

## 遺伝毒性について

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10

## 1. 概要

クロルマジノン酢酸エステル（CMA）の遺伝毒性について、陽性となっている試験が多く存在するため、陽性となった原因を考察することにより、生体にとって問題となる遺伝毒性はないと判断できるか、検討が必要。なお、EMEA は「他のプロゲスターゲンと同様に遺伝毒性はない」と判断しているが、詳細な理由は不明（参照 3）。

## 2. 遺伝毒性試験概要

入手している遺伝毒性試験の概要は以下の通り。

試験	対象	用量	結果	備考
<i>in vitro</i>				
復帰突然変異試験	<i>Salmonella typhimurium</i> 5 菌株	— (±S9)	陰性 (参照 3)	EMEA -8
	<i>S. typhimurium</i> TA98、TA100、TA1535、TA1537	0、100、1,000、10,000 µg/plate (±S9)	陰性 (参照 16)	補足資料 28
	<i>S. typhimurium</i> TA100、TA1535、TA1537、TA1538	~1,000 µg/plate (±S9)	陰性 (参照 17)	IARC : Monograph vol72 p.273 (Dayan, et al., 1980)
染色体異常試験	ヒトリンパ球	~100 µg/mL (-S9)	陰性 (参照 17)	IARC : Monograph vol72 p.273 (Stenchever et al., 1969)
染色体異常試験及び姉妹染色分体交換試験	ヒトリンパ球	CMA 単独を 4.0、8.1、12.1、16.2 µg/mL (10、20、30、40 µM) 48 時間培養	陽性 (参照 18)	Sddique & Afzal (2004)
		CMA 16.2 µg/mL (40 µM) と同時に SOD 及び CAT を単独又は併用投与 (10、20 µg/mL) 48 時間培養	異常細胞及び SCEs/cell は CMA 単独より、SOD 単独の場合増加、CAT 単独及び SOD と CAT 併用の場合	

			減少	
DNA 付加体 試験	ラット肝細胞	—	陽性 (参照 3)	EMEA -8
	Wistar 系ラット (雌雄) 肝細胞	0.12、0.4、1.2、 4.0、12.1 µg/mL (- S9) (0.3、1、3、10、30 µM)	雌：陽性 雄：弱陽性 (参照 17, 19)	IARC : Monograph vol72 p.272,273 (Topinka et al., 1995)
	ヒト肝細胞	—	陽性 (参照 3)	EMEA -8 (Werner et al.,1997)
不定期 DNA 合成 試験	ラット肝細胞	—	陰性 (参照 3)	EMEA -8
	ラット (雌雄) 肝細胞	0.81、2.0、4.0、8.1 µg/mL (2、5、10、20 µM)	雌：陽性 雄：陰性 (参照 17, 20)	IARC : Monograph vol72 p.272,273 (Martelli et al., 1996a)
	ヒト肝細胞	—	陰性 (参照 3)	EMEA -8
	ヒト (男女) の 肝細胞	0.81、2.0、4.0、 8.1、20.2 µg/mL (2、5、10、20、50 µM)	陽性 (参照 17, 20)	IARC : Monograph vol72 p.272,273 (Martelli et al., 1996a)
DNA 修復試験	ラット (雌雄) 肝細胞	0.81~20.2 µg/mL (2~50 µM)	陰性 (参照 17, 19)	IARC : Monograph vol72 p.272,273 (Topinka et al., 1995)
<i>in vivo</i>				
細胞発生試 験 cytogenesis assay	ヒトリンパ球	—	陰性 (参照 3)	EMEA -8
小核試験	ラット肝細胞	— (単回投与)	陽性 (参照 3)	EMEA -8
	SD 系ラット (雌) 肝細胞	100 mg/kg 体重、単 回経口投与	陽性 (参照 17, 21)	IARC : Monograph vol72 p.272,273 (Martelli et al., 1996b)
染色体 異常試験	ICR 系雄マウス 骨髓細胞	0、200、1,000 mg/kg 体重/日、1 回 又は 5 日間連続強制 経口投与 <sup>a</sup>	陰性 (参照 16)	補足資料 28
	Wistar 系雄ラッ ト骨髓細胞	0、1,000 mg/kg 体重 /日、1 回又は 5 日間 連続強制経口投与 <sup>a</sup>	陰性 (参照 16)	補足資料 28
	スイスマウス	0、5.62、11.25、	陽性	Siddique YH &

	(雌) 骨髄細胞	22.50 mg/kg 体重、 単回腹腔内投与	(参照 22)	Afzal M : Toxicol Lett. 2004
姉妹染色分 体交換試験	スイスマウス (雌) 骨髄細胞	0、5.62、11.25、 22.50 mg/kg 体重、 単回腹腔内投与	陽性 (参照 22)	Siddique YH & Afzal M : Toxicol Lett. 2004
DNA 付加体 試験	ラット (雌) 肝 細胞	100 mg/kg 体重、単 回投与	陰性 (参照 17, 19)	IARC : Monograph vol72 p.272,273 (Topinka et al., 1995)
優性致死 試験	ICR 系雌雄マウ ス	0、200、1,000 mg/kg 体重/日 <sup>b</sup> 、強 制経口投与	陰性 (参照 16)	補足資料 28
形質転換 試験	ラット肝細胞	100 mg/kg 体重/日、 6 回経口投与	陰性 (参照 17)	IARC : Monograph vol72 p.273 (Martelli et al., 1996b)

1 - : 不明

2 SOD : superoxide dismutase、CAT : catalase

3 a : 1 回投与は投与 24 時間後、5 日間投与は最終投与 6 時間後に骨髄細胞を採取

4 b : 200 mg/kg 体重/日は 1 回又は 5 日間、1,000 mg/kg 体重/日は 1 回

5  
6 CMA は、*in vitro* ではラット及びヒトの肝細胞を用いた DNA 付加体試験及び不定期 DNA  
7 合成試験で、*in vivo* では経口投与によるラット肝小核試験並びに腹腔内投与でのマウスの  
8 骨髄細胞を用いた染色体異常試験及び姉妹染色分体交換試験で陽性を示した。一方、細菌を  
9 用いた復帰突然変異試験では陰性が確認されており、*in vivo* では経口投与によるマウス及  
10 びラット骨髄細胞の染色体異常試験やラット肝細胞の DNA 付加体試験においていずれも  
11 陰性結果が得られている。

12 CMA は、そのステロイド骨格の C-6, -7 位間に二重結合を有しており代謝の過程で生じ  
13 る活性酸素種が DNA 損傷性に関与していると推察されている。また、*in vitro* で CMA を  
14 処理したヒトリンパ球における染色体異常及び姉妹染色分体交換の発生頻度は、カタラーゼ  
15 単独あるいは SOD とカタラーゼの同時添加により低下することが報告されている (参照 18、  
16 23)。したがって、前述の陽性結果は CMA の代謝の過程で発生する活性酸素による間接的  
17 な影響と考えた。

18 以上のことから、食品安全委員会動物用医薬品専門調査会は、CMA は生体にとって問題  
19 となる遺伝毒性はないと考えた。

21 【寺岡専門委員】

22 復帰突然変異試験は陰性ですので明らかに DNA に直接影響があるとは断定できないので  
23 はないでしょうか。ただ、*In vivo* では陰性ながら、*In vitro* の DNA 付加体試験が陽性と判  
24 定されています。この程度の付加体形成を問題とすべきかどうかですが、EMEA は問題な  
25 いと判断しています。資料 3\_遺伝毒性検討で説明されている活性酸素の介在で不定期 DNA

1 合成試験の陽性は説明できるかもしれませんが、付加体形成につながるのでしょうか？ま  
2 た、活性酸素が介在していれば閾値が存在すると考えられているかを含めて、遺伝毒性の先  
3 生方のご意見をいただきたいです。

4  
5 **【小川専門委員】**

6 バッテリー試験としては、陽性があるように拝察しますが、*in vivo* の変異原性はデータが  
7 ないと言うところかと思えます。生体への影響や閾値設定の可否につきましては、御専門の  
8 先生にお任せしたいと思えます。

9  
10 **【齋藤専門委員】**

11 (遺伝毒性の先生方に意見を伺いたいと思えますが)、CMAには直接的な変異原性はなく、  
12 代謝過程で生成される活性酸素種がDNA損傷や染色体異常を引き起こし、それらはカタラ  
13 ーゼ/SOD添加で低下しますが、*in vivo* ラット肝細胞や*in vivo* マウス骨髄細胞(雌)で小  
14 核や染色体が陽性となっていることが気になります。代謝過程の活性酸素種の生成量が臓器  
15 (肝臓)や性差(雌)の影響を受けるのではないのでしょうか？

16  
17 **【赤沼専門委員】**

- 18 ・CMAによる遺伝毒性は代謝の過程で発生する活性酸素種によるものとみられます。一般  
19 的に、*in vivo* では哺乳動物組織は、培養中の細胞よりも優れた抗酸化防御を示す可能性  
20 が高く、活性酸素種の生成を介して遺伝毒性を誘発する化学物質は、DNAに直接酸化損  
21 傷を与えるが、その作用には閾値があると予想されます(Kirkland et al., *Mutagenesis*  
22 22, 161-75 (2007))。また*in vivo* の明らかな陽性結果は腹腔内投与によるものであり、  
23 経口投与では弱い陽性または陰性でした。以上のことから、CMAは生体にとって問題と  
24 なる遺伝毒性はないと考えました。
- 25 ・遺伝毒性試験及びそのまとめの文章の評価書への記載案(注には詳細を記載しましたが、  
26 評価書への記載は必要ないと思えます)

27  
28 **【事務局】**

29 赤沼専門委員からいただいた記載案(机上配布資料5)について、ご確認・ご審議をお願い  
30 します。審議結果を踏まえて修正した案を、次回以降、評価書案に記載します。

- 1 <参照>
- 2 3. EMEA: CHLORMADINONE. Committee for Veterinary Medicinal Products.  
3 Summary Report, 2000
- 4 16. 鈴木稔、堀内敏、山本敏之、増田修治、渡辺和夫、美濃屋雅宏、松村浩子 : Chlormadinone  
5 acetate の突然変異性に関する考察 1976 年
- 6 17. IARC: IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to humans, Vol. 72,  
7 Hormonal Contraception and Post-Menopausal Hormonal Therapy, 1999.
- 8 18. Siddique Y.H., Afzal M. Induction of chromosomal aberrations and sister chromatid  
9 exchanges by chlormadinone acetate in human lymphocytes: A possible role of  
10 reactive oxygen species. Indian Journal of Experimental Biology. 2004; Vol. 42 1078-  
11 1083
- 12 19. Topinka J., Binkova B., Zhu H.K., Andrae U., Neumann I., Schwarz L.R., Werner S.  
13 and Wolff T. DNA-damaging activity of the cyproterone acetate analogues  
14 chlormadinone acetate and megestrol acetate in rat liver. Carcino-genesis 1995; vol.16  
15 (7): 1483-1487
- 16 20. Matelli A., Mattioli F., Ghia M., Mereto E. and Brambilla G. Comparative study of  
17 DNA repair induced by cyproterone acetate, chlormadinone acetate and megestrol  
18 acetate in primary cultures of human and rat hepatocytes. Carcinogenesis 1996;  
19 vol.17 (5): 1153-1156
- 20 21. Matelli A., Campart G.B., Ghia M., Allavena A., Mereto E. and Brambilla G.  
21 Induction of micronuclei and initiation of enzyme-altered foci in the liver of female  
22 rats treated with cyproterone acetate, chlormadinone acetate or megestrol acetate.  
23 Carcinogenesis 1996; vol.17 (3): 551-554
- 24 22. Siddique Y.H., Afzal M. Evaluation of genotoxic potential of synthetic progestin  
25 chlormadinone acetate. Toxicology Letters 2004; 153: 221-225
- 26 23. Siddique Y.H., Afzai M. A Review on the Genotoxic Effects of Some Synthetic  
27 Progestins. 2008; International Journal of Pharmacology 4 (6): 410-430
- 28 A. Schweinfurth H, Reimann R. Letter to the Editor: Are some progestins genotoxic  
29 liver carcinogens? Mutation Res 566:263-265 (2004)