mg/kg 体重/日群の雌雄で血液学的パラメータの変化が観察されたことから、NOAEL は 80 mg/kg 体重/日と考えられた。

ラット (F344/N 系、雌雄各 10 匹/群) を用いた 2,6-キシリジン (コーン油懸濁) の強制経口投与 (0、20、40、80、160 及び 310 mg/kg 体重) による 13 週間 (5 日/週) 亜急性毒性試験が実施された。

310 mg/kg 体重/日群の雄並びに 40 及び 160 mg/kg 体重/日以上投与群の雌に 10 % 以上の体重増加量の低下がみられた。

40 mg/kg 体重/日以上投与群の雄において、WBC の有意な減少を含む投与に関連した血液学的影響がみられた。80 mg/kg 体重/日以上投与群では、WBC の百分率の減少及び分葉核好中球の百分率の増加を伴っていた。雄では、160 及び 310 mg/kg 体重/日群で Hb が有意に低下し、310 mg/kg 体重/日群で RBC 及び Ht が減少した。

310 mg/kg 体重/日群の雌雄では、肝臓比重量⁵が有意に増加した ($p=0.003$)。肝臓比重量は 160 mg/kg 体重/日群の雄も増加した。310 mg/kg 体重/日群の雌で脳に対する肝臓及び腎臓の脳重量比重量が増加した。(参照 7) [7: FAS38- 2.2.2.2]

本試験において、40 mg/kg 体重/日群の雄で WBC の有意な減少、同投与群の雌で 10 % 以上の体重増加量の低下がみられたことから、NOAEL は 20 mg/kg 体重/日と考えられた。

② イヌ

イヌ (ビーグル種、雌雄各 1 頭/群) を用いた 2,6-キシリジンがのゼラチンカプセル経口投与 (0、2、10 及び 50 mg/kg 体重/日) による 4 週間亜急性毒性試験が実施された。

投与に関連した影響としては、嘔吐 (10 mg/kg 体重/日以上投与群)、体調不良及び体重低下 (50 mg/kg 体重/日群)、高ビリルビン血症 (10 mg/kg 体重/日以上投与群)、低タンパク血症 (10 mg/kg 体重/日以上投与群) 並びに投与量の増加に伴い重症度が増した肝臓の脂肪変性が認められた。(参照 7) [7: FAS38- 2.2.2.2]

6. 慢性毒性及び発がん性試験

(1) 慢性毒性及び発がん性試験

慢性毒性及び発がん性試験は実施されていない。

EMEA では、変異原性試験が陰性であったこと及び structural alerts を有していないことから発がん性試験は必要ないと考えられたとしている。(参照 5、7) [5: EMEA (1)-11] [7: FAS38- 2.2.3.1]

(2) キシラジンの発がん促進作用に関する知見

キシラジンの鼻⁵腔がん及び甲状腺がんの発がん促進作用に関する知見が報告されている。

⁵ 体重比重量を比重量という。以下同じ。

[事務局より] 次の①～③の文献は研究論文であり、GLP 基準に沿った毒性試験ではないため取扱いには配慮が必要と思われます。

① キシラジンの鼻腔がん促進作用

ラット (F344 系、雄 20 匹/群) に N-bis(2-hydropropyl)nitrosamine (DHPN) を単回皮下投与 (2,400 mg/kg 体重) してイニシエーションし、その投与 1 週間後からキシラジン塩酸塩を 52 週間混餌投与 (0 及び 1,000 (最大許容量) ppm) して、キシラジンの鼻腔がん促進作用が検討された。対照群として、キシラジン投与のみの群及び無投与群 (各 10 匹) が設定された。試験期間中、体重及び摂餌量を定期的に測定し、剖検時には HPLC により血漿中キシラジン及び 2,6-キシリジン濃度を測定した。また、鼻腔の病理組織学的検査を行った。

DHPN 投与群では病理組織学的に、鼻腔における上皮過形成、異形成細胞巣、腺腫、未分化がん及び/又は扁平上皮がんが認められたが、これらの増殖性病変の発現率はキシラジンの投与には関係しなかった (表 13)。2,6-キシリジンの血漿中濃度は DHPN+キシラジン投与群の 2 例 (0.04 及び 0.06 µg/mL) を除いて検出限界 (0.02 µg/mL) 以下であった。

表 13 ラットにおける DHPN の前投与又は無投与下のキシラジン混餌投与 (1,000 又は 0 ppm) 後の鼻腔病巣を有する動物数

投与群	動物数	増殖性病巣			腫瘍		総計
		上皮過形成	異形成細胞巣	腺腫	未分化がん	扁平細胞がん	
DHPN 単独	20	18 (90) ¹⁾	1 (5)	4 (20)	1 (5)	0	5
DHPN+キシラジン	20	18 (90)	2 (10)	5 (25)	2 (10)	1 (5)	8
無投与	10	4 (40)	0	0	0	0	0
キシラジン単独	10	5 (50)	0	0	0	0	0

1) カッコ内は発現率 (%)

以上の結果より、キシラジンは鼻組織においていかなる腫瘍促進作用も有さず、*in vivo* において発がん物質である 2,6-キシリジンへ変換される可能性も極めて低い。

また、同様な 2 段階発がん試験 (DHPN のイニシエーション下でキシラジンの代わりに 2,6-キシリジンの発がん促進作用を調べた試験) では、鼻腔に腫瘍及び異形成病巣を示すような促進作用には少なくとも 0.05～0.20 µg/mL の 2,6-キシリジンが必要であったとしている。(参照 11) [11: B 参考資料 2-4]

② キシラジンの甲状腺発がん促進作用

キシラジンの甲状腺発がん促進作用について、以下の三つの試験を実施し、検討されている。

ラット（F344 系、雄）に DHPN を単回皮下投与（2,400 mg/kg 体重）してイニシエーションし、その投与 1 週間後からキシラジンを 52 週間混餌投与（0 及び 1,000 ppm）して、キシラジンの甲状腺発がん作用が調べられた。体重及び摂餌量を定期的に測定し、投与 53 週間後に甲状腺の病理組織学的検査を行った。

甲状腺増殖巣の発生状況を表 14 に示した。DHPN 単独投与群、キシラジン単独投与群及び DHPN＋キシラジン投与群において、濾胞上皮細胞過形成、腺腫及びがんが誘発され、DHPN＋キシラジン投与群の方が DHPN 単独投与群よりも有意に高かった。（参照 11）[11: B-参考資料 2-2-I]

表 14 ラットにおける DHPN の前投与又は無投与下のキシラジンの 52 週間混餌投与後の甲状腺増殖巣の発生状況

投与群	動物数	濾胞細胞過形成	濾胞細胞腺腫	濾胞細胞がん	濾胞細胞腺腫＋がん
対照	10	0 ¹⁾ 0 ²⁾	0 0	0 0	0 0
DHPN 単独	20	40 0.60±0.88	0 0	0 0	0 0
キシラジン単独	10	20 0.50±1.08	10 0.10±0.32	0 0	10 0.10±0.32
DHPN＋キシラジン	20	100 5.95±1.67 ³⁾	60 ⁴⁾ 0.80±0.77	25 ⁵⁾ 0.40±0.82	60 ⁴⁾ 1.20±1.36

1) 増殖性病巣の発症率 (%)

2) 増殖性病巣の平均±SD/ラット

3) Student の t 検定により DHPN 群と有意差有 ($p<0.01$)。

4) Fisher の正確検定により DHPN 群と有意差有 ($p<0.01$)。

5) Fisher の正確検定により DHPN 群と有意差有 ($p<0.05$)。

ラット（F344 系、雄 24 匹/投与群及び雄 18 匹/対照群）にキシラジンを 4 週間混餌投与（0 及び 1,000 ppm）投与し、投与開始 1、2 及び 4 週間後の血清中 T3、T4 及び TSH 濃度が放射免疫測定された。

投与群では、甲状腺の絶対及び比重量が有意に増加し、血清中 T4 濃度が全ての時点で有意に低下した（共に $p<0.01$ ）。T3 及び TSH 濃度は投与開始 1 週間後のみにそれぞれ有意に低下及び増加した。（参照 11）[11: B 参考資料 2-2-II]

ラット（F344 系、雄 10 匹/群）にキシラジンを 8 又は 15 日間混餌投与（0 及び 1,000 ppm）し、投与開始 7 及び 14 日間後の甲状腺重量、甲状腺におけるヨードの取込み量及びヨードのタンパク質結合率が調べられた。

いずれの時点の投与群の甲状腺重量は低下した。投与 2 週間後の甲状腺におけるヨード取り込み量及びヨードのタンパク質結合率は低下した。（参照 11）[11: B 参考資料 2-2-III]

③ キシラジンの甲状腺発がん促進作用の閾値について

ラット (F344 系、雄、10 匹/対照群・キシラジン単独群・DHPN 単独群、15 匹/DHPN +キシラジン投与群) に DHPN を単回皮下投与 (2,400 mg/kg 体重) してイニシエーションし、その投与 1 週間後からキシラジンを 26 週間混餌投与 (0、250、500 及び 1,000 ppm) して、キシラジンの甲状腺発がん促進作用の閾値が調べられた。臨床症状を毎日観察し、体重及び摂餌量を定期的に調べた。26 週間後の剖検時に採血し、甲状腺、下垂体及び肝臓について病理組織学的検査を行った。

血清中 T3 及び T4 濃度は、250 及び 1,000 ppm キシラジン単独投与群で低下したが ($p<0.05$)、TSH には顕著な変化はみられなかった。

甲状腺の絶対重量が 500 ppm 以上のキシラジン単独投与群及び 1,000 ppm の DHPN +キシラジン投与群で増加した ($p<0.05$)。比重量は DHPN のイニシエーションの有無にかかわらず、500 ppm 以上のキシラジン投与群で増加した ($p<0.05$)。肝臓の絶対重量及び比重量が、DHPN のイニシエーションの有無にかかわらず、1,000 ppm キシラジン投与群で増加した ($p<0.05$)。下垂体には重量の変化はみられなかった。

DHPN 単独群及び DHPN+キシラジン投与群において、病理組織学的に濾胞上皮細胞過形成及び腺腫が誘導されたが、発生率及び多様性は DHPN+キシラジン投与群 (キシラジン 500 ppm 以上) の方が DHPN 単独群より高かった ($p<0.01$)。

以上より、キシラジンの甲状腺発がん促進作用の閾値は 250~500 ppm ($14.2\pm9.2\sim27.5\pm11.6$ mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 11) [11: B 参考資料 2-1]

(参考) 2,6-キシリジンの 102 週間発がん性試験 (ラット)

ラット (COBS CD(SD)BR 系、雌雄各 56 匹/群) を用いた 2,6-キシリジン (純度 99.06 %) の混餌投与 (0、300、1,000 及び 3,000 ppm: 0、15、50 及び 150 mg/kg 体重/日に相当) による 102 週間発がん性試験が実施された。本試験に割り当てられた動物は、5 週齢から 2,6-キシリジンを混餌投与 (0、300、1,000 及び 3,000 ppm) した多世代試験の F1a 世代離乳児であった。

投与に関連した影響は、150 mg/kg 体重/日群の雌雄における平均体重増加量の低下 (10 %以上) であった。150 mg/kg 体重/日群の雄の死亡率は、対照群に比較して有意に増加した ($p<0.001$)。50 mg/kg 体重/日群の雄でも死亡率は増加した。105 週における雄の生存数は、対照群、15、50 及び 150 mg/kg 体重/日群でそれぞれ 43、40、33 及び 14 例であった。雌では、それぞれ 33、25、32 及び 24 例であった。

投与に関連した血液学的影響は、18 ヶ月目に 150 mg/kg 体重/日群の雄における RBC 及び Hb の低下であり、これらのパラメータの低下は 12 ヶ月目の 50 及び 150 mg/kg 体重/日群の雌にもみられた。これらの変化は貧血を示すほど重篤ではなかった。

病理組織学的検査では、150 mg/kg 体重/日群の雄に鼻腔がんの有意な増加が観察された (26/56 ; $p<0.001$ 、生命表試験(life table test))。雌の鼻腔がんの発生率は、対照群、15、50 及び 150 mg/kg 体重/日群でそれぞれ、0/56、0/56、1/56 及び 24/56 であった ($p<0.001$ 、生命表試験)。150 mg/kg 体重/日群の雄 2 例に腺がんが診断された。雄の乳頭状腺腫の発生率は、対照群、15、50 及び 150 mg/kg 体重/日群でそれぞれ、0/56、0/56、2/56 及び 10/56 であった ($p=0.001$ 、incidental tumor test)。雌では、鼻腔腺腫

が対照群、15、50 及び 150 mg/kg 体重/日群でそれぞれ、0/56、0/56、1/56 及び 6/56 ($p=0.02$ 、incidental tumor test) で発生した。150 mg/kg 体重/日群の雌 1 例に未分化肉腫、同投与群の雌雄各 2 例に横紋筋肉腫並びに雌雄各 1 例に腺がん及び横紋筋肉腫両方の特徴を有する悪性混合腫瘍がみられたが、これらの普通ではみられない鼻腔腫瘍もまた、投与によるものと考えられた。鼻腔の非腫瘍性病変としては、急性炎症（鼻炎）、上皮過形成及び扁平上皮化生が 150 mg/kg 体重/日群の雌雄に、対照群と比較して高頻度で認められた。雄では、皮下の線維腫及び線維肉腫の混合腫瘍の発生率は、対照群、15、50 及び 150 mg/kg 体重/日群でそれぞれ、0/56、2/56、2/56 及び 5/56 であった ($p=0.001$ 、life table test ; $p<0.001$ 、life table trend test)。雌では、この混合腫瘍の発生率はそれぞれ、1/56、2/56、2/56 及び 6/56 であった ($p=0.01$ 、life table trend test)。雌の肝臓では、腫瘍結節が有意な陽性傾向を示し、その発生率は対照群、15、50 及び 150 mg/kg 体重/日群でそれぞれ、0/56、1/56、2/56 及び 4/55 であった ($p=0.03$ 、incidental test ; $p=0.012$ 、incidental trend test)。(参照 7) [7: FAS38- 2.2.3.2]

本試験において、鼻腔腺腫及び鼻腔がんの有意な増加がみられたことから、2,6-キシリジンは CD ラットの雌雄にとって明らかに発がん性を有すると考えられた。更に、雌雄でみられた皮下線維腫及び線維肉腫の増加及び雌でみられた肝腫瘍結節の増加も投与に関連したものであると考えられた。

なお、国際がん研究機関 (IARC) は、ヒトに対する 2,6-キシリジンの発がん性リスクを評価している。2,6-キシリジンの発がん性について、ヒトにおける根拠は不十分であるが、実験動物では十分な根拠があると結論付け、2,6-キシリジンをグループ 2B (ヒトに発がん性の可能性を有する) に分類している。

7. 生殖発生毒性試験

二世世代繁殖毒性試験は実施されていない。発生毒性試験が以下の通り実施されている。

妊娠ラット (CD 系、雌各 22 匹/群) を用いたキシラジン塩酸塩の強制経口投与 (0、1、4 及び 16 mg/kg 体重) による器官形成期投与試験が実施された。投与は器官形成期 (妊娠 6~15 日) に行い、母動物を妊娠 20 日にと殺し、子宮内容物が調べられた。

16 mg/kg 体重/日群のみに眼瞼の部分的閉鎖及び活動低下 (underactivity) が頻繁に観察され、運動失調及び平伏姿勢 (flat posture) も散見された。また、母動物の増体量の軽度な低下、胎児の平均体重の低下がみられた。胎児の外表、内臓及び骨格検査に投与による影響はみられなかった。(参照 2、5、7) [2: B 社資料 B-123] [5: EMEA (1)-9] [7: FAS38- 2.2.4]

本試験において、16 mg/kg 体重/日群で母動物及び胎児への影響がみられたことから、NOAEL は 4 mg/kg 体重/日であると考えられた。催奇形性はみられなかった。

8. 一般薬理試験

(1) 一般薬理試験

① 鎮静作用

キシラジンの鎮静作用に関して、鎮静に達するのに必要な用量に顕著な種差がある。種々の動物に必要とされる用量を表 15 に示した。(参照 2、7) [2: B 社資料 B-100] [7: FAS38- 2.1.1]

動物種差は顕著で、牛が最も感受性が高く、馬、イヌ及びネコと同等の鎮静作用を得るのに必要な用量は約 1/10 であった。(参照 5、6) [5: EMEA (1)-1, 2] [6: EMEA (2)-1]

表 15 種々の動物におけるキシラジンの投与量

動物	キシラジン (mg/kg 体重)	
	静脈内	筋肉内
馬	0.5～1.1	1～2
牛	0.03～0.1*	0.1～0.2*
羊	0.05～0.1*	0.1～0.3*
山羊	0.01～0.5*	0.05～0.5*
豚		2～3
イヌ	0.5～1	1～2
ネコ	0.5～1	1～2
鳥		5～10

*用量範囲の下限は横臥に至らない鎮静が望まれる場合に用いられるものとする。

散瞳は、ネコにおけるキシラジン誘導性鎮静の特徴である。その作用機構は、キシラジンによる後シナプス α_2 受容体の活性化による虹彩の副交感性緊張に対する中枢性の抑制である。(参照 7) [7: FAS38- 2.1.1]

キシラジンを投与されたネコでは、体温調節制御が障害される。ネコは、キシラジンによる鎮静の作用中及び回復後に体温上昇及び体温下降に対してより感受性となる。子馬はキシラジンに対し体温下降反応を示す。牛に対する体温調節効果は変動的である。(参照 7) [7: FAS38- 2.1.1]

② 循環器系への影響

キシラジンの心・血管系作用は、心拍数低下及び血圧に対する種々の影響である。キシラジン誘導性不整脈は、馬に共通してみられ、洞房及び房室ブロックによるものである。不整脈は、イヌでも記録されたが、羊では誘起されなかった。心・血管系作用の誘導は、馬にキシラジンを硬膜外投与しても変化はみられないが、牛には同じ経路で投与すると心拍数及び動脈圧の低下が起きることから、投与経路により影響される可能性が考えられた。(参照 7) [7: FAS38- 2.1.1]

③ 呼吸器系への影響

キシラジンの呼吸、酸-塩基平衡及び血液ガスに対する作用は、動物種及び麻酔の組み合わせによって異なる。牛では、キシラジンは呼吸数の低下を引き起こし、pH 上昇及び代謝性アシドーシスを伴う。イヌでもキシラジンの投与により呼吸数は低下するが、動脈血の pH、pO₂ 又は pCO₂ はさほど影響されない。キシラジンの馬の呼吸数に対する作用については、一致した報告はなかった。山羊では、過呼吸がキシラジンに対する反応の特徴であり、羊では、キシラジンで誘導される低酸素血症が致命的となる。(参照 7) [7: FAS38- 2.1.1]

④ 血液生化学項目への影響

全ての対象動物種の成獣では、キシラジンにより高血糖症が誘導される。血中グルコース濃度の増加は、インスリン濃度の低下を伴う。馬の成獣では、高血糖症は糖尿を伴わない尿量増加を伴う。馬の胎児にキシラジンを投与しても高血糖症にはならなかった。キシラジンの高血糖作用は、膵臓 β 細胞の $\alpha 2$ アドレナリン受容体への直接作用によりインスリン分泌阻害を引き起こすためと考えられる。

0.2 mg/kg 体重のキシラジンの筋肉内投与により、山羊の成獣雌に血清生化学的項目及び脳脊髄液の変化が観察された。血清中の BUN、TP 及び Chol の有意な上昇がみられた。脳脊髄液のグルコース及び尿素窒素は有意に上昇し ($p < 0.01$)、塩素イオン濃度が有意に低下した ($p < 0.056$)。

牛及びイヌにおいて、RBC、Ht 及び Hb は、キシラジン投与により有意だが可逆的な低下を示した。(参照 7) [7: FAS38- 2.1.1]

⑤ 消化器系への影響

反芻動物における消化管への影響は、腸の運動性の低下、消化管通過時間の延長及び反芻胃の収縮抑制である。キシラジンは、結腸及び直腸の筋緊張を低下させ直腸診を容易にする。キシラジンによる胃収縮阻害は鼓張を引き起こし、キシラジンで鎮静された反芻動物における死の原因となる。反芻動物は、鎮静の前に絶食し、キシラジンで誘導される鼓張 (tympany) のリスクを低減するため、鎮静中は胸骨位を保たせる。キシラジンは嚥下障害も引き起こすため、キシラジンで鎮静された反芻動物は、唾液や胃液の吸飲を避けるため頭及び首を低くさせる。トラゾリン ($\alpha 2$ アドレナリン遮断剤) は、キシラジンによる牛の横臥、消化管不全麻痺及び自発的舌制御不良を戻す効果を示す。

イヌ及びネコにおける消化管への作用は、消化管通過時間の減少及び嘔吐である。嘔吐誘導の作用機構は、延髄の最後野 (嘔吐に対する化学受容器トリガー領域) に存在する $\alpha 2$ アドレナリン受容体に対するキシラジンの作用によるものであると考えられる。(参照 7) [7: FAS38- 2.1.1]

(2) 忍容性試験 (イヌ、牛及び馬)

キシラジンの推奨用量 (牛) 又は最大推奨用量の 2~3 倍量 (イヌ、馬) を 1~6 週間間隔 (イヌは 2 年まで) の反復静脈内又は筋肉内投与による忍容性試験が実施された。

これらの試験は、試験計画、動物数、投与量、試験パラメータ及び報告に関して十分なものではない。一時的な鎮静及び鎮痛を除き、キシラジンとケタミンの混合投与によるイヌの一時的な軽度のでんかん様痙攣、牛の摂餌量及び反芻活動の低下並びに馬の血液凝固時間の増加が唯一報告された影響であった。(参照 5) [5: EMEA (1)-8]

イヌにおける忍容性がキシラジン 2 mg/kg 体重を隔週で 2 年間筋肉内投与することで検討された。本試験は歯科学的研究の一環として実施されたもので、ケタミン (5.5 mg/kg 体重) も併用された。

投与の結果、4/17 例に一過性及び軽度の痙攣様発作が認められたのみであった。(参照 2) [2: B 社資料 B-110]

9. ヒトにおける知見

キシラジンはヒト用医薬品として認可されていないが、ヒトにおける投与事例が報告されている。表 16 に投与事例報告をまとめた。(参照 2、5、7)

表 16 ヒトにおける投与事例報告

年齢・性別等	投与量	症状	転帰
34 歳男性	100 mg/mL 溶液を 10 mL (推定量 15 mg/kg 体重)、筋肉内投与	深い昏睡、無呼吸、反射消失状態、血圧 120/70 mmHg、心拍数 60 bpm、LDH 上昇、CPK 上昇 (5~7 日間持続)、血漿血糖値上昇。リドカイン静脈内投与により多発性心室性期外収縮の進行が介在する静脈性頻脈。入院 17 日後に退院。	生存 (参照 2、7) [2: B-131] [7: FAS38- 2.3]
20 歳女性	400 mg	傾眠、失禁 (尿)、心拍数の減少、中枢神経系及び呼吸系の抑制、一過性の高血糖、心室性不整脈。心筋性障害は示さず。	生存 (参照 2、7) [2: B-132] [7: FAS38- 2.3]
36 歳男性	100 mg/mL を 40 mL。アルコール及びクロラゼペートとともに服用。	血液、脳、腎臓、肝臓、肺、脂肪及び尿中からそれぞれ、0.2、0.4、0.6、0.9、1.1、0.05 及び 7 ppm の濃度でキシラジンが検出された。	死亡 (参照 2、7) [2: B-133] [7: FAS38- 2.3]
29 歳女性	40 mg (推定量 0.7 mg/kg 体重)、筋肉内投与	定位反応消失、縮瞳、低血圧、徐脈等を示し、心不整脈はみられなかった。	生存 (参照 2、7) [2: B-134] [7: FAS38- 2.3]
37 歳女性	2,400 mg (推定量 22 mg/kg 体重)	低血圧、徐脈、無呼吸。心不整脈は観察されなかった。	生存 (参照 2、7) [2: B-134] [7: FAS38- 2.3]

29 歳女性	量不明、 静脈内投与	無呼吸。投与 24 時間後に低血圧、徐脈。 入院 18 時間後に自発呼吸を取り戻した。	生存 (参照 2、7) [2: B-134] [7: FAS38- 2.3]
19 歳男性	100 mg/mL を 2 mL (3 mg/kg 体 重)、皮下投与	縮瞳、反射減弱、低血圧、徐脈、呼吸及 び中枢神経系の抑制、高血糖	生存 (参照 2、7) [2: B-137] [7: FAS38- 2.3]
39 歳女性	不明	疲労、脱力、視力障害、徐脈、尿及び血 清中にキシラジンがそれぞれ 1,674 及 び 30 µg/L 検出された。	不明 (参照 7) [7: FAS38- 2.3]
本態性高血圧 症 (essential hypertonia) の患者 6 名	10~20 mg/ヒト (0.17~0.3 mg/kg 体重相当)、 単回経口投与	血圧及び心拍数の低下	— (参照 5) [5: EMEA (1)-13]
健常ボランテ ィア	0.27 又は 0.68 mg/kg 体重を単回 静脈内投与、又は 0.54 mg/kg 体重を 単回経口投与	鎮静、筋弛緩及び鎮痛が誘起された。 血圧及び心拍数が数時間顕著に抑制さ れた。	— (参照 5) [5: EMEA (1)-13]

10. その他の知見

(1) 免疫毒性試験 (イヌ及び馬)

キシラジンの免疫学的特性に関する特別な試験は行われていない。イヌを用いた経口反復投与試験において、43 mg/kg 体重までの投与量で免疫毒性影響の兆候 (胸腺のリンパ萎縮等) は観察されなかった。馬では、1.1 mg/kg 体重の静脈内投与で血清 γ グロブリンレベルに変化はなかった。しかしながら、イヌにおいて 0.1~0.3 mg/kg 体重までの筋肉内投与では、予想しなかった皮下の肥満細胞の脱顆粒が観察された。

キシラジンの感作能に関しては評価されなかった。(参照 5) [5: EMEA (1)-12]

(参考) 2,6-キシリジンのメトヘモグロビン及びヘモグロビン付加体形成に関する試験

① ネコ及びイヌ

ネコ及びイヌ (動物数不明) に 2,6-キシリジン (30 mg/kg 体重、静脈内) 又は N-アセチル-2,6-キシリジン (164 mg/kg 体重、経口) が投与された。2,6-キシリジンは 10 % の、N-アセチル-2,6-キシリジンは 5 % のネコにメトヘモグロビン血症を誘起した。本試験では、イヌにおけるヘモグロビンへの影響はみられなかった。

成ネコ 5 匹に 2,6-キシリジンが静脈内投与 (30 mg/kg 体重) された。投与 1、2、3、4 及び 5 時間後に採血し、この採血期間の平均メトヘモグロビン濃度は 7 % (4.8~8.7 % の範囲) であった。投与前のネコ 152 例の平均メトヘモグロビン濃度は約 1 % であった。

(参照 7) [7: FAS38- 2.2.6.1]

② ヒト患者

局所麻酔（1 mg/kg 体重）又は心不整脈（～50 mg/kg 体重、静脈内投与）のためにリドカイン治療を受けた患者では、2,6-キシリジン-ヘモグロビン付加体濃度が上昇することが知られている。2,6-キシリジン-ヘモグロビン付加体はまた、リドカイン暴露が不明の患者にもみられる。これは赤血球の寿命が 120 日であること及びタバコの煙のような芳香族アミンに対する環境的な又は医原性の慢性的暴露によるものである。みられた 2,6-キシリジン-ヘモグロビン付加体濃度は、推定上の 1 日暴露（医原性及び環境由来）である 23 µg に相当した。

心疾患患者 40 人について、リドカインの静脈内投与によって誘起されたメトヘモグロビン血症が調べられた。投与は、1 mg/kg 体重の静脈内ボラス投与とその 15 分後に 0.5 mg/kg 体重の静脈内ボラス投与を行った。ボラス投与ではリドカインを 1～4 mg/分の速度で注入した。投与前、投与 1 及び 6 時間後に採血した。これらの患者のメトヘモグロビン濃度が有意に上昇していたが、その増加は臨床上さほど高くないものであった。最高メトヘモグロビン濃度は約 1.2 %に達した。本試験では、投与患者に観察されたメトヘモグロビンレベルの上昇における 2,6-キシリジン代謝物の役割については言及されなかった。（参照 7） [7: FAS38- 2. 2. 6. 2]

Ⅲ. 食品健康影響評価

1. 各国際機関における評価

（1）JECFA の評価

JECFA は、遺伝毒性発がん物質である 2,6-キシリジンがキシラジンの代謝物であると結論付け、キシラジンの ADI は設定できないとした。（参照 7） [7: FAS38- 4]

（2）EMA の評価

EMA では、利用可能な薬理及び毒性試験があまりにも限られていたため、薬理的又は毒性学的 ADI は設定できなかったとしている。キシラジンの薬理的影響は、最も感受性の高い動物種である牛において、16 µg/kg 体重という経口投与量でみられたと報告された。ヒトでは、最初の薬理的影響が 170 µg/kg 体重の経口投与量で誘起され、最初の急性毒性影響が 700 µg/kg 体重の経口投与量で生じた。（参照 6） [6: EMA (2)-1]

また、残留基準値に関しては、EMA は以下の事項を考慮し、MRL を設定していない。（参照 6） [6: EMA (2)-conclusion]

- ・キシラジンは、不定期に少数の個々の動物に使用される。
- ・投与動物は、投与中又は直後にと場に送られる可能性は低い。
- ・牛組織及び乳汁中のキシラジンは、非常に速やかに広範に代謝され、また非常に速やかに排泄される。
- ・牛組織及び乳汁中のキシラジンは非常に速やかに消失し、牛由来の食品中の残留物は、投与後初日の時点で既に消費者が懸念する可能性のある量を十分に下回る。
- ・2,6-キシリジンは牛の尿、組織及び乳汁中にみられず、チアジン環及びフェニル環の開裂又はチアジン環の分解に由来する代謝物は牛の組織及び乳汁中に存在しない。

- 1 2. 毒性学的影響について
- 2 (方向性確認後に記載予定。)
- 3
- 4
- 5

1 表 17 各種試験におけるキシラジン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)	
			JECFA	EMEA
ラット	32 週間亜急性毒性	0、50、100、250、500 ppm (雄：0、3、6、21、41、雌：0、4、8、19、45)、混餌投与	NOEL 6 19 mg/kg 体重以上 投与群の雌で体重の 用量依存的な低下	NOEL 設定できず。 注) 投与量の換算値が異なり、 雌雄で0、4、7、20、43mg/kg 体重としている。
	発生毒性	0、1、4、16、 強制経口投与 (妊娠 6 ～15 日)	NOAEL 4 母動物：眼瞼閉鎖、 活動低下、体重低下、 胎児：重量低下 催奇形性なし	NOEL 4 母動物：眼瞼部分的 閉鎖、活動低下、体 重の著しい低下 胎児：重量低下
イヌ	13 週間亜急性毒性	0、10、30、100 ppm (0、0.3、0.9、3)、 混餌投与	NOEL 3 有害事象なし。	NOEL 設定できず。
	14～16 週間 亜急性毒性	25、50、100 (5 日/週)、 経口投与	NOEL 設定できず。	NOEL 設定できず。
毒性学的 ADI			—	—
毒性学的 ADI 設定根拠資料			—	—
ADI			2,6-キシリジン残留 により ADI 設定でき ず。	ADI 設定できず。

2

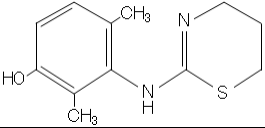
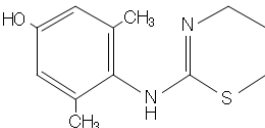
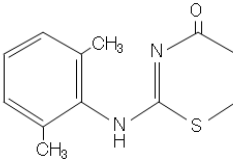
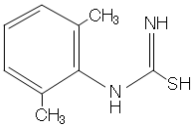
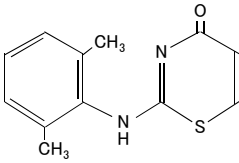
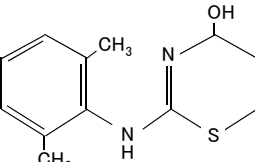
3

4 表 18 各種試験における 2,6-キシリジン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)
			JECFA
ラット	2 週間亜急性 毒性	0、80、160、310、620、 1,250 (5 日/週)、強制 経口投与	NOAEL 80 体重低下
	13 週間亜急性 毒性	0、20、40、80、160、 310 (5 日/週)、強制経 口投与)	NOAEL 20 体重低下、血液学的変化
	102 週間発 がん性	0、15、50、150、 混餌投与	IARC 2B に分類 鼻腔腺腫及びがんの増加
毒性学的 ADI			—
毒性学的 ADI 設定根拠資料			—
ADI			設定できず。 IARC 2B に分類

5

1 〈別紙 1 代謝物一覧〉

名称	分子量	構造式
代謝物 A	236	2-(3'-hydroxy-2',6'-dimethylphenylamino)-5,6-dihydro-4 <i>H</i> -1,3-thiazine 
代謝物 B	236	2-(4'-hydroxy-2',6'-dimethylphenylamino)-5,6-dihydro-4 <i>H</i> -1,3-thiazine 
代謝物 C	234	2-(2',6'-dimethylphenylamino)-4-oxo-5,6-dihydro-1,3-thiazine 
代謝物 D	180	<i>N</i> -(2,6-dimethylphenyl)thiourea 
代謝物 E		
代謝物 F		
代謝物 G		
代謝物 H		
代謝物 I		
代謝物 J	232	2-(2',6'-dimethylphenylamino)-4-oxo-5,6-dehydro-1,3-thiazine 
代謝物 K	236	2-(2',6'-dimethylphenylamino)-4-hydroxy-5,6-dihydro-1,3-thiazine 

(参照 2、5～8)

1 〈別紙2 検査値等略称〉

略称	名称
ADI	一日摂取許容量
BUN	血液尿素窒素
Chol	コレステロール
CHO 細胞	チャイニーズハムスター卵巣由来細胞株
C _{max}	最高濃度
CPK	クレアチニンホスホキナーゼ
EMA	欧州医薬品庁（現：欧州医薬品審査庁（European Medical Agency））
GC/MS	ガスクロマトグラフィー/質量分析法
GLP	優良試験所基準
Hb	ヘモグロビン濃度
HPLC	高速液体クロマトグラフィー
HPLC/MS	高速液体クロマトグラフィー/質量分析法
Ht	ヘマトクリット値
JECFA	FAO/WHO 合同食品添加物専門家委員会
IARC	国際がん研究機関
LC/MS	液体クロマトグラフィー/質量分析法
LC/MS/MS	液体クロマトグラフィー/タンデム質量分析法
LD ₅₀	半数致死量
LDH	乳酸脱水素酵素
MRL	最大残留限度
NOAEL	無毒性量
NOEL	最大無作用量
pO ₂	酸素分圧
pCO ₂	二酸化炭素分圧
RBC	赤血球数
T _{1/2}	半減期
<u>T_{1/2α}</u>	<u>半減期（分布相）</u>
<u>T_{1/2β}</u>	<u>消失半減期（消失相）</u>
<u>T_{1/2ka}</u>	<u>薬物吸収半減期</u>
TLC	薄層クロマトグラフィー
TP	総タンパク質
WBC	白血球数

2

3

〈参照〉

1. 食品、添加物等の規格基準（昭和 34 年厚生省告示第 370 号）の一部を改正する件（平成 17 年 11 月 29 日付、厚生労働省告示第 499 号）
2. バイエルメディカル株式会社. 食品健康影響評価に関する資料（キシラジン）（非公開資料） B 社資料
3. The Merck Index, 14th Ed., 2006
4. 動物医薬品検査所. 動物用医薬品等データベース NVAL HP DB
http://www.nval.go.jp/asp/asp_dbDR_idx.asp
5. EMEA: Xylazine: Committee for Veterinary Medicinal Products, Summary Report (1), 1999 EMEA (1) <http://www.ema.europa.eu/pdfs/vet/mrls/061199en.pdf>
6. EMEA: Xylazine: Committee for Veterinary Medicinal Products, Summary Report (2), 2002 EMEA (2) <http://www.ema.europa.eu/pdfs/vet/mrls/083602en.pdf>
7. JECFA: Toxicological evaluation of certain veterinary drug residues in food. WHO Food Additives Series, No. 38, 1996, nos 875 on INCHEM. FAS38
<http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v38je03.htm>
8. JECFA: Evaluation of certain veterinary drug residues in food (Forty-seventh report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives). WHO Technical Report Series, No. 876, 1998. TRS876
http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_876.pdf
9. Spyridaki MH, Lyris E, Georgoulakis I, Kouretas D, Konstantinidou M, Georgakopoulos CG: Determination of xylazine and its metabolites by GC-MS in equine urine for doping analysis. J. Pharmaceu. Biomed. Anal. 2004; 35: 107-116
 文献 1
10. バイエルメディカル株式会社. キシラジン参考文献－1－（非公開資料） B 参考資料 1
11. バイエルメディカル株式会社. キシラジン参考文献－2－（非公開資料） B 参考資料 2