



府 食 第 1 1 6 0 号
平成 1 6 年 1 1 月 2 日

食品安全委員会
委員長 寺田 雅昭 殿

動物用医薬品専門調査会
座長 三森 国敏

塩酸ラクトパミンの食品健康影響評価について

平成 16 年 4 月 16 日付け厚生労働省発食安第 0416006 号をもって厚生労働大臣から、食品安全委員会委員長に意見を求められた塩酸ラクトパミンの食品健康影響評価について、当専門調査会において審議を行った結果は別添のとおりですので報告します。

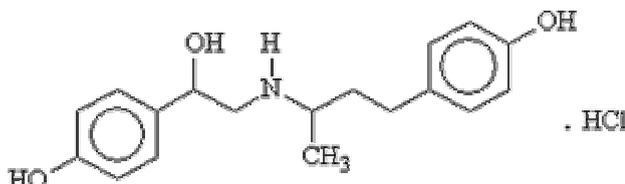
(別添)

塩酸ラクトパミンの食品健康影響評価について

1. 薬剤の概要

(1) 物質名^{(1),(2)}

塩酸ラクトパミン (Ractopamine Hydrochloride)



分子式 : $C_{18}H_{23}NO_3 \cdot HCl$
分子量 : 337.85 (塩酸塩)
常温における性状 : 白色から淡黄白色の固体
融点 : 163.9-164.6°C
溶解度 : 31.0 g/L(pH7)
蒸気圧 : nonvolatile

(2) 効能・効果^{(1),(3),(4)}

塩酸ラクトパミンはフェネタノールアミンの塩で、生体内で β -アドレナリンアゴニスト(β -作動薬)として作用し、様々な効果を及ぼす。動物用には、ウシ、もしくはブタの仕上げ期に所定の濃度で飼料添加投与して用いられ、効能・効果は増体重、飼料効率の改善、赤身肉割合の向上である。ブタに対しては、少なくとも 16%の粗蛋白質を含んだ飼料に 5-20ppm(4.5-18g/ton)を体重 68-109kg の間⁽³⁾、ウシに対しては、飼料に 10-30ppm(9.0-27.0g/ton; 100%ドライマターベース)を 28 ~ 42 日前から出荷直前まで給与、さらに赤身割合向上を目的とする場合は 12-30ppm(10.8-27.0g/ton)を同様に給与する⁽⁴⁾とされている。

(3) その他

エピネフリン(アドレナリン)やノルエピネフリン(ノルアドレナリン)はアドレナリン受容体を通じて各種の自律神経系器官に様々な影響を及ぼす。アドレナリン受容体は大きく α と β に大別され、さらにそれぞれにサブタイプが存在することが知られている。各器官における反応の違いにはアドレナリン受容体の種類と分布が関与している。現在 β -受容体には β_1 、 β_2 、 β_3 の3つの分子種が確認されており、これらに対する親和性と用量によって薬効は異なる。例えば、ヒトでは気管支をはじめ多くの部位でアドレナリン受容体は β_2 が優性であるが、心臓や腎臓の一部では β_1 が優性である⁽⁵⁾。

ラクトパミンのレセプターへの結合性については、いくつかの報告がある。Isoprenaline、Salbutamol、Ritodrine、ラクトパミンの EC_{50} を測定した試験では、モルモット心房(β_1)におけるそれぞれの $EC_{50}(M)$ は順に、 8×10^{-9} 、 1×10^{-5} 、 1×10^{-5} 、 1×10^{-7} 、モルモット気管支(β_2)では 3×10^{-8} 、 3×10^{-8} 、 2×10^{-6} 、 3×10^{-7} 、ラットの子宮平滑筋(costo-uterine)(β_2)では 6×10^{-10} 、 1×10^{-8} 、 6×10^{-7} 、 5.5×10^{-8} であった。ラット心臓(β_1 が優性)と肺(β_2 が優性)の粗膜画分への結合性比較においては、心臓でより強い結合が認められた。生理作

用的な観点からは 2 を介するとされる作用が、他の β -作動薬と比較して弱いとされている^{(6),(7)}。

一方、近年になってラクトパミンの受容体親和性及び作用機作について生化学・分子生物学的な手法を用いた研究が報告されている。

塩酸ラクトパミンは2つの不斉炭素を有しており、理論上4種のステレオアイソマー(RR、SR、RS、SS)が存在する。製剤はこれら4種の混合物である。ブタからクローニングされた 1 及び 2 をチャイニーズハムスター卵細胞で発現させた試験系を用いて、これらアイソマーのレセプター親和性が検討された⁽⁸⁾。最も高い親和性を示したラクトパミンのアイソマーはRRで、チャイニーズハムスター卵細胞に発現させたブタ 1 、 2 に高親和性の結合が認められた。一方、cAMP合成酵素の活性化は 2 を介してより効率よく認められた。他のアイソマーでは、 1 および 2 への親和性はいずれもRS、SR、SSの順で高かった。cAMP合成酵素の活性化はRRとSRで 2 を介してのみ認められた。この活性化の度合いはRRよりSRが低かった。一方、RRの脂肪細胞での脂肪分解活性は 1 および 2 のいずれの受容体も介していた⁽⁹⁾。また、本論文では 2 発現系より弱い、 1 発現系でもRRによるcAMP合成酵素の活性化が起こることから、RRが 1 の部分的作動薬であるとしており、同一著者の論文間での矛盾が認められた。

これらから、ラクトパミンのステレオアイソマーのうち機能的アイソマーはRRであり、その 1 および 2 受容体への親和性は同等であるものの、シグナル伝達は 2 でより効率的であるとしている⁽⁹⁾。アイソマーの機能については、ラットにおける混餌投与試験においてもRRが脂肪の減少や増体重といった効果に対して最も効率的に作用している⁽¹⁰⁾。

In vitro の所見のなかで矛盾するところもあり、*in vitro* における所見が *in vivo* における反応を完全に再現しているとは限らないが、現時点における知見では、ラクトパミンのRR体は 2 に対する「完全な」作動薬であり、 1 に対しては「部分的」作動薬である可能性が高いと推定される。

塩酸ラクトパミンは米国で1999年にブタ用に承認されて以後、米国、オーストラリアを初め約20カ国で使用されている。牛用への適用についても2003年に米国で承認され、使用が開始されている。一方、EUでは β -作動薬を成長促進の目的で使用することを認めていない。また、我が国においては使用されていない。

2. 毒性試験の概要

2-1. 吸収・分布・代謝・排泄

(1) 吸収・排泄

塩酸ラクトパミンは経口投与後速やかに排泄され、主要な排泄経路は尿中であった。

【ラットにおける経口投与試験】⁽¹¹⁾

F344/N Hsd BRラットを用いた¹⁴C-標識ラクトパミンの単回経口投与(0.5、2.0、20.0mg/kg体重)における、 C_{max} 、 T_{max} 、 $T_{1/2}$ は次の通りであった。

雄の全血中濃度は投与開始直後の測定(0.5時間)で最も高く、その時の C_{max} は用量順に0.12、0.47、3.85 μ g-eq/Lであった。 $T_{1/2}$ (相)は2.0mgで6.5時間、20.0mgで14.4時間であった。0.5mgの投与では6時間目以降検出限界未満(0.01 μ g-eq/L)になったため $T_{1/2}$ は求められなかった。

一方、雌の全血中濃度の T_{max} は投与量順に0.5、0.5、2.0時間、その時の C_{max} は0.16、0.81、9.02 μ g-eq/L、 $T_{1/2}$ (相)は2.0mg、20.0mgのいずれも7.5時間であった。

【イヌにおける経口投与試験】

ビーグル犬を用いた ^{14}C -標識ラクトパミンの単回経口投与(0.05,0.5,5.0mg/kg 体重)における、全血中の C_{\max} 、 T_{\max} 、 $T_{1/2}$ は次の通りであった。

雄の T_{\max} は投与量順に 1-2、2、2 時間、その時の C_{\max} は 0.02、0.38、0.58 $\mu\text{g-eq/L}$ 、 $T_{1/2}$ (相)は 0.5mg で 4.0 時間、5.0mg で 6.1 時間であった。

一方、雌の T_{\max} は投与量順に 0.5-2、0.5-1、4-8 時間、その時の C_{\max} は 0.02、0.26、0.27 $\mu\text{g-eq/L}$ 、 $T_{1/2}$ (相)は 0.5mg で 7.7 時間、5.0mg で 7.4 時間であった。雄、雌とも 0.05mg の投与では後期に検出限界未満(0.01 $\mu\text{g-eq/L}$)になったため $T_{1/2}$ は求められなかった⁽¹²⁾。

雌ビーグル犬に 0.125mg/kg 体重の ^{14}C -標識ラクトパミンを単回経口投与したところ、72 時間以内に投与量の約 79% が尿(約 55%)または糞中(約 24%)から回収された。このうちの 90%以上は 24 時間以内に回収され、主要な排泄経路は尿であった⁽¹³⁾。

【サルにおける経口投与試験】⁽¹³⁾

雌アカゲザルに 0.125mg/kg 体重の ^{14}C -標識ラクトパミンを単回経口投与したところ、72 時間以内に投与量の約 70% が尿(約 45%)または糞中(約 25%)から回収された。このうちの 90%以上は 24 時間以内に回収され、主要な排泄経路は尿であった。

【ブタにおける経口投与試験】⁽¹⁴⁾

去勢ブタもしくは未経産ブタに、5 日間、非標識塩酸ラクトパミン 20ppm を含有した飼料を給与し、体内のラクトパミンを定常化した。その後、 ^{14}C -標識ラクトパミン 40ppm を混餌で単回投与し、7 日間に渡って放射活性の尿中及び糞中への回収を調べた。この間、非標識塩酸ラクトパミン 20ppm 含有飼料を給与した。

7 日間に放射活性の約 97% が回収され、そのうち約 88% が尿中から、約 9% が糞中から回収された。また、最初の 1 日ですでに放射活性の約 85%、3 日で約 95% が回収された。

【ウシにおける経口投与試験】⁽¹⁵⁾

去勢ウシに、8 日間、非標識塩酸ラクトパミン 30ppm を含有した飼料を給与し、体内のラクトパミンを定常化した。その後、 ^{14}C -標識ラクトパミン 40ppm を混餌で単回投与し、10 日間に渡って放射活性の尿中及び糞中への回収を調べた。この間、非標識塩酸ラクトパミン 30ppm 含有飼料を給与した。

10 日間に放射活性の約 97% が回収され、そのうち約 46% が尿中から、約 52% が糞中から回収された。また、最初の 1 日で約 37%、2 日で約 74%、4 日では約 93% が回収された。

【ヒトボランティアにおける経口投与試験】⁽¹⁶⁾

5 名のヒトボランティアに塩酸ラクトパミンを 40mg 経口投与し、血漿及び尿中の遊離型または結合型ラクトパミン量を分析した。

T_{\max} は 0.6 時間、その時の C_{\max} は 41.2ng/mL であった。平均半減期は 3.94 時間であった。

(2) 代謝

【ブタにおける体内分布】

ブタに ^{14}C -ラクトパミンを 30ppm の濃度で 4、7、10 日間飼料添加投与し、放射活性の総残留が定常に

達する期間の推定を行ったところ、投与後 4 日で定常状態となった。これは、非抽出残留についても同様であった。なお、非抽出残留の総残留に対する割合は、肝臓で平均 26.0~29.1%、腎臓で平均 14.6~15.9%であった⁽¹⁷⁾。

¹⁴C-塩酸ラクトパミンを 30ppm の濃度で 4 日間連続飼料添加投与したブタにおける、休薬 0 日目(飼料給与後 12 時間)の肝臓、腎臓、筋肉、脂肪中の総残留濃度はそれぞれ、0.02, 0.60, 0.42, 0.02ppm であった(平均総放射活性をラクトパミン等量として計算)⁽¹⁸⁾。

¹⁴C-塩酸ラクトパミンを 30ppm の濃度で 4 日間連続飼料添加投与したブタにおける、休薬 0 日目(飼料給与後 12 時間)の肝臓、腎臓中の総放射活性に対する親化合物残留量の割合は、肝臓で 23%、腎臓で 27%であった⁽¹⁹⁾。

交雑種の豚に塩酸ラクトパミン 20ppm 添加飼料を 14 日間給与し、休薬 12 時間後にそれぞれ雌雄各 4 頭を用いて肝臓、腎臓、筋肉、脂肪、皮膚の各組織の残留量を測定した。親化合物ラクトパミンの残留量はそれぞれ、11ppb、32ppb、5.4ppb、2.0ppb 未満、7.5ppb であった⁽²⁰⁾。

【ウシにおける体内分布】

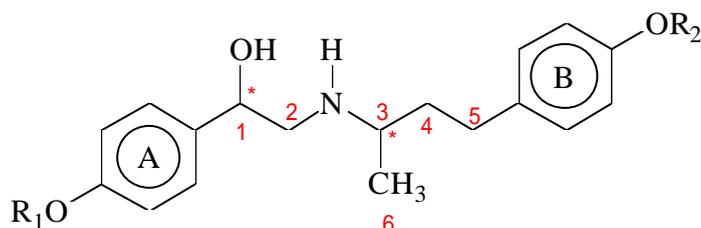
ウシに¹⁴C-ラクトパミンを 1.01mg/kg 体重/日の濃度で 4, 7, 10 日間ルーメンフィステルを用いて投与し、放射活性の総残留が定常に達する期間の推定を行ったところ、腎臓は投与後 4 日、肝臓は投与後 7 日で定常状態となった。筋肉、脂肪においては検出できなかった。肝臓、腎臓からは総残留の 95% が抽出可能であった。また、肝臓、腎臓中の総放射活性に対する親化合物残留量の割合は、肝臓で 12.7%、腎臓で 14.2%であった⁽²¹⁾。

¹⁴C-塩酸ラクトパミンを 45ppm の濃度で 7 日間連続してカプセルにより経口投与したウシにおける、休薬 0 日目(最終投与約 12 時間後)の肝臓、腎臓、筋肉、脂肪中の総残留濃度はそれぞれ、0.62, 0.46, 0.02, 0.01ppm であった(平均総放射活性をラクトパミン等量として計算)⁽²²⁾。

雌牛に塩酸ラクトパミン 20ppm(約 0.432mg/kg 体重/日)添加飼料を 8 日間給与し、休薬 6 時間以内にそれぞれ肝臓、腎臓の残留量を測定した。親化合物ラクトパミンの残留量はそれぞれ、9.3ppb、97.5ppb であった⁽²³⁾。

【腎臓・肝臓中の代謝物】^{(24),(25),(26)}

ラット、イヌ、ブタ、ウシにおいて ¹⁴C-塩酸ラクトパミンの飼料添加投与による肝臓、腎臓中代謝物について検討した。その結果、いずれの動物においても 4 つの代謝物(代謝物 A, B, C, D)の存在することが明らかになった。これは A 環及び又は B 環の水酸基部分のグルクロン酸抱合によるものであった。



代謝物	R1	R2	異性体
ラクトパミン	H	H	4種
代謝物 A	H	グルクロン酸抱合	RS, SR
代謝物 B	H	グルクロン酸抱合	RR, SS
代謝物 C	グルクロン酸抱合	H	4種
代謝物 D	グルクロン酸抱合	グルクロン酸抱合	

それぞれの動物におけるラクトパミン及びその主要な代謝物の平均濃度は次の通りであった。なお、それぞれの動物の投与量及び投与経路は、ラットは胃管投与(2mg/kg体重、1日1回7日間)、イヌは胃管投与(0.5mg/kg体重、1日3回4日間+5日目1回)、ブタは30ppm混餌(4日間)、ウシは45ppm混餌(7日間)であった。ラット、イヌは最終投与後6時間後、ブタ、ウシは12時間後の値を測定した。

ラット、イヌ、豚、牛の抽出可能残留中の代謝物

代謝物	組織・動物種				肝臓(mg/kg)				腎臓(mg/kg)			
	ラット	イヌ	豚	牛	ラット	イヌ	豚	牛	ラット	イヌ	豚	牛
塩酸ラクトパミン	0.40	0.59	0.12	0.08	0.33	0.50	0.10	0.05				
代謝物 A	0.17	0.46	0.03	0.02	0.52	0.18	0.05	0.02				
代謝物 B	0.15	0.77	0.04	0.02	0.57	0.27	0.06	0.02				
代謝物 C	0.10	1.76	0.02	0.24	0.08	0.63	0.09	0.25				
代謝物 D	0.17	0.71	0.02	0.13	0.10	0.15	0.03	0.03				

【胆汁中の代謝物】⁽²⁷⁾

胆管カニューレを挿入したSDラットに¹⁴C-塩酸ラクトパミン[(1R, 3R), (1R, 3S)] 2.85±0.3 mgを混餌投与し、胆汁中の放射活性及び代謝物の同定を行った。投与後24時間以内に、投与した放射活性の58±7%が胆汁中に排泄された。放射活性の吸収及び排泄は急速で、投与後最初の8時間で投与量の55%が胆汁中に排泄された。

胆汁中放射活性の約46%は硫酸及びグルクロン酸二重抱合体であった。硫酸抱合はA環の水酸基、グルクロン酸抱合はB環の水酸基で起こっていた。約25%はグルクロン酸抱合体で主要な抱合部位はB環の水酸基であったが、A環の水酸基の抱合も認められた。約6%の代謝物は硫酸抱合体でA環の水酸基の抱合であった。

【ヒトにおける代謝】⁽²⁸⁾

6名のヒトボランティアに塩酸ラクトパミン40mgを経口投与し、6、12、18、24時間後の尿を採取し、親化合物、グルクロン酸抱合体、硫酸抱合体、硫酸及びグルクロン酸二重抱合体、及びスルファターゼとβ-グルクロニダーゼで脱抱合された親化合物を分析した。投与後24時間までに投与量の45.7±7.1%が排泄された。総排泄量中の約72%は投与後6時間以内に排泄された。

尿中からは親化合物、モノグルクロン酸抱合体及びモノ硫酸抱合体が検出されたが、親化合物は2%程度で、主要な抱合体は硫酸抱合体であった。

2-2.毒性試験

(1)急性毒性試験

経口投与による LD₅₀はマウス(ICR)の雄で 3547mg/kg 体重、雌で 2545mg/kg 体重⁽²⁹⁾、ラット(Fischer)の雄で 474mg/kg 体重、雌で 367mg/kg 体重であった⁽³⁰⁾。腹腔内投与では、ラット(Fischer)の雄で 132mg/kg 体重、雌で 122mg/kg 体重であった⁽³¹⁾。皮下投与では、ウサギ(ニュージーランドホワイト)で 2000mg/kg 体重以上であった⁽³²⁾。

吸入暴露の LC₅₀ (4 時間)は、ラット(Fischer)で 2.8 mg/L^aであった⁽³³⁾。

(2)亜急性毒性試験

【マウスを用いた 3 ヶ月間亜急性毒性試験】⁽³⁴⁾

B6C3F1 マウス(雌雄各 10 匹/群)を用いた混餌(0.0, 0.02, 0.14, 1.0% ; 0.0, 25, 175, 1250mg/kg 体重/日に相当)投与における 3 ヶ月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、本系マウスに一般的に認められる脱毛の発生率が高用量群で減少していた他には特に異常は認められなかった。また、投与期間中に死亡例は認められなかった。

体重変化では、試験後半の 8 週間の雄の 25mg 及び 175mg 投与群で累積増体重の増加が認められたが、最終体重には試験群間で差はみられなかった。

血液学的検査では、175mg 以上の投与群で軽度～中度の赤血球数、血色素濃度及び赤血球容積の増加が認められた。

血液生化学的検査では、雄の 1250mg 投与群及び雌の 175mg 以上の投与群で、尿素窒素及びコレステロール濃度の増加が認められた。

臓器重量では、程度はわずかであったが用量依存性の精巣の絶対及び相対重量の低下が全投与群の雄動物で認められた。また、心臓の相対重量の増加が 1250mg 投与群の雌雄に認められた。なお、精巣、心臓とも病理組織学的変化は認められなかった。

剖検及び病理組織学的検査では、1250mg 投与群で、褐色脂肪組織^bの暗色化が他群より強く認められた。この変化は、代謝活性の著しい増加に伴うものと考えられた。

本試験における雌の NOAEL は、25mg/kg 体重/日であったが、雄については 25mg 投与群においても精巣重量わずかな減少がみられたため、NOAEL は求められなかった。

【ラットを用いた 3 ヶ月間亜急性毒性試験】⁽³⁵⁾

Fisher 344 ラット(雌雄各 20 匹/群)を用いた混餌(0.0, 0.002, 0.02, 0.2% ; 雄 0.0, 1.3, 13, 153mg/kg、雌 0.0, 1.4, 15, 157mg/kg 体重/日に相当)投与における 3 ヶ月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、特に異常は認められなかった。なお、試験期間中に対照群の雌に 1 匹死亡が認められた。

体重変化では、高用量群の雌雄で増体重の減少が認められ、雄では 28 日以降体重の低値も認められた。この群では飼料摂取量が増加しており、飼料効率^aが低下した。

血液学的検査では、高用量群の雌雄で赤血球数、ヘモグロビン濃度、赤血球容積の増加、血小板数の減

^a 職業暴露を考慮した試験であり、約 10%のラクトパミンが含有されているパウダーによる値。

^b ほ乳類の頸部や肩甲部にある特殊な褐色の脂肪組織で通常の白色脂肪組織とは異なる性質を持つ。交感神経繊維に富み、脂肪分解・酸化能力が高い。体温調節のための産熱器官と見なされている。

少が認められた。

血液生化学的検査では、高用量群の雌雄で尿素窒素、アルカリフォスファターゼ(AP)、カリウム濃度の増加が認められた。また、高用量群の雄では中性脂肪の減少、雌ではコレステロールの減少が認められた。

尿検査では異常は認められなかった。

臓器重量では、高用量群の雌雄で肝臓及び脾臓の絶対重量の減少が認められた。この群の雄では精巣、雌では子宮の絶対重量減少も認められた。雌の子宮は相対重量も減少した。また、中及び高用量群の雌雄で腎臓の絶対及び相対重量の増加が認められた。心臓には変化は認められなかった。

剖検及び病理組織学的検査では、中及び高用量群の雌雄で大動脈周囲及び肩甲骨間の褐色脂肪組織で細胞質の変化(球形液胞数の増加)が認められた。この変化は、褐色脂肪組織の代謝活性化による所見と考えられた。

本試験における NOAEL は雄 1.3mg/kg 体重/日、雌 1.4mg/kg 体重/日であった。

【サルを用いた 6 週間亜急性毒性試験】⁽³⁶⁾

アカゲザル(雌雄各 2 匹/群)を用いた強制経鼻胃挿管(0.0, 0.25, 0.5, 4.0mg/kg 体重/日)投与による 6 週間の亜急性毒性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。

一般的な臨床症状観察では、特に異常は認められなかった。また、投与期間中に死亡例は認められなかった。また、体重変化、飼料摂取量、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、臓器重量、剖検、病理組織学的検査に異常は認められなかった。肝臓の 4-ニトロアニソール-O-脱メチル酵素の誘導はなく、投与終了時の身体検査所見にも異常はなかった。

本試験においては、 β -作動薬が鋭敏な作用を及ぼすと考えられる心肺機能(心電図、心拍数、肺における β -アドレナリン作動性レセプター数)についてさらに詳細な観察が行われた。心電図検査に異常は認められなかったが、4.0mg 投与群において心拍数の増加が認められた。心拍数は、投与後 0.5 時間までに最大となり、その後徐々に低下した。また、0.5mg 以上投与群で肺の β -アドレナリン作動性レセプター数の減少が認められた。レセプターの結合アフィニティー(Kd)には、いずれの投与群においても影響はみられなかった。

本試験における NOEL は 0.25mg/kg 体重/日であった。

【サルを用いた 90 日間強制投与試験】⁽³⁷⁾

アカゲザル(雌雄各 3 匹)に 0.125mg/kg 体重/日の用量で塩酸ラクTOPAMIN を 90 日間強制経鼻胃挿管投与し、心拍数及び心電図波形を観察した。対照群には水を投与した。

一般的な臨床症状観察、体重変化、飼料摂取量に異常は認められなかった。また、心拍数、心電図波形にも影響は認められなかった。

本試験における NOEL は 0.125mg/kg 体重/日であった。

【サルを用いた吸入暴露試験】

アカゲザル(雌雄各 2 匹/群)を用いた吸入暴露(0.38, 1.69, 6.42, 23.8mg/M³ のエアロゾルを 1 日 4 時間)試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。なお、暴露期間は 23.8mg/M³ 群では 2 日間、1.69、6.42mg/M³ 群では 7 日間、0.38mg/M³ 群では 8 日間であった(週末を除く)。

一般的な臨床症状観察で影響は認められなかった。なお、2 頭が埋め込み ECG 電極への拒絶反応を示したため試験終了前に安楽死させたが、他のすべての動物が試験終了まで生存した。

体重変化、飼料摂取量、血液学的検査、血液生化学的検査、臓器重量、剖検及び病理組織学的検査に異

常は認められなかった。

心拍数の増加が暴露時間中(昼間)及び暴露後期間中(夜間)、全群の動物で認められた。昼間及び夜間の心拍数増加は暴露期間後も継続し、正常範囲に戻るまで約 2 週間を要した。

このため、本試験では NOEC は求められなかった⁽³⁸⁾。

アカゲザル(雌雄各 2 匹/群)を用いた吸入暴露(0.0, 0.05, 0.17, 0.44mg/M³ のエアロゾルを 1 日 4 時間、8 日間(週末を除く))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、体重変化、飼料摂取量、血液学的検査、血液生化学的検査、臓器重量、病理組織学的検査に異常は認められなかった。

0.44mg/M³ 投与群で夜間(4 時間暴露後の 8 時間)の心拍数増加が認められた。この心拍数増加に累積効果は認められなかった。

本試験における NOEC は 0.17mg/M³ であった⁽³⁹⁾。

【ブタを用いた 56 日間亜急性毒性試験】⁽⁴⁰⁾

交雑種ブタ(雌雄各 4 頭/群)を用いた混餌(0.0, 20, 100, 500ppm; 0, 0.6, 3, 15mg/kg 体重/日に相当)投与による 56 日間の対象動物に対する安全性試験において認められた所見は以下の通りであった。

一般的な臨床症状観察、体重変化、飼料摂取量に、投与に起因した異常は認められなかった。また、投与期間中に死亡例は認められなかった。

血液学的検査では、100ppm 以上投与群の雌雄で、赤血球数、ヘモグロビン濃度、赤血球容積の減少が認められた。

血液生化学的検査では、100ppm 以上投与群の雌雄で、尿素窒素の減少が認められた。また、全ての投与群で血漿クレアチニン濃度の増加が認められた。著者は、投与による骨格筋量の増大の結果ではないかとしている。

臓器重量では、500ppm 投与群の雌雄で甲状腺の相対重量の減少が認められた他には異常は認められなかった。

剖検、病理組織学的検査では、肝門脈周辺へのグリコーゲンの蓄積が 100ppm(3/8)及び 500ppm(1/8)投与群に認められた。

本試験における NOEL は求められなかった。

(3)慢性毒性試験

【イヌを用いた 1 年間慢性毒性試験】⁽⁴¹⁾

ビーグル犬(雌雄各 4 匹/群)を用いたカプセルによる強制経口(0.0, 0.112, 0.224, 5.68mg/kg 体重/日)投与における 1 年間の慢性毒性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。なお、投与はそれぞれの一日量を 3 分割した用量に調節した 2% 顆粒剤含有カプセルを、午前 7:00 より 6 時間毎に 3 回投与する方法により実施した。対照群にはプラセボ含有カプセルを投与した。

一般症状として、5.68mg 投与群において粗剛化(unkept)及び脂漏(oily)した被毛、一過性の末梢の発赤(腹部、耳及び歯茎)が認められた。一過性の末梢の発赤は 0.224mg 投与群の一部で投与初期に認められた。

体重変化、飼料摂取量に投与による影響はみられなかった。

血液学的検査では、5.68mg 投与群の雌雄で赤血球数、血色素濃度、赤血球容積の減少が認められた。

^c 暴露時間の 24 時間への補正は実施していない

血液生化学的検査では、5.68mg 投与群の雌雄で血清カリウムと尿素窒素の増加、血糖値、総コレステロール、トリグリセライド濃度の減少が認められた。

尿検査では投与による影響はみられなかった。

臓器重量では、5.68mg 投与群の雄で心臓重量の相対及び絶対重量の減少、雌で絶対重量の減少が認められた。

剖検では、5.68mg 投与群で腹部及び/又は胸部脂肪のわずかな減少が認められた。

病理組織学的検査では、5.68mg 投与群で肝細胞中グリコーゲンの減少、胸腺及び/又は大動脈周囲の褐色脂肪組織の代謝活性化に伴う変化が認められた。また、この用量群の1頭で筋筋に慢性的な部分的な炎症が認められた。

その他、眼検査、骨髄検査に投与による影響は認められず、心電図検査にも異常は認められなかった。

さらに、試験期間中の所定の日(29, 68, 83, 119, 155, 182, 211, 273, 366 日)について、初回投与前(休息時)及びその2, 6, 8時間後の心拍数の測定が実施された。休息時の平均心拍数は全ての投与群で対照群と比較して減少が認められた。期間別で見ると、この減少は7ヵ月目にはほぼ正常値に戻っていた。

通常の毒性所見のNOAELは0.224mg/kg体重/日であったが、休息時の心拍数の減少は全ての投与群で認められたため、本試験におけるNOELは求められなかった。

【マウスを用いた21ヶ月間慢性毒性発がん性併合試験】⁽⁴²⁾

CD-1マウス(雌雄各60匹/群)を用いた混餌(0, 0.02, 0.1, 0.6%; 雄0, 25, 130, 840mg/kg体重/日, 雌0, 35, 175, 1085mg/kg体重/日に相当)投与による21ヶ月の慢性毒性発がん性併合試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。なお、6, 12, 18ヶ月目に血漿サンプルを採取し暴露状況を確認したところ、雌雄の全用量群で全身性の暴露が確認された。

一般的な臨床症状観察では、特に異常は認められなかった。しかし、高用量群では雌雄とも死亡率の増加が認められた。

体重変化では、中及び高用量群の雄で12ヶ月まで減少が認められた。中用量群はその後回復したが、高用量群は試験終了まで継続した。

飼料摂取量では、高用量群において雄で17ヶ月まで、雌で18ヶ月まで増加が認められた。

血液学的検査では高用量群の雌雄で赤血球数の増加が認められた。雄ではヘモグロビン濃度とヘマトクリット値も増加した。

血液生化学的検査では、雌の全ての投与群と高用量群の雄で尿素窒素の増加が認められた。高用量群の雄ではアルブミン/グロブリン比、総ビリルビンも増加していた。

腫瘍の発生頻度については、子宮平滑筋腫が雌の全用量群で認められた。発生頻度は0, 0.02, 0.1, 0.6%群でそれぞれ1.7, 8.3, 13.3, 16.9%であった。マウスにおける子宮平滑筋腫の誘導については、同じく-作動薬であるmedroxoalol, sulbutamol sulfate, terbutaline sulfateでも認められているが、いずれも-受容体拮抗薬であるpropranololにより抑制されることが報告されている^{(43),(44),(45)}。従って、その作用機序は-受容体を介するものであることが示唆されるが、塩酸ラクTOPAMINについてpropranololによる子宮平滑筋腫の誘導抑制の確認は実施されていない。

本試験においてNOAELは求められなかった。

【ラットを用いた2年間慢性毒性発がん性併合試験】⁽⁴⁶⁾

F344ラット(雌雄各60匹/群)を用いた混餌(雄0, 2, 60, 200mg/kg体重/日; 雌0, 2, 60, 200, 400mg/kg体重/日に相当)投与による2年間の慢性毒性発がん性併合試験において認められた毒性所見は以下の通り

であった。なお、6, 12, 18 ヶ月目に血漿サンプルを採取し暴露状況を確認したところ、雌雄の全用量群で全身性の暴露が確認された。

一般的な臨床症状観察では、投与に起因した毒性影響は認められなかった。

体重変化では、60mg 以上投与群の雌雄で体重増加率の低下が認められ、体重も低値を示した。

飼料摂取量では、雄の 60mg 以上投与群及び雌の 400mg 投与群で増加が認められた。

血液学的検査では 200mg 以上の投与群で赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値の増加が認められた。

血液生化学的検査では、60mg 以上投与群の雌で尿素窒素の増加が認められた。60mg 以上投与群の雄及び 200mg 以上投与群の雌で血清カリウム濃度の増加が認められた。また、200mg 以上投与群の雌雄で、コレステロール及びトリグリセライドの減少が認められた。

腫瘍の発生頻度については、200mg 以上投与群で子宮平滑筋腫(costo-uterine leiomyoma)の増加が認められた。発生頻度は 6/60、27/60 で他の群では発生は認められなかった。

本試験における NOAEL は 2mg/kg 体重/日であった。

【サルを用いた 1 年間慢性毒性試験】⁽⁴⁷⁾

アカゲザル(雌雄各 4 匹/群)を用いた強制経鼻胃挿管(0.0, 0.125, 0.5, 4.0mg/kg 体重/日)投与による 1 年間慢性毒性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。なお、塩酸ラクトパミンは、経口投与後速やかに吸収され、4.0mg 投与群の T_{max} は概ね 1 時間、 C_{max} は試験期間中を通じて同様であり(44~59ng/mL)、雌雄差もみられなかった。また、0.125mg、0.5mg 投与群における血漿中濃度は検出限界以下(<5ng/mL)であった。

一般症状、飼料摂取量、身体検査、眼検査、血液検査、血液生化学検査、尿検査、剖検及び病理組織学的検査については投与による影響はみられなかった。

体重変化では、4.0mg 群において増加が認められた。また、臓器重量では、0.5mg 以上投与群の雌で心臓及び脳相対重量の減少が認められた。雄でもこの傾向が認められたが、有意ではなかった。

本試験においては、 β -作動薬が鋭敏な作用を及ぼすと考えられる心機能について、心電図の測定が実施された。この測定は、初日及びその後 5、9、14、26、39、52 週間後に実施された。0.5mg 以上の投与群で一日平均、安静時、夜間のいずれにおいても用量依存的な心拍数の増加が認められた。

心臓及び肺における β -アドレナリン作動性レセプター数については、4.0mg 投与群で肺の β -アドレナリン作動性レセプター数の減少が認められた。心臓では減少は認められず、レセプターの結合アフィニティー(Kd)にはいずれの投与群においても影響はみられなかった。

本試験における NOEL は 0.125mg/kg であった。

(4) 繁殖毒性試験及び催奇形性試験

ウサギを用いた催奇形性試験は実施されていない。

【ラットを用いた 2 世代繁殖試験 / 催奇形性試験】⁽⁴⁸⁾

SD ラットを用いた混餌(2, 20, 200, 2000ppm)投与による 2 世代繁殖試験が実施されている。本試験は催奇形性試験を兼ねて実施された。被験物質の投与及び交配は次の要領で実施された。

F₀ 世代では、雄(25 匹)には塩酸ラクトパミン添加飼料を離乳直後から交配前 10 週間投与し、雌(25 匹)には塩酸ラクトパミン添加飼料を 9 週齢から交配前 2 週間投与した。その後は雌雄とも繁殖試験期間を含め試験終了時まで塩酸ラクトパミン添加飼料を投与した。雌には分娩後 21 日まで f_{1a} 児動物を哺育させた。その後 1 群あたり雌雄各 25 匹の F₁ 動物を選抜し、各濃度の塩酸ラクトパミン添加飼料を 2 回の交配期間

を含め試験終了時まで投与した。交配は 10 週齢の同一用量群の雌雄の F₁ 動物で行い、雌は分娩後 21 日まで f_{2a} 児動物を哺育させた。F₁ 動物は休養期間後、再度同様に交配させた。2 回目の交配の後雌を妊娠 20 日に安楽死させ、子宮内生殖パラメーターの評価、胎児の外表、内臓、骨格の観察を行った。すべての F₀、F₁ 親動物は剖検し、生殖器官の病理組織学的検査を行った。なお、死亡は 2000ppm 投与群でのみ認められ、F₁ 世代の雄 2 匹、雌 1 匹が試験期間中に死亡した。剖検の結果、雄 1 匹には重度の進行性糸球体腎症と腹部、胸部、皮下脂肪の著しい減少を伴った消瘦が認められたが、他の 2 匹には肉眼的異常は認められなかった。

体重と体重増加の低値が F₀、F₁ 雄の 2000ppm 投与群で認められた。体重の低値は F₁ 雌の 2000ppm 投与群にも認められた。F₀、F₁ 妊娠雌の 2000ppm 投与群、F₀ 雌の 20、200ppm 投与群の分娩後 1 週に一過性の摂取量増加が認められたが、毒性学的には意義のない所見と考えられた。飼料効率は、F₀、F₁ 世代の成長期間中に 2000ppm 投与群の雄で低下した。

交尾能、受胎能には投与による影響は認められなかった。f_{1a} 及び f_{2a} 児動物分娩時の妊娠期間の長さは変化しなかったが、一腹産児数、産児生存率、哺育児生存率及び児体重は 2000ppm 投与群で低下した。分娩後 21 日において、2000ppm 投与群の児体重は対照群と比べておよそ 20% の低値を示した。2000ppm 投与群の f_{1a} 雄の割合は有意に低下したが、f_{2a} における性比に差はなかった。2000ppm 投与群の哺乳期間中の児動物において、蒼白、低体温、消瘦、脱水、被毛粗剛の頻度が高かった。さらに、浮腫、口蓋裂、四肢及び肩の異常、小顎症、舌突出及び眼瞼の開裂を含む奇形の発生率が 2000ppm 投与群で上昇した。

f_{2b} 児動物産生のための F₁ 動物における 2 回目の交配試験では、2000ppm 投与群における黄体数や着床数は減少したが、受精卵着床率に影響はみられなかった。しかし、2000ppm 投与群で初期および後期胚死亡が増加したことによる胎児の生存率の低下が認められた。胎児重量、矮小胎児の発現率と性比に投与の影響はみられなかった。2000ppm 投与群では胎児に奇形や変異の発現率の上昇が認められた。浮腫、羊水過多症、肩甲骨の歪曲、四肢異常等の異常が多く観察された。2000ppm 投与群では頻繁に観察された変異は頭蓋冠、肋骨、椎弓、坐骨、恥骨の不完全骨化、副腎出血、波状肋骨、胸骨稜の不整と不完全融合等の変異が多く観察された。

病理組織学的検査では、投与に起因した異常は F₀、F₁ 親動物ともにみられなかった。

以上の結果から、本試験における生殖発生毒性に対する NOAEL は 200ppm(15mg/kg 体重/日)であった。

【ブタを用いた 1 世代繁殖試験】⁽⁴⁹⁾

雌交雑種ブタ(約 4 ヶ月齢；44 頭/群)を用いた混餌(20, 60ppm)投与による 1 世代繁殖試験が実施されている。本試験はブタに対する安全性試験を考慮して実施されており、被験物質の投与及び交配は次の要領で実施された。

試験機関で飼育するブタから体重、扱いやすさ、乳頭数等を考慮して約 4 ヶ月齢の雌ブタ(体重約 65kg)を選抜し、塩酸ラクタミン添加飼料を投与した。試験は 20 頭、24 頭の 2 回に分けて実施され、投与は体重が 110kg 程度になるまでの期間を目途に実施されそれぞれ 47 日もしくは 45 日間であった。これは養豚における仕上げ期に相当する。その後休薬し、分娩させ、21 日間授乳させた。試験期間中合計 24 頭が事故や発情しない等の理由で除外された。除外されたブタは対照群を含めほぼ均等に生じた。

発情率、分娩率、生産児数、死産児数、生産児・死産児体重、21 日齢離乳頭数、離乳時体重について、投与の影響はみられなかった。

(5) 遺伝毒性試験

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

【変異原性に関する各種試験の結果一覧】

In vitro 試験

試験	対象	投与量	結果
In vitro 不定期DNA合成	Fischer 344 ラット肝細胞	0.5 ~ 1000 µg/mL	陰性 ⁽⁵⁰⁾
Ames 試験	<i>S. typhimurium</i> TA1535, TA1537, TA1538, TA98, TA100	50 ~ 5000 µg/mL(-S9)	陰性 ⁽⁵¹⁾
	<i>S. typhimurium</i> G46, TA1535, TA1537, TA1538, TA98, TA100, C3076, D3052 <i>E. coli</i> WP2, WP2 <i>uvrA</i>	0.1 ~ 1000 µg/mL(-S9)	陰性 ⁽⁵²⁾
	<i>S. typhimurium</i> TA1535, TA1537, TA98, TA100, <i>E. coli</i> WP2 <i>uvrA</i>	312.5 ~ 5000 µg/plate(± S9)	陰性 ⁽⁵³⁾
染色体異常試験	培養ヒトリンパ球 ⁽⁵⁴⁾	50, 156.3, 250 µg/mL (-S9; 18h)	陰性 ¹
		300, 600, 1000 µg/mL (+S9; 3hr+15hr)	陽性 ² (1000 µg/mL)
		25, 100, 200 µg/mL (-S9; 18hr)	陽性 ³ 100 µg/mL
		75, 150, 300 µg/mL (+S9; 3hr+15hr)	陽性 ⁴ (300 µg/mL)
	培養ヒト全血リンパ球 ⁽⁵⁵⁾	150, 200, 250, 300 µg/mL (-S9; 17.8hr)	陰性 ⁵
		1200, 1500, 1990, 2490 µg/mL(+S9; 3hr+15hr)	陽性 ⁶ (2490 µg/mL)
		700, 800, 900, 1000, 1100 µg/mL(-S9; 3hr+15hr)	陽性 ⁷ 800 µg/mL
	チャイニーズハムスター卵巣細胞 ⁽⁵⁶⁾	400, 800, 900, 1000 µg/mL (-S9; 4hr)	陰性 ⁸
		850, 875, 900 µg/mL (+S9; 4hr)	陰性
		65, 100, 250 µg/mL (-S9; 19hr)	陰性
前進突然変異試験 (Tk)	L5178Y マウスリンパ腫細胞	10 ~ 350 µg/mL(-S9)	陰性 ⁽⁵⁷⁾
		100 ~ 700 µg/mL(+S9)	陰性 ⁽⁵⁷⁾
		1 ~ 300, 325, 350 µg/mL(-S9)	陽性 ⁽⁵⁸⁾ 300 µg/mL
		1 ~ 200, 225, 250, 275 µg/mL (+S9)	陽性 ⁽⁵⁸⁾ 200 µg/mL
		50 ~ 225 µg/mL(-S9)	陰性 ⁽⁵⁹⁾
		75 ~ 275 µg/mL(+S9)	陽性 ⁽⁵⁹⁾

1 250µg/mL で mitotic index が 67%に低下(次用量では 22%)。

2 1000µg/mL で mitotic index が 61%に低下(次用量では 39%)。

3 200µg/mL で mitotic index が 41%に低下(次用量では 7%)。

- 4 300µg/mL で mitotic index が 66% に低下(次用量では 23%)。
- 5 300µg/mL で mitotic index が 39% に低下(次用量では 26%)。
- 6 2490µg/mL で mitotic index が 25% に低下(次用量では 5%)。倍数体及び核内倍化の増加はみられず。
- 7 1100µg/mL で mitotic index が 48% に低下(次用量では 0%)。倍数体及び核内倍化の増加はみられず。
- 8 800µg/mL で diplochromosome が認められた。

上記のように、*in vitro* の試験においては Ames 試験で陰性、培養ヒトリンパ球、培養ヒト全血リンパ球、CHO 細胞を用いた染色体異常試験、前進突然変異試験(マウスリンパ腫細胞を用いた Tk 試験)の一部では陽性とする結果が報告されている。このうち、培養ヒトリンパ球の試験では、陽性対照を含め染色体異常^dが多く認められており、データの質に疑問が持たれた。培養ヒト全血リンパ球の+S9の試験は2490µg/mLで統計学的には染色体異常を有する細胞の増加が認められたが、この用量では mitotic index が陰性対照に対して 25% に低下しており、かつ他の用量では異常は認められておらず、毒性学的に意味の低いものと考えられる。また、CHO 細胞では染色体異常は誘発されていなかった。なお、CHO 細胞では -S9 の高用量で diplochromosome^e の増加が観察されているが、資料作成者はこのことと染色体異常誘発性との関係を直接示す事実はないと報告している。これはまれな現象であり毒性学的な評価は困難である。一方、前進突然変異試験では陽性所見が認められており、+S9 及び -S9 で染色体異常を示唆する小さなコロニーの出現頻度が増加しているとされている。

これらのことから、塩酸ラクトパミンは *in vitro* で染色体異常誘発を示唆する報告があるが、強いものではないと考えられる。

in vivo 試験

試験系	試験対象	ラクトパミン用量	結果
染色体異常試験	マウス骨髄	300, 600, 1200 mg/kg 単回経口投与 ¹	陰性 ⁽⁶⁰⁾
		200, 400, 800 mg/kg/日 14 日間経口投与 ¹	陰性 ⁽⁶¹⁾
小核試験	マウス骨髄	185.75, 371.5, 743 mg/kg/ 日, 2 日間 ¹	陰性 ⁽⁶²⁾
	ラット骨髄	50, 100, 200, 400, 600 mg/kg/日, 14 日間 ¹	陰性 ^{2 (63)}
姉妹染色体交換試験	チャイニーズハムスター骨髄	200 ~ 500 mg/kg	陰性 ⁽⁶⁴⁾

¹ 陽性対照としてシクロフォスファミドを使用。

² 50 ~ 200 mg/kg で多染性赤血球が傾向検定で有意となった、しかし 400 ~ 600 mg/kg では影響無。

上記の通り、*in vivo* 試験では陰性であった。ラット骨髄を用いた小核誘導試験で 50 ~ 200mg/kg の傾向検定で有意となったが、それぞれの用量と対照の間に有意差はなく、さらに高用量の試験では単独、傾向検定ともに有意差は認められなかった。

エピネフリンのようなカテコールアミンは、キノンを介した酸化傷害によって、*in vitro* で変異原性を示

^d 染色体型切断。通常化学物質によって誘発される染色体異常の多くは染色体型である。

^e 染色体の内の 1 本あるいは数本が 2 本並列した状態をいう。

すとされている。ラクトパミンは構造上、酸化されてラクトパミンカテコールを生じる可能性がある。In vitro で観察された弱い染色体傷害に酸化傷害が関与する可能性を検討するため、いくつかの特殊な試験が実施されている。

【マウスリンパ腫細胞培養液中のラクトパミン及びラクトパミンカテコールの分析】⁽⁶⁵⁾

In vitro におけるラクトパミンからのラクトパミン - カテコールの生成が検討されている。マウスリンパ腫 L1578Y 細胞(TK⁺3.7.2C培養系にラクトパミン、S9、抗酸化剤、カテコールメチル転移酵素等を次の通り単独または同時に処理し、ラクトパミンカテコールを分析した。なお、カテコールメチル転移酵素は不安定なカテコールの検出を容易にするために加えられている。

- 1) ラクトパミン 350µg/mL ± S9
- 2) ラクトパミン 350µg/mL + NAC^f1000µg/mL ± S9
- 3) ラクトパミン 350µg/mL + SAM^g435µg/mL + COMT^h80 単位 ± S9
- 4) ラクトパミン 350µg/mL + NAC1000µg/mL + SAM435µg/mL + COMT80 単位 ± S9

ラクトパミンカテコールの蓄積は、2)及び4)の+S9条件下でのみ認められ、他の処理条件ではわずかであった。また、2)と4)では2)でより多く蓄積されている。S9単独処理はラクトパミンカテコールの蓄積に関与せず、抗酸化剤であるNACはS9存在下でラクトパミンカテコールの蓄積をかえて増加させた。S9非存在下でも少量のカテコールが生成されたが、遺伝毒性を説明できるものではないとされている。

【マウスリンパ腫細胞の前進突然変異誘発性に及ぼす他の化学物質の影響】⁽⁶⁶⁾

マウスリンパ腫細胞(L5178Y TK⁺)遺伝毒性試験の一部に陽性結果が得られたことから、細胞の酸化状態に影響を与える様々な化学物質による、阻害または促進効果が検討されている。化学物質として、アスコルビン酸、プロプラノロール、SOD^k、カタラーゼ^l、SOD/カタラーゼ、3,5-ジイソプロピルサリチル酸銅^m、NAC、N,N'ジフェニル-1,4-フェニルジアミンⁿ、BSO^oを用いている。また、SOD/カタラーゼを除き、S9の非存在下で実施した。

ラクトパミンの変異原性は、アスコルビン酸、SOD、プロプラノロールで軽減されなかったが、NAC、カタラーゼ(-S9)により軽減された。カタラーゼの軽減作用は+S9では認められなかった。また、BSOは変

^f N-アセチル-L-システイン：グルタチオンの前駆体で強い抗酸化力を有する

^g S-アデノシル-L-メチオニン：メチル基転移酵素の補酵素として働く

^h カテコール-O-メチル基転移酵素：水酸化カテコールをメチル化する酵素

ⁱ ここでは水溶性の抗酸化剤の代表として使用

^j 遮断薬

^k Superoxide Dismutase：活性酸素の1種であるスーパーオキシドアニオン2分子から酸素と過酸化水素を生じる反応を触媒する酵素。ここでは、活性酸素のスキャベンジャー

^l 過酸化水素の分解を触媒する酵素

^m スーパーオキシドアニオンを過酸化水素と水に分解する能力を有する

ⁿ ここでは脂溶性の抗酸化剤の代表として使用

^o L-buthionine-[S, R]-sulfoximine：グルタチオン産生を抑制する

異原性を増幅しなかった。

さらに、エピネフリン誘発変異原性についても同様に検討されている。アスコルビン酸、SOD、3,5-ジイソプロピルサリチル酸銅、NAC、N,N'ジフェニル-1,4-フェニルジアミンを用い、S9非存在下での試験結果をラクトパミンにおける結果と比較した。エピネフリンの変異原性はNACの他、アスコルビン酸によっても軽減され、ラクトパミンの挙動と差異が認められている。

結果は錯綜しているが、一部の試験で抗酸化剤が染色体異常を軽減したこと、また、ラクトパミンが培養液中でカテコールに酸化されたことを考慮すると、*in vitro* で認められた弱い染色体傷害性には、酸化ストレスが何らかの形で関与している可能性がある。

ただし、この染色体傷害性の作用機作については、さらに解明すべきと考える。

以上を総合的に判断すると、*in vitro* で染色体異常誘発性を示唆する報告があるものの、*in vivo* における小核試験等で陰性であり、生体にとって問題となるような遺伝毒性はないものと考えられる。

(6) 心臓血管系に対する特殊毒性試験

慢性毒性試験等の結果より、塩酸ラクトパミンの投与において観察される毒性及び生理影響のうち、最も鋭敏に観察されるのは、心臓血管系に対する作用と考えられる。このため、動物種間の感受性も含めて、一連の特殊毒性試験がイヌ、サル及びヒトにおいて実施されている。

麻酔下のイヌにおける心臓血管系への急性作用⁽⁶⁷⁾

ペントバルビタール(30mg/kg体重)麻酔下のビーグル犬(雌雄各2匹)に塩酸ラクトパミン0.035mg/kg体重を10分間かけて静脈内投与し、投与前5分間及び投与期間中を含め40分間の血流動態をモニターした。なお、実験中に死亡した動物は認められなかった。

心拍数は、投与中に65%増加し、観察期間中は少なくとも50%増加の水準が維持された。

動脈圧は、平均では投与開始と共に対照のおよそ半分に急激に低下し、その後は徐々に回復したが、観察終了時でもおよそ25%の低下が認められた。収縮期と拡張期では圧降下の程度は拡張期においてより大きく、結果として脈圧が増大していた。拡張期の脈圧は観察期間後期にはほぼ正常に回復したが、収縮期では徐々に回復しているものの、観察終了時でもおよそ20%の低下が認められた。

心拍出量^p(Cardiac Output)は、投与開始とともに対照と比較して急激におよそ50%増加し、観察期間中を通じて対照に比べおよそ40%増加の水準が維持された。

一回拍出量^q(Stroke Volume)は投与開始時に一過的におよそ12%増加したが、その後は低下に転じ、最大で対照と比べておよそ18%低下し、観察中は低下傾向が続いた。一過的なSVの増大は主として心拍数の増加によるものと考えられた。

全末梢抵抗^r(Total Peripheral Resistance)は、投与開始直後に急激におよそ65%低下した。その後は徐々に回復し、観察終了時には50%低下にまで回復した。

大動脈流量ピーク(Peak Flow)は投与直後に急激におよそ90%増加し、その後は観察期間終了時まで70%前後の増加で安定した。

^p Cardiac Output ; 1分間に心臓が送り出す血液の量。心機能評価の基本的指標となる。

^q Stroke Volume ; 1心拍で駆出される血液の量。

^r 細動脈壁の平滑筋の収縮・弛緩による動脈径の変化に応じて血流の受ける抵抗。

駆出期(Ejection Period)は投与開始から急激におよそ 27%短縮し、観察期間中はその傾向が維持された。流量ピーク到達時間(Time to Peak)の変化はわずかで一定の傾向はみられなかった。

覚醒下のイヌへの経口投与による心臓血管系に対する急性作用⁽⁶⁸⁾

ビーグル犬(雌雄各 4 匹群)にカプセル入り塩酸ラクトパミンを単回経口(0, 0.002, 0.050, 0.125mg/kg 体重)投与し、投与前 2 時間から投与後 24 時間にかけて、血流動態をモニターした。それぞれの動物に 3 日程度のインターバルをおいて 0-0.125mg の全ての用量を投与し、観察した。インターバル後には前回の投与のキャリーオーバーは認められなかった。なお、実験中に死亡した動物は認められなかった。

一般的臨床症状では、0.050mg 以上投与群で腹部皮膚に紅斑が認められた。

心拍数は、0.050mg 以上の投与で投与後 2 時間をピークとして用量依存的に増大した。この増大は翌朝には回復した。0.002mg 投与では変化は認められなかった。

左心室の変力性(Left Ventricular Inotropic State)は、心拍数と同様の変化を示し、0.050mg 以上の投与で投与後 2 時間をピークとして用量依存的に増大した。この増大は投与 6 時間後まで有意であった。0.002mg の投与では変化は認められなかった。

動脈圧^u(Arterial Pressure)は、平均、収縮期、拡張期とも 0.050mg 以上の投与で用量依存的に低下し、その度合いは収縮期で大きかった。いずれも投与 6 時間後まで有意であった。0.002mg の投与では変化は認められなかった。0.050mg では脈圧^v(Pulse Pressure)には有意な差は認められなかった。

心電図波形には、投与に関連した変化はみられなかった。

本試験における NOEL は 0.002mg/kg 体重であった。

麻酔下のサルにおける血流力学的影響⁽⁶⁹⁾

ペントバルビタール(30mg/kg 体重)麻酔下のアカゲザル(雌雄各 2 匹)に塩酸ラクトパミン 0.035mg/kg 体重を 10 分間かけて静脈内投与し、投与前 5 分間及び投与期間中を含め 40 分間の血流動態をモニターした。なお、実験中に死亡した動物は認められなかった。

心拍数は、投与中におよそ 20%増加し、観察期間中を通じてこの状態が維持された。

動脈圧は、投与中に収縮期で軽度の増加が認められた他に変化は認められなかった。

心拍出量は、投与開始とともに対照と比較して急激におよそ 35%上昇した。10 分間の投与終了後からは観察終了時まで徐々に低下した。

一回拍出量は投与中に一過的におよそ 14%増加したが、その後は徐々に回復し、観察終了時にはもとの水準まで回復した。

全末梢抵抗は、投与開始直後におよそ 30%低下し、その後は徐々に回復した。

大動脈流量ピークは投与中におよそ 80%まで増加し、その後は徐々に回復した。

駆出期は投与開始から急激におよそ 18%短縮し、観察期間中はその水準が維持された。

流量ピーク到達時間の変化はわずかで一定の傾向はみられなかった。

^s 心室から大動脈へ血液が駆出している期間をいう。

^t 心筋収縮力の変化をいう

^u 通常血圧と同義

^v 収縮期と弛緩期の血圧の差

覚醒及び麻酔下のサルにおける血流力学的影響⁽⁷⁰⁾

覚醒またはケタミン(50mg/kg体重)麻酔下のアカゲザル(雄各2匹/群)に塩酸ラクトパミン0.035mg/kg体重を10分間かけて静脈内投与した。覚醒状態のサルについては、投与前5分間及び投与期間中を含め360分間の血流動態をモニターした。麻酔下のサルについては、投与前5分間及び投与期間中を含め40分間の血流動態をモニターした。なお、実験中に死亡した動物は認められなかった。

心拍数は、覚醒状態では投与中の10分間に対照の水準(120拍/分)から最大190拍/分にまで増加し、その後は対照群の水準まで急速に低下した。一方、麻酔下では10分間の投与の終わりには214拍/分にまで増加し、その後も若干低下したものの観察期間中上昇した状態が続いた。

動脈圧は、覚醒状態では投与開始直後から収縮期圧の上昇に伴って上昇し、約8分後にピークとなった後、90分間で徐々に対照の水準まで降下した後、安定した。麻酔下では投与開始直後から収縮期圧の上昇及び拡張期圧の低下により上昇した。収縮期圧の上昇は観察期間中緩やかに上昇しつづけた。拡張期圧の低下は、収縮期圧の上昇より軽度で、観察期間中に回復した。

ヒトボランティアにおける心臓血管系の作用⁽¹⁶⁾

6名の健常男性ボランティア(体重; 67.8kg-79.6kg, 平均75.5kg)について、プラセボを対照とした単純盲検法により、5用量(5, 10, 15, 25, 40mg)を単回漸増投与計画法(1日のインターバルを置いて投与量を漸増)によりカプセルを用いて経口投与し、投与直前及びその後1時間毎に8時間まで、心臓血管系機能に関するパラメーターを測定した。

臨床的な有害影響として、40mgの投与で心拍数増加(4/5)、動悸(Sensation of Heart Pounding; 1/5)、感覚異常(1/5)、口の渇き(1/5)が、25mgの投与で心拍数増加(3/6)、動悸(3/6)が、15mgの投与で心拍数増加(2/6)、動悸(1/6)が、認められた。10mg以下の投与では投与に起因した影響は認められなかった。なお、6名の内1名は25mgの投与で心機能に悪影響が認められたため40mgの投与を中止した。

心臓血管系のパラメーターについては、測定したいずれのパラメーターも投与後1時間以内にその影響は最大となり、その後は徐々に低下していく傾向を示した。5mgの投与ではいずれのパラメーターにも異常は認められなかった。10mg投与で認められた影響はいずれも軽微であったが、主要な指標として電気機械収縮時間(Electromechanical Systole)^w、左心室駆出時間(Left Ventricular Ejection Time)^x、円周方向短縮速度(Vcf)^yに影響が認められた。15mg以上の投与では心拍数、心拍出量、収縮期血圧、弛緩期血圧といった心臓血管系のパラメーターに影響が認められた。

心拍数では、15mg以上の投与でそれぞれおよそ20, 30, 50回/分の増加が、心拍出量ではそれぞれおよそ35, 55, 90%の増加が、電気機械収縮ではそれぞれ10, 14, 19%の減少が認められた。パラメーター測定の結果からは、NOELとして5mg/ヒトが得られたが、資料作成者はさらにこれら3つのパラメーターについて統計的解析を行い、NOEL、その信頼区間(95%)、さらにそれらの総合値を求め、0.099mg/kg体重というNOELを算出している。

^w心電図のQRS群の初めから、心音図の第2心音の最初の振動までの期間をいう。

^x左心室から実際に血液が駆出されている時間

^y Circumferential fiber shortening velocity; 駆出期の心筋収縮速度を示す指標。心筋の収縮力を表す代表的な指標。

ヒトにおける心臓血管系機能に関する各種パラメーターの最大無作用量

パラメーター	最大無作用量 (mg/kg)	信頼区間(mg/kg)	
		下限	上限
電気機械収縮	0.093	0.044	0.141
心拍数	0.116	0.062	0.169
心拍出量	0.083	0.035	0.132
総合値	0.099	0.092	0.106

塩酸ラクトパミンは、イヌには特に拡張期の動脈圧に典型的に認められるように、急性の動脈圧の降下をもたらすが、ヒト及びサルには収縮期の動脈圧に認められるように、むしろ動脈圧の上昇をもたらすことが示された。ヒトの心臓血管系に対する作用は、イヌと比較してサルに類似していると考えられる。ただし、この差が生じるメカニズムの詳細については不明である。

以上の結果から、本試験における NOEL は 5mg/ヒトであるが、これを、被験者の平均体重 75.5kg で補正し、0.066mg/kg 体重と判断された。

(7)特殊毒性

【魚類、水中生物を用いた短期毒性】

ニジマス稚魚、ブルーギル稚魚、ミジンコを用いて水中生物に対する毒性影響が検討された。飼育水槽内に塩酸ラクトパミンを溶解し、魚類は 96 時間、ミジンコは 48 時間飼育し、遊泳行動、死亡の有無等を観察した。

ニジマス稚魚では 48.2mg/L まで死亡ないし遊泳行動の異常は認められなかった⁽⁷¹⁾。

ブルーギル稚魚では 191mg/L まで死亡ないし遊泳行動の異常は認められなかった⁽⁷²⁾。

ミジンコでは 9.34mg/L まで不動化(immobilization²)は認められなかった⁽⁷³⁾。

【鳥類を用いた短期毒性】

マガモ雛への混餌投与試験⁽⁷⁴⁾

マガモ雛に塩酸ラクトパミンを 5 日間混餌投与し、体重、飼料摂取量、行動異常等を観察した。高用量では飼料摂取量の減少や体重の低値が認められたが、1.12g/kg 体重までの投与ではこれらを含め異常は認められなかった。なお、試験期間中死亡は認められなかった。

コリンウズラへの強制経口投与試験⁽⁷⁵⁾

コリンウズラに塩酸ラクトパミンを強制経口投与し、その後 14 日間、体重、飼料摂取量、行動異常等を観察した。高用量では死亡例、その他にも飼料摂取量の減少、体重の低値、嗜眠、下痢が認められたが、90mg/kg 体重以下の投与では、一過性の下痢を除き異常は認められなかった。

コリンウズラ雛への混餌投与試験⁽⁷⁶⁾

コリンウズラ雛に塩酸ラクトパミンを 5 日間混餌投与し、体重、飼料摂取量、行動異常等を観察した。高用量では死亡例、飼料摂取量の減少や体重の低値が認められたが、48mg/kg 体重までの投与ではこれらを含め異常は認められなかった。

【モルモットを用いた皮膚感作性】⁽⁷⁷⁾

アルビノ Hartley モルモット(雌雄各 40 匹)を用いて、塩酸ラクトパミンによる遅延型皮膚過敏症の評価

² 運動の停止ないしは異常な運動

を行った。対照群(誘導；アジュバント+ピークル、暴露；アジュバント+ラクトパミン)と試験群(誘導・暴露とも；アジュバント+ラクトパミン)を設定した。遅延型皮膚過敏症の病変がラクトパミン処理群の19匹中11匹(約58%)で認められた。対照群では20匹中0匹であった。この感作率はMagnussonとKligmanによる5段階分類では、「中等度」(グレード^{aa})と判定された。

【ウサギを用いた眼刺激性試験】⁽³²⁾

ニュージーランドホワイトウサギ(雌雄各3羽)を用いて塩酸ラクトパミンの眼刺激性を評価した。塩酸ラクトパミン23mgを滴下後、すべてのウサギで1時間以内に中等度の角膜混濁、軽度から著しい虹彩炎、軽度から中等度の結膜炎が認められた。角膜及び虹彩の炎症は7日以内に6例中5例で消失し、残りの1例も14日以内には消失した。

【微生物学的影響に関する特殊試験】⁽⁷⁸⁾

塩酸ラクトパミンが抗菌活性を有するかを確認するため、55菌株(36株の好気性グラム陽性・陰性菌及び19株の嫌気性グラム陽性・陰性菌)に対する最小発育阻止濃度(MIC； $\mu\text{g/mL}$)を寒天平板希釈法により求めた。

塩酸ラクトパミンと陽性対照物質について、好気条件下の培養では0.5～128 $\mu\text{g/mL}$ の範囲の系列希釈培地、嫌気性条件下の培養では0.008～256 $\mu\text{g/mL}$ の範囲の系列希釈培地を調製した。

塩酸ラクトパミンの好気性菌に対する抗菌活性

菌種 (株)	ラクトパミン MIC ($\mu\text{g/mL}$)
<i>Staphylococcus aureus</i> (X1.1)	>128
<i>Staphylococcus aureus</i> (V41)	>128
<i>Staphylococcus aureus</i> (X400)	>128
<i>Staphylococcus aureus</i> (S13E)	>128
<i>Staphylococcus epidermis</i> (Epil)	>128
<i>Staphylococcus epidermis</i> (222)	>128
<i>Streptococcus agalactiae</i> (C203)	>128
<i>Streptococcus pneumoniae</i> (PARK)	>128
<i>Streptococcus group d</i> (X66)	>128
<i>Streptococcus group d</i> (2041)	>128
<i>Haemophilus influenzae</i> (sens)	>128
<i>Haemophilus influenzae</i> (res)	>128
<i>Escherichia coli</i> (N10)	>128
<i>Escherichia coli</i> (EC14)	>128
<i>Escherichia coli</i> (TEM)	>128
<i>Klebsiella</i> (X26)	>128
<i>Klebsiella</i> (KAE)	>128
<i>Klebsiella</i> (X68)	>128

菌種 (株)	ラクトパミン MIC ($\mu\text{g/mL}$)
<i>Enterobacter aerogenes</i> (C32)	>128
<i>Enterobacter aerogenes</i> (EB17)	>128
<i>Enterobacter cloacae</i> (EB5)	>128
<i>Enterobacter cloacae</i> (265A)	>128
<i>Salmonella</i> (X514)	>128
<i>Salmonella</i> (1335)	>128
<i>Pseudomonas</i> (X528)	>128
<i>Pseudomonas</i> (X239)	>128
<i>Pseudomonas</i> (PS18)	>128
<i>Pseudomonas</i> (PS72)	>128
<i>Serratia</i> (X99)	>128
<i>Serratia</i> (SE3)	>128
<i>Shigella sonnei</i> (N9)	>128
<i>Proteus morganii</i> (PR15)	>128
<i>Proteus inconstans</i> (PR33)	>128
<i>Proteus rettgeri</i> (C24)	>128
<i>Citrobacter</i> (CF17)	>128
<i>Acinetobacter</i> (AC12)	>128

^{aa} (0-8%)、(9-28%)、(29-64%)、(65-80%)、(81-100%)。なお、EUでは、動物に対して30%以上の感作率を示すものには、「皮膚接触により感作の可能性はある」と表示するよう規定されている。

塩酸ラクトパミンの嫌気性菌に対する抗菌活性

菌種(株)	ラクトパミン MIC (μg/mL)
<i>Clostridium difficile</i> (2994)	>256
<i>Clostridium perfringens</i> (81)	>256
<i>Clostridium septicum</i> (1128)	>256
<i>Eubacterium aerofaciens</i> (1235)	>256
<i>Peptococcus asaccharolyticus</i> (1302)	>256
<i>Peptococcus prevoti</i> (1281)	>256
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i> (1302)	>256
<i>Peptostreptococcus intermedius</i> (1264)	>256
<i>Propionibacterium acnes</i> (79)	>256
<i>Bacteroides fragilis</i> (111)	>256

菌種 (株)	ラクトパミン MIC (μg/mL)
<i>Bacteroides fragilis</i> (1877)	>256
<i>Bacteroides fragilis</i> (1936B)	256
<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i> (1438)	>256
<i>Bacteroides melaninogenicus</i> (1856/28)	>256
<i>Bacteroides melaninogenicus</i> (2736)	>256
<i>Bacteroides vulgatus</i> (1211)	128
<i>Bacteroides corrodens</i> (1874)	>256
<i>Fusobacterium symbiosum</i> (1470)	>256
<i>Fusobacterium necrophorum</i> (6054A)	>256

その結果、塩酸ラクトパミンはいずれの菌株に対しても $\geq 128\mu\text{g/mL}$ のMICを示したことから、本剤は一般的な好気性及び嫌気性のグラム陽性・陰性の各菌種に対して殆ど抗菌活性を示さないことが明らかとなった。

(8)有効性について

【ブタに対する有効性について】⁽³⁾

塩酸ラクトパミンは、FDA やオーストラリアにおいては、少なくとも 16%の粗蛋白質を含んだ飼料に 5-20ppm(4.5-18g/ton)を体重 68-109kgの間給与するとされている。

効果を検証するために 16%の粗蛋白質を含んだ飼料に塩酸ラクトパミンを所定の濃度(0, 5, 10, 15, 20 ppm)で混合、あるいは 13%の粗蛋白質を含んだ飼料に 0, 20ppmの塩酸ラクトパミンを混合した飼料を仕上げ期間の間給与し、増体重、飼料摂取量、飼料効率等を調査した。同様の試験が 4 機関で独立して実施され、個別あるいは総合して検討された。

16%の粗蛋白質を含んだ飼料を投与した群では、いずれの用量においても増体重、飼料効率の改善が認められた。一方、13%の粗蛋白質を含んだ飼料を投与した群では統計的に有意な差は認められなかった。13%粗蛋白質飼料投与群で有意差が認められなかったことについては、アミノ酸の不足によるのではないかと述べられている。

試験期間を通じて投与に起因する有害影響は認められなかった。

【ウシに対する有効性について】⁽⁴⁾

塩酸ラクトパミンは、FDA においては、増体重と飼料効率改善の目的で飼料に 10-30ppm(9.0-27.0g/ton ; 100%ドライマターベース)を 28~42 日前から出荷直前まで給与、さらに赤身割合向上を目的とする場合は 12-30ppm(10.8-27.0g/ton)を同様に給与するとされている。

効果を検証するために飼料に塩酸ラクトパミンを所定の濃度(0, 10, 20, 30 ppm)で混合した飼料を出荷直前の 28 または 42 日間、畜牛、去勢雄牛、雌牛にそれぞれ給与し、増体重、飼料摂取量、飼料効率等を調査した。いずれの用量においても増体重、飼料効率の改善が認められた。

試験期間を通じて投与に起因する有害影響は認められなかった。

⑨ヒトにおける知見について

【ヒトにおけるβ₂-作動薬の毒性影響】

β₂-作動薬は古くからヒト臨床に用いられており、その毒性影響として循環器系への影響(頻脈、血管拡張)、振戦、代謝影響(低カリウム血症、高血糖)がよく知られている。これらは薬剤の性質から予想できる症状であり、継続的な暴露により耐性が獲得されることが知られている。この耐性の獲得が受容体の感受性の低下によるものなのか、中枢神経系の適応なのかは明らかとなっていない。また、気管支過敏症や気管支炎との関連も示唆されている。これらの毒性影響の程度にはレセプターの遺伝的多型が関与しているとする報告もある^{(5),(79)}。蛋白質同化剤としてのクレンプテロール、あらゆる種類のβ₂-作動薬はドーピングの禁止薬物リストに記載されている⁽⁸⁰⁾。

また、過去に isoproterenol を高用量(2.5-5 倍)で使用していたイギリス、オーストラリアにおいて気管支喘息による死者の増加が認められている。これは心疾患の死亡率とも相関していた。fenoterol を高用量(200μg)で使用していたニュージーランドにおいては気管支炎喘息の死者の増加が認められたが、この喘息による死亡増加と fenoterol の使用との関連性には疑問を呈する報告もある。過剰なβ₂-作動薬の使用(特に1.4canisters/月を超える場合)はリスクを増加させると報告されている⁽⁷⁹⁾。

このように、β₂-作動薬の過剰使用にはリスクがあると考えられる。一方、最近の総説では、薬理的に予想できるβ₂-作動薬の影響は低酸素症または併発症が認められる場合を除き問題とされるものではなく、容易に耐性が獲得されると結論している⁽⁷⁹⁾。

また、ヒトにおけるβ₂-作動薬の使用に伴う毒性影響について、論文のサーベイランスが実施されているが、β₂-作動薬の使用により平滑筋腫が誘導されたという報告はなかったとされている⁽⁸¹⁾。

3. 食品健康影響評価について

【対象動物に対する影響について】

対象動物であるウシ、ブタへの安全性については、亜急性毒性試験において臨床症状、体重(増体重)、飼料摂取量、飼料要求率、血液検査(赤血球数、白血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット、平均赤血球ヘモグロビン濃度、平均赤血球容積、平均赤血球ヘモグロビン量)、血液生化学検査(血糖、尿素窒素、クレアチニン、グルタミン酸オキザロ酢酸トランスアミナーゼ(GOT)、グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ(GPT)、総ビリルビン、総蛋白、アルブミン、ナトリウム、カリウム、塩素)、剖検(病理解剖検査、臓器重量測定)、病理組織検査が行われている。FDA ではブタでは20ppm、ウシでは90ppmまで有害影響は認められなかったと評価しており^{(3),(4)}、オーストラリアでは特に言及されていない⁽⁸²⁾。当調査会においては、これらの投与量においても血漿クレアチニン濃度の増加が認められており、これは毒性影響というより薬理作用と考えられるものの、厳密な意味での NOEL は求められていないと判断された。ただし、ブタの20ppm(0.6mg/kg 体重/日)投与では個別の結果を対照群と比較した場合には統計学的な有意差は認められておらず、この投与量はNOELの近傍であると考えられる。

【催奇形性について】

催奇形性については、ラットを用いて2世代繁殖試験を兼ねた試験が実施されている⁽⁴⁸⁾。奇形の発生率の上昇は親動物に影響が認められた最高投与量の2000ppm(160mg/kg 体重/日)でのみ認められ、親動物及び子動物に対するNOAELはその下の用量段階である200ppm(15mg/kg 体重/日)であった。この他、非げっ歯類を用いた試験は報告されていない。

催奇形性の試験については、従来まで非げっ歯類(ウサギを推奨)における試験が要求されていたが、日欧米等の国際間で合意に向けた最終段階の調整が進められている最新のVICHの発生毒性試験ガイドライ

ン⁽⁸³⁾においては、ウサギとラットとの比較で催奇形性について多くの場合両動物種の反応性がほぼ同じであったこと、及びウサギがより高感受性を示した場合でもその差は10倍以内であったとする過去の知見の蓄積⁽⁸⁴⁾に基づき、ラットでまず試験を実施することを推奨し、この結果、催奇形性を誘発する投与量が特定でき、さらにその試験で得られた NOEL が ADI 設定の根拠として用いられない場合は、第2の種における試験は必要ないとしている。日本においても本年「動物用医薬品関係事務の取扱いについて」(平成12年3月31日 12-33 農林水産省畜産局衛生課薬事室長通知)の別紙第4、毒性試験法等のガイドラインが更新され、この方針が踏襲された。

塩酸ラクトパミンの催奇形性については、ラットにおける奇形の発生率の上昇は親動物に影響が生じた比較的高用量(160mg/kg 体重/日)でのみ認められることから、選択的な催奇形作用^{bb}ではないと考えられる。また、ラットで特定されたNOAEL(15mg/kg 体重/日)に、非げっ歯類がより高感受性であると仮定して安全係数10を考慮しても、この用量(1.5mg/kg 体重/日)と他の毒性試験等で認められているより低いNOEL(0.125mg/kg 体重/日)とにはまだ安全域があると考えられる。

これらのことから塩酸ラクトパミンについてはウサギの試験は必要でないと判断された。

【遺伝毒性について】

遺伝毒性試験については、*in vitro* で不定期 DNA 合成試験(ラット肝細胞)⁽⁵⁰⁾、Ames 試験^{(51),(52),(53)}、染色体異常試験(培養ヒトリンパ球⁽⁵⁴⁾、培養ヒト全血リンパ球⁽⁵⁵⁾、CHO 細胞⁽⁵⁶⁾)、前進突然変異試験(*Tk*)^{(57),(58),(59)}、*in vivo* で染色体異常試験(マウス骨髄)^{(60),(61)}、小核誘導試験(マウス⁽⁶²⁾、ラット骨髄⁽⁶³⁾)、姉妹染色体交換試験(チャイニーズハムスター骨髄)⁽⁶⁴⁾が実施されている。

In vitro では培養ヒトリンパ球の染色体異常試験及び前進突然変異分析(*Tk*)で陽性と判定される結果が得られている。しかしながら、これらの試験の内容を詳細に検討した結果次のような結論を得た。培養ヒトリンパ球の試験では、通常、染色体異常試験で認められない染色体切断(Chromosome break)が陽性対照を含めて多数観察されており、試験の質に疑義が認められた。また、統計学的には有意となるものの、異常細胞の割合はいずれも10%を超えていなかった。培養ヒト全血リンパ球では、高濃度で弱い染色体異常の誘発が認められているに過ぎない(1000µg/mL で16.5%)。CHO 細胞で観察された diplochromosome は endoreduplication の徴候であると説明されている。この endoreduplication は倍数性の一種で、gene balance に異常を生じる変化ではないため、昨今では重篤な異常ではないと見なされている。一方、前進突然変異分析(*Tk*)については特に+S9 では陽性所見(小コロニーの増加)が複数の試験で認められており、-S9 の場合も、+S9 の場合も、そのメカニズムとして染色体異常が示唆されている。以上の結果から、塩酸ラクトパミンは *in vitro* で染色体異常を誘発することが示唆されたが、強いものではない。

In vivo では、マウス骨髄の染色体異常試験、マウス骨髄の小核誘導試験、チャイニーズハムスター骨髄の姉妹染色体交換試験では明確に陰性の所見が得られている。一方、ラット骨髄の小核誘導試験では、50~200mg/kg の傾向検定で有意となっており、FDA はこの傾向検定をもって50~200mg/kg で染色体異常が認められたと記している。しかしながら、この内容を詳細に検討すると、個々の用量と対照の比較では有意差はなく、背景対照との比較でも大きな差は認められていなかった。さらに追加で実施された400及び600mg/kg の試験では染色体異常の誘発は認められていない。これらのことを考慮すると、ラット骨髄の小核試験についても結果は陰性と判断され、*in vivo* において塩酸ラクトパミンは遺伝毒性を示さないと考えられる。

以上のように、塩酸ラクトパミンは、*in vitro* で染色体異常を誘発することが示唆されたが、*in vivo* にお

^{bb} 母体毒性のないところで起こる催奇形性

ける3種の試験ではいずれも陰性を示した。これらを総合的に考慮した結果、塩酸ラクトパミンは生体にとって問題となるような遺伝毒性はないと判断された。

なお *in vitro* において認められる弱い染色体傷害性には酸化ストレスが関与している可能性が示唆されているが、それだけでは十分に説明できず、さらに解明すべき問題として残されている。

【発がん性について】

慢性毒性試験については、イヌで1年間⁽⁴¹⁾、マウスで21ヶ月間⁽⁴²⁾、ラットで2年間⁽⁴⁶⁾、サルで1年間⁽⁴⁷⁾の試験が実施されている。このうち発がん性については、マウスの21ヶ月間及びラットの2年間で子宮平滑筋腫の発生が認められている。

-作動薬については、げっ歯類に子宮あるいは卵巣間膜に平滑筋腫を発生することが知られており、申請者が第三者機関に依頼した -作動薬の発がん性に関する論文のサーベイランスにおいては⁽⁸¹⁾、soterenol、mesuprine、medroxalol、salbutamol、metaproterenol、terbutaline、salmeterol、bitolterol、pirbuterolの9種のうち、最後の2種を除いたすべてでマウスあるいはラットで子宮あるいは卵巣間膜に平滑筋腫を発生したとする報告が認められた。metaproterenol はさらにマウスに肝細胞腫瘍を発生させたとされている。

これらのことから、げっ歯類の子宮あるいは卵巣間膜の平滑筋腫の発生は -作動薬に広く認められる作用であると考えられる。このうち medroxalol、sulbutamol、terbutaline について、平滑筋腫の誘導が -受容体拮抗薬である propranolol により抑制されたとする報告があり^{(43),(44),(45)}、この -作動薬の発がんの作用機作として -受容体を介する反応であることが示唆されている。ラクトパミンについてこの抑制の確認は行われていないが、遺伝毒性試験の結果から遺伝毒性発がん物質とは認められず、ラクトパミンの長期投与でげっ歯類に認められた子宮平滑筋腫の発生は遺伝子傷害によるものではないと考えられる。

なお、ヒトにおける -作動薬の使用に伴う毒性影響について実施された論文のサーベイランスでは、-作動薬の使用により平滑筋腫が発生したという報告はないとされている⁽⁸¹⁾。

【循環器系への影響について】

塩酸ラクトパミンの投与において観察される毒性及び生理影響のうち、最も鋭敏と考えられるのは循環器系に対する影響と考えられる。このため、塩酸ラクトパミンの試験においては、通常の毒性試験ガイドラインで規定されている試験の他に心拍数、血圧、心電図等の循環器系に対する影響を観察した特殊毒性試験がイヌ、サル及びヒトにおいて実施されている。

イヌについては1年間慢性毒性試験⁽⁴¹⁾において循環器系への影響についてのNOELは求められなかったが、さらに低用量について急性作用が検討され0.002mg/kgのNOELが求められている⁽⁶⁸⁾。なお、この次の用量段階は0.050mg/kgと幅があり、真のNOELは0.002-0.050mg/kgの間にあると思われる。サルについては1年間慢性毒性試験において循環器系への影響を含めNOEL0.125mg/kg体重/日が求められている⁽⁴⁷⁾。ヒトにおいては6名のボランティアに対し0, 5, 10, 25, 40mgの単回漸増投与計画法で心臓血管系機能に関するパラメーターが調べられ、心拍数、血圧、動悸等に影響が認められたのは25mg以上の投与であったが、電気機械収縮時間、左心室駆出時間、円周方向短縮速度といったパラメーターには、10mgでも影響が認められたことから、NOELは5mg/ヒトと判断された⁽⁷¹⁾。

単純な数値の比較では、イヌで最も低い用量で影響が認められている。しかしながら、ラクトパミンに関する影響の内容を詳細に検討すると、イヌでは、特に拡張期の動脈圧に顕著な降下や皮膚発赤が観察されているのに対し、ヒトでは皮膚発赤は認められず、動脈圧は逆に上昇している等、反応に -アドレナリン受容体の分布の差に起因すると思われる差異が認められている。一方、サルにおいて認められた所見は、ヒトと類似していた。

これらのことから、塩酸ラクトパミンのヒト循環器系への影響を評価するにあたっては、イヌよりもサルを用いた試験結果を外挿することが適当と考えられる。

【エンドポイントの選択について】

各種の遺伝毒性試験及び慢性毒性/発がん性併合試験の結果から、塩酸ラクトパミンは遺伝毒性発がん性を示さないと考えられ、ADIを設定することが可能である。

亜急性毒性、慢性毒性/発がん性併合、催奇形性、繁殖毒性試験等の通常評価に用いられる各種試験に加え、ラクトパミンについては -作動薬の薬理作用に関連する指標として、心拍数、血圧、心電図等の循環器系への影響がイヌ、サル及びヒトにおいて調べられている。このうち、最も低い用量で被験物質投与の影響が認められたと考えられる指標は循環器系への影響に関するもので、イヌでは 0.002mg/kg 体重/日、サルでは 0.125mg/kg 体重/日、ヒトでは 0.066mg/kg 体重であった。3者の比較ではイヌで最も低い値で影響が認められているが、循環器系への影響については、先にも触れたように、イヌでは動脈圧を低下させるのに対しヒトでは上昇させる等、ヒトとイヌではその影響に相違点が認められているのに対し、サルとヒトでは類似している。また、サルとヒトの試験を比較すると、サルの試験が 1 年間の長期投与でかつ病理組織学的検査を含めたフルセットの検査が行われているのに対し、ヒトの試験は 6 名のボランティアに対し単回漸増投与計画法で心臓血管系機能に関するパラメーターのみの測定となっている。

このことから ヒトに対する食品健康影響評価を実施する上でのエンドポイントとしては、サルにおける 1 年間慢性毒性試験における循環器系への影響を採用することが最も適当であると考えられた。ただし ヒトにおいて直接の知見が得られていることから、これについてもあわせて考慮すべきであるとされた。

【一日摂取許容量(ADI)の設定について】

塩酸ラクトパミンの ADI はサルの 1 年間慢性毒性試験の NOEL 0.125mg/kg 体重/日に種差 10、個体差 10 の安全係数 100 を考慮して、0.00125mg/kg 体重/日と設定されることが考えられる。

なお、6 名のヒトボランティアにおける心臓血管系の作用についての試験(経口)からは、NOEL 5mg/ヒトが得られており、試験に参加した 6 名の平均体重 75.5kg で体重あたりに補正すると、0.066mg/kg 体重である。ヒト試験については、安全係数として個人差 10 のみが適用される。しかしながら、他の 作動薬の副作用として、動悸、頻脈、心(筋)虚血、不整脈、血圧上昇と心拍数増加等が知られており、冠動脈疾患、心房細動等の心疾患に対してはこの作用が時に強く表れるとされている⁽⁵⁾ように、高リスクと思われる心臓疾患のバックグラウンドレベルがある程度見込まれるのに対して、この試験の対象は限られた人数の健康男性であり限定的であることから、追加の安全係数が適用されるべきであろうと考えられる。また、NOEL の特定で考慮された影響は心電図の微細な変化であり、心拍数や血圧に変化が認められるのは 15mg/ヒト以上の用量である。これらのことを総合的に考慮し、追加の安全係数については 5 を適用するのが適当とされた。安全係数として、個人差 10、追加 5 の合計 50 を用いた場合、ADI は 0.00132mg/kg 体重/日となる。

これらの知見と現時点における国際的慣行⁽⁸⁵⁾で ADI は数的に最も意味のある 1 桁で示すとされていることを考慮すると、塩酸ラクトパミンの残留基準を設定するに際しての ADI としては、0.001mg /kg 体重/日と設定することが適当であると考えられる。

無毒性量(NOEL)	0.125 mg/kg 体重/日 動物種 サル 投与量/投与経路 0.125mg/kg 体重/日 / 経鼻胃挿管 試験期間 1 年間 試験の種類 1 年間慢性毒性
安全係数	100
ADI	0.001mg/kg 体重/日

【食品健康影響評価について】

以上より、塩酸ラクトパミン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切と考えられる。

塩酸ラクトパミン 0.001 mg/kg 体重/日

<参考文献>

1. 塩酸ラクトパミンの残留基準設定に関する資料の概要(未公表)
2. Environmental Assessment for the Use of PAYLEAN® Type a Medicated Article in the Feed of Swine (NADA 140-863)
3. Freedom of Information Summary Original New Animal Drug Application (NADA 140-863) Ractopamine Hydrochloride (Paylean®)
4. Freedom of Information Summary Original New Animal Drug Application (NADA 141-221) Ractopamine Hydrochloride (OPTAFLEXX™45)
5. Hoffman 2001 ; カテコールアミン、交感神経様作用薬およびアドレナリン受容体拮抗薬
グッドマン・ギルマン 薬理書(上) 薬物治療の基礎と臨床 第10版 ; 廣川書店
6. Anderson DB, Veenhuizen EL, Smith CK, Dalidowicz JE, Donoho AL, Williams GD, Jones DJ, A.L. Schroeder, Turberg MP, Guerrero RJ, & Guneratne RJ (1993) ; Ractopamine Hydrochloride A Unique PLE (Phenethanolamine Lean Enhancer) for Swine. Proceedings 11th International Symposium WAVFH, October 24-29, pp. 96-102.
7. Colbert WE, Williams PD & Williams GD ; α -Adrenoceptor Profile of Ractopamine HCl in Isolated Smooth and Cardiac Muscle Tissues of Rat and Guinea-pig;
J. Pharm. Pharmacol. : 1991 (43) , 844-847
8. Mills SE, Kissel J, Bidwell CA, & Smith DJ ; Stereoselectivity of porcine α -adrenergic receptors for ractopamine stereoisomers
J. Anim. Sci. : 2003 (81), 122-129
9. Mills SE, Spurlock ME, & Smith DJ ; α -Adrenergic receptor subtypes that mediate ractopamine stimulation of lipolysis;
J. Anim. Sci. : 2003 (81), 662-668
10. Ricke EA, Smith DJ, Feil VJ, Larsen GL, & Caton JS ; Effects of Ractopamine HCl Stereoisomers on Growth, Nitrogen Retention, and Carcass Composition in Rats
J. Anim. Sci. : 1999 (77), 701-707
11. Williams GD, Pohland RC & Byrd TK (1985g) ; Bioavailability of radiocarbon following the administration of single oral doses of ^{14}C -EL-737 (31537) to F344/N Hsd BR rats.
Unpublished Reports R03985, R04085, & R04185 from Toxicology Division, Lilly Research Laboratories, Division of Eli Lilly and Company, Greenfield, IN, USA.
12. Williams GD & Pohland GD (1985) ; Bioavailability of Radiocarbon Following the Administration of Single Oral Doses of ^{14}C -EL-737 (31537) to Beagle Dogs.
Unpublished Report D02385 from Toxicology Division, Lilly Research Laboratories, Division of Eli Lilly and Company, Greenfield, IN, USA.
13. Williams GD, (1987a) ; Comparative bioavailability of ^{14}C -ractopamine hydrochloride (031537, EL-737) following a single oral dose of 0.125 mg/kg in the dog and monkey.
Unpublished Reports D04686 and P03086 from Toxicology Division, Lilly Research Laboratories, Division of Eli Lilly and Company, Greenfield, IN, USA.
14. Dalidowicz JE, Thomson TD & Herberg RJ (1986) ; ^{14}C - Ractopamine HCl Balance-Excretion Study in Swine.
Unpublished study ABC-0330 from Agricultural Biochemistry, Lilly Research Laboratories, Division of Eli Lilly and Company, Greenfield, IN, USA.
15. Dalidowicz JE & Thomson TD (1989) ; ^{14}C -Ractopamine HCl Balance-Excretion Study in Cattle
Unpublished study ABC-0422 from Agricultural Biochemistry, Lilly Research Laboratories, Division of Eli Lilly and Company, Greenfield, IN, USA.
16. Hunt TL (1994) ; Cardiovascular Activity and Safety of Ractopamine Hydrochloride: Determination of a No-effect Dose.

- Unpublished study T4VLC-ERAA from Pharmaco LSR, 706 Banister Lane, Austin, Texas 78704, USA.
17. Dalidowicz JE, Thomson TD & Herberg RJ (1985) ; ¹⁴C-EL-737 Steady-State Residue Study with Swine Fed the Highest Anticipated Dose.
Unpublished study ABC-0273 from Agricultural Biochemistry, Lilly Research Laboratories, Division of Eli Lilly and Company, Greenfield, IN, USA.
 18. Dalidowicz JE, Thomson TD & Herberg RJ (1985) ; ¹⁴C EL-737 Tissue Depletion Study in Swine.
Unpublished study ABC-0291 from Agricultural Biochemistry, Lilly Research Laboratories, Division of Eli Lilly and Company, Greenfield, IN, USA.
 19. Dalidowicz JE, Lewis JJ & Thomson TD (1986) ; ¹⁴C-Ractopamine HCl Swine Tissue Residue Study.
Unpublished study ABC-0368 from Agricultural Biochemistry, Lilly Research Laboratories, Division of Eli Lilly and Company, Greenfield, IN, USA.
 20. Donoho AL, Macy TD & Cochrane RL (1991) ; Ractopamine Tissue Residue Decline Study in Swine.
Unpublished Report T4V759003 from Animal Science Chemical Research, Lilly Research Laboratories, Division of Eli Lilly and Company, Greenfield, IN, USA.
 21. Dalidowicz JE & Thomson TD (1988) ; ¹⁴C-Ractopamine HCl Tissue Residue Steady-State Study in Cattle.
Unpublished study ABC-0398 from Agricultural Biochemistry, Lilly Research Laboratories, Division of Eli Lilly and Company, Greenfield, IN, USA.
 22. Dalidowicz JE, Lewis JJ, Thomson TD & Herberg RJ (1987) ; ¹⁴C Ractopamine HCl Tissue Depletion Study in Cattle.
Unpublished study ABC-0375 from Agricultural Biochemistry, Lilly Research Laboratories, Division of Eli Lilly and Company, Greenfield, IN, USA.
 23. Smith DJ & Shelver WL (2002) ; Tissue Residues of Ractopamine and Urinary Excretion of Ractopamine and Metabolites in Animals Treated for 7 days With Dietary Ractopamine.
J. Anim. Sci. : 2002 (80), 1240-1249.
 24. Dalidowicz JE (1989) ; Comparative Metabolism of ¹⁴C-Ractopamine HCl in Cattle, Dogs, and Rats.
Unpublished study ABC-0387 from Animal Science Chemical Research, Lilly Research laboratories, A Division of Eli Lilly and Company, Greenfield, IN, USA.
 25. Dalidowicz JE (1987) ; Comparative Metabolism of ¹⁴C-Ractopamine HCl in Swine, Dogs and Rats.
Unpublished study ABC-0369 from Agricultural Biochemistry, Lilly Research Laboratories, Division of Eli Lilly and Company, Greenfield, IN, USA.
 26. Dalidowicz JE (1985) ; ¹⁴C Ractopamine HCl "Nonextractable" Residues in Swine Liver and Kidneys.
Unpublished data related to study ABC-0291 from Agricultural Biochemistry, Lilly Research Laboratories, Division of Eli Lilly and Company, Greenfield, IN, USA.
 27. Smith DJ, Giddings JM, Heil VJ & Paulson GD (1995) ; Identification of Ractopamine Hydrochloride Metabolites Excreted in Rat Bile.
Xenobiotica : 1995(25), No. 5, 511-520.
 28. Smith DJ & Rodewald JM (1994) ; Urinary Excretion of Ractopamine and its Conjugated Metabolites by Humans.
Unpublished study T4V759404 from Lilly Research Laboratories, A Division of Eli Lilly and Company, Greenfield, IN, USA.
 29. Williams GD, McKinley ER & Bridge TL (1985a). ; The acute toxicity of compound 31537 (EL-737) administered orally to the ICR mouse.
Unpublished Reports M0-179-84 and M0-178-84 from Toxicology Division, Lilly Research Laboratories, Division of Eli Lilly and Company, Greenfield, IN, USA.

30. Williams GD, McKinley ER & Bridge TL (1985b) ; The acute toxicity of compound 31537 (EL-737) administered orally to the Fischer 344 rat.
Unpublished Report R-0-133-84 and R-0-132-84 from Toxicology Division, Lilly Research Laboratories, Division of Eli Lilly and Company, Greenfield, IN, USA.
31. Williams GD, McKinley ER & Bridge TL (1985c) ; The acute toxicity of compound 31537 (EL-737) administered intraperitoneally to the Fischer 344 rat.
Unpublished Reports R-P-08-84 and R-P-09-84 from Toxicology Division, Lilly Research Laboratories, Division of Eli Lilly and Company, Greenfield, IN, USA.
32. Williams GD, Negilski DS & Markey TF (1984b) ; The acute dermal, ocular, and inhalation toxicity of compound 31537 (EL-737).
Unpublished Reports BD-82-84, B-E-108-84 and R-H-47-84 from Toxicology Division, Lilly Research Laboratories, Division of Eli Lilly and Company, Greenfield, IN, USA.
33. Williams GD, Negilski DS, Bridge TL & Markey TF (1985f) ; The acute oral, dermal, ocular and inhalation toxicity of a granular premix formulation (AFN-026) containing 10% compound 31537 (EL-737).
Unpublished Reports R-0-188-85, B-D-104-85, B-E-120-85, and R-H-066-85 from Toxicology Division, Lilly Research Laboratories, Division of Eli Lilly and Company, Greenfield, IN, USA.
34. Williams GD (1987b) ; A Three-Month Toxicity Study of Ractopamine Hydrochloride Fed in the Diet to B6C3F1 Mice.
Unpublished study M01584 from Toxicology Division, Lilly Research Laboratories, Division of Eli Lilly and Company, Greenfield, IN, USA.
35. Williams GD (1984) ; A Three-Month Subchronic Toxicity Evaluation of 031537 (Ractopamine Hydrochloride) Administered Orally to Fischer 344 Rats.
Unpublished study R06184 from Toxicology Division, Lilly Research Laboratories, Division of Eli Lilly and Company, Greenfield, IN, USA.
36. Williams GD & Shoufler JR (1993) ; A Subchronic Toxicity Study of Ractopamine Hydrochloride Given by Nasogastric Gavage to Rhesus Monkeys for 6 Weeks.
Unpublished study P00691 from Toxicology Research Laboratories, Lilly Research Laboratories, A Division of Eli Lilly and Company, Greenfield, IN, USA.
37. Williams GD & Stone DN (1987a) ; Special Study: The Effect of Subchronic Administration of Ractopamine Hydrochloride on Heart Rate and Electrocardiographic Waveforms in Conscious Rhesus Monkeys.
Unpublished study P02186 from Toxicology Division, Lilly Research Laboratories, Division of Eli Lilly and Company, Greenfield, IN, USA. .
38. Williams GD, McKinley ER & Bridge TL (1985d). ; 18-Day inhalation study in rhesus monkey.
Unpublished Report P00388 from Lilly Research Laboratories, Division of Eli Lilly and Company, Greenfield, Indiana, USA.
39. Williams GD, Carlson KH & Wolff RK (1989) ; A subchronic inhalation study of ractopamine hydrochloride in rhesus monkeys.
Unpublished Report P06288 from Toxicology Division, Lilly Research Laboratories, Division of Eli Lilly and Company, Greenfield, IN, USA.
40. Williams GD (1987d) ; A Target Animal Safety and Drug Tolerance Study of Ractopamine Hydrochloride Administered in the Diet of Swine During the Finishing Period.
Unpublished study T4VVX8510 from Toxicology Division, Lilly Research Laboratories, Division of Eli Lilly and Company, Greenfield, IN, USA.
41. Williams GD (1987c) ; A Chronic Toxicity Study of Ractopamine Hydrochloride Administered Orally to Beagle Dogs for One Year.
Unpublished study D05885 from Toxicology Division, Lilly Research Laboratories, Division of Eli Lilly and Company, Greenfield,

IN, USA.

42. Williams GD (1998a) ; An Oncogenic Study and Companion Blood Level Study in CD-1 Mice Given Ractopamine Hydrochloride in the Diet for 21 Months.
Unpublished study M04196, M04296 & M04396 from Toxicology Research Laboratories, Lilly Research Laboratories, A Division of Eli Lilly and Company, Greenfield, IN, USA.
43. Gibson JP, Sells DM, Cheng HC & Yuh L (1987) Induction of uterine leiomyomas in mice by medroxalol and prevention by propranolol.
Toxicol. Pathol. : 1987(15), No.4, 468-473.
44. Gopinath C & Gibson WA (1987) Mesovarian leiomyomas in the rat.
Environ. Health Persp. : 1987(73),107-113.
45. Jack D, Poynter D & Spurling NW (1983) Beta-adrenoreceptor stimulants and mesovarian leiomyomas in the rat.
Toxicology : 1983(27), 315-320.
46. Williams GD (1998b) An Oncogenic Study in Fischer 344 Rats Given Ractopamine Hydrochloride in the Diet for 2 Years.
Unpublished study R16696 & R16796 from Toxicology Research Laboratories, Lilly Research Laboratories, A Division of Eli Lilly and Company, Greenfield, IN, USA.
47. Williams GD (1993) ; A Chronic Study to Evaluate the Toxicity of Ractopamine HCl in a Nonrodent Species Whose Cardiovascular Responsiveness Approximates That of Humans Given This Class of Compounds.
Unpublished study P05191 from Toxicology Research Laboratories, Lilly Research Laboratories, A Division of Eli Lilly and Company, Greenfield, IN, USA.
48. Williams GD & Hoyt JA (1987) ; An Eleven-Month Two-Generation Reproduction Study, Including a Teratology Segment, in CD Rats Maintained on Diets Containing Ractopamine Hydrochloride (EL-737, Compound 31537).
Unpublished studies R11385 and R18985 from Toxicology Division, Lilly Research Laboratories, A Division of Eli Lilly and Company, Greenfield, IN, USA.
49. Williams GD (1989) ; A Reproductive Safety Study in Pigs (Gilts) Administered Ractopamine Hydrochloride in the Diet During the Finishing Period.
Unpublished study VX8713 from Toxicology Division, Lilly Research Laboratories, A Division of Eli Lilly and Company, Greenfield, IN, USA.
50. Williams GD, Hill LE & Probst GS (1984a) ; The effect of compound 31537, EL-737, on the induction of DNA repair synthesis in primary cultures of adult rat hepatocytes.
Unpublished Reports 840503UDS2000 and 840508UDS2000 from Toxicology Division, Lilly Research Laboratories, Division of Eli Lilly and Company, Greenfield, IN, USA.
51. Williams GD, Rexroat MA & Probst GS (1984d) ; The effects of EL-737 (compound 31537) on the induction of reverse mutations in *Salmonella typhimurium* using the Ames test.
Unpublished Report 840716AMS2000 from Toxicology Division, Lilly Research Laboratories, Division of Eli Lilly and Company, Greenfield, IN, USA.
52. Williams GD & Thompson CZ (1984) ; The effect of compound 31537, EL-737 on the induction of bacterial mutation using a modification of the Ames test.
Unpublished Report 840507GPA2000 from Toxicology Division, Lilly Research Laboratories, Division of Eli Lilly and Company, Greenfield, IN, USA.
53. Garriott ML & Rexroat MA (1996) ; The Effect of Ractopamine Hydrochloride on the Induction of Reverse Mutations in *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli* Using the Ames Test.

- Unpublished studies 951114AMS2000 and 951205AMS2000 from Toxicology Research Laboratories, Lilly Research Laboratories, A Division of Eli Lilly and Company, Greenfield, IN, USA.
54. Akhurst LC (1995) ; Ractopamine Hydrochloride Metaphase Chromosome Analysis of Human Lymphocytes Cultured In Vitro. Unpublished study DTA 5/941656 from Huntington Research Centre, Ltd., Huntington, Cambridgeshire, PE 18 6ES, England.
 55. Murlı H (1996a) ; Mutagenicity Test On Ractopamine Hydrochloride Measuring Chromosomal Aberrations in Human Whole Blood Lymphocytes With and Without Exogenous Metabolic Activation. Unpublished study 17282-0-449EC from Corning Hazleton Inc. (CHV), 9200 Leesburg Pike, Vienna, VA 22182, USA.
 56. Jackson MS & Garriott ML (1996) ; The Effect of Ractopamine Hydrochloride on the In Vitro Induction of Chromosome Aberrations in Chinese Hamster Ovary Cells. Unpublished studies 951108CAB2000 and 951206CAB2000 from Toxicology Research Laboratories, Lilly Research Laboratories, A Division of Eli Lilly and Company, Greenfield, IN, USA.
 57. Williams GD, Oberly TJ, Bewsey, BJ & Probst GS (1984c) ; The effect of 31537 (EL-737) on the induction of forward mutation at the thymidine kinase locus of L517Y mouse lymphoma cells. Unpublished Report 840627MLA2000 from Toxicology Division, Lilly Research Laboratories, Division of Eli Lilly and Company, Greenfield, IN, USA.
 58. Garriott ML & Yount DJ (1996) ; The Effect of Ractopamine Hydrochloride On The Induction of Forward Mutation At The Thymidine Kinase Locus OF L5178Y Mouse Lymphoma Cells. Unpublished studies 951115MLA2000 and 951219MLA2000 from Toxicology Research Laboratories, Lilly Research Laboratories, A Division of Eli Lilly and Company, Greenfield, IN, USA.
 59. Cifone MA (1996) ; Mutagenicity Test On Ractopamine Hydrochloride In The L5178Y TK+/- Mouse Lymphoma Forward Mutation Assay. Unpublished study 17282-0-431 from Corning Hazleton Inc. (CHV), 9200 Leesburg Pike, Vienna, VA 22182, USA.
 60. Murlı H (1996b) ; Mutagenicity Test On Ractopamine Hydrochloride (compound 031537) Measuring Chromosomal Aberrations In Vivo In Mouse Bone Marrow Cells. Unpublished study 17282-0-451 from Corning Hazleton Inc. (CHV), 9200 Leesburg Pike, Vienna, VA 22182, USA.
 61. Murlı H (1996c) ; Mutagenicity Test On Ractopamine Hydrochloride (compound 031537) Measuring Chromosomal Aberrations In Vivo In Mouse Bone Marrow Cells. Unpublished study 17282-2-451 from Corning Hazleton Inc. (CHV), 9200 Leesburg Pike, Vienna, VA 22182, USA.
 62. Garriott ML, Schwier LS, Parton JW & Williams GD (1993) ; The Effect of Ractopamine Hydrochloride Given Orally for 2 Consecutive Days on the Induction of Micronuclei in Bone Marrow of ICR Mice. Unpublished study 930811MNT2000 from Toxicology Research Laboratories, Lilly Research Laboratories, A Division of Eli Lilly and Company, Greenfield, IN, USA.
 63. Garriott ML, Schwier LS & Parton JW (1996) ; The Effect of Ractopamine Hydrochloride Given Orally by Gavage for 14 Consecutive Days On The Induction of Micronuclei in Bone Marrow of Fischer 344 Rats. Unpublished studies 960610MNT2000 and 960815MNT2000 from Toxicology Research Laboratories, Lilly Research Laboratories, A Division of Eli Lilly and Company, Greenfield, IN, USA.
 64. Williams GD, Neal SB & Probst GS (1985e) ; The effect of compound 31537 (EL-737) on the *in vivo* induction of sister chromatid exchange in bone marrow of Chinese hamsters. Unpublished Report 850121SCE2000 from Toxicology Division, Lilly Research Laboratories, Division of Eli Lilly and Company, Greenfield, IN, USA.
 65. Murphy AT & Gillespie TA (1996) ; Analysis of Mouse Lymphoma Cell Culture Media for Ractopamine and Ractopamine

Catechol using LC/MS/MS.

Unpublished summary document from Toxicology Research Laboratories, Lilly Research Laboratories, A Division of Eli Lilly and Company, Indianapolis, IN, USA.

66. Oberly TJ & Yount DJ (1996) ; Effect of Ractopamine Hydrochloride on the Induction of Forward Mutation at the Thymidine Kinase Locus of L5178Y Mouse Lymphoma Cells:
Unpublished special studies 960313MLA2000, 960409MLA2000, 960416MLA2000, 960423MLA2000, 960723MLA2000, 960730MLA2000, 961015MLA2000, & 961030MLA2000 from Toxicology Research Laboratories, Lilly Research Laboratories, A Division of Eli Lilly and Company, Greenfield, IN, USA.
67. Williams GD & Stone DN (1987b) ; Special Study: The Hemodynamic Effects of Intravenous Administration of Ractopamine Hydrochloride in Anesthetized Dogs.
Unpublished study DC1485 from Toxicology Division, Lilly Research Laboratories, Division of Eli Lilly and Company, Greenfield, IN, USA.
68. Sarazan RD, Main BW & Williams, GD (1993) ; An Acute Cardiovascular Toxicity Study with Ractopamine HCl (Compound 031537) Administered Orally in the Conscious Instrumented Beagle.
Unpublished study DV0193 from Toxicology Research Laboratories, Lilly Research Laboratories, A Division of Eli Lilly and Company, Greenfield, IN, USA.
69. Williams GD & Stone DN (1987c) ; Special Study: The Hemodynamic Effects of Intravenous Administration of Ractopamine Hydrochloride in Anesthetized Monkeys.
Unpublished study P07585 from Toxicology Division, Lilly Research Laboratories, Division of Eli Lilly and Company, Greenfield, IN, USA.
70. Williams GD & Stone DN (1987d) ; Special Study: The Effects of Intravenous Administration of Ractopamine Hydrochloride Compared in Conscious and Anesthetized Monkeys.
Unpublished study P07685 from Toxicology Division, Lilly Research Laboratories, Division of Eli Lilly and Company, Greenfield, IN, USA.
71. Williams GD, Grothe DW & Francis PC (1986d) ; The Acute Toxicity of Ractopamine Hydrochloride (EL-737, Compound 31537) to Rainbow Trout (Salmo gairdneri) in a Static Test System.
Unpublished study F03286 from Toxicology Division, Lilly Research Laboratories, Division of Eli Lilly and Company, Greenfield, IN, USA.
72. Williams GD, Grothe DW & Francis PC (1986e) ; The Acute Toxicity of Ractopamine Hydrochloride (EL-737, Compound 31537) to Bluegill (Lepomis macrochirus) in a Static Test System.
Unpublished study F03186 from Toxicology Division, Lilly Research Laboratories, Division of Eli Lilly and Company, Greenfield, IN, USA.
73. Williams GD, Grothe DW & Francis PC (1986f) ; The Acute Toxicity of Ractopamine Hydrochloride (EL-737, Compound 31537) to Daphnia magna in a Static Test System.
Unpublished study C00786 from Toxicology Division, Lilly Research Laboratories, Division of Eli Lilly and Company, Greenfield, IN, USA.
74. Williams GD, Cochrane RL & Meyerhoff RD (1986a) ; The Toxicity of Ractopamine Hydrochloride (EL-737, Compound 31537) to Juvenile Mallards in a Five-Day Dietary Study.
Unpublished study A00986 from Toxicology Division, Lilly Research Laboratories, Division of Eli Lilly and Company, Greenfield, IN, USA.
75. Williams GD, Cochrane RL & Meyerhoff RD (1986b) ; The Toxicity of Ractopamine Hydrochloride (EL-737, Compound 31537)

- to Bobwhite in a 14-Day Acute Oral Study.
 Unpublished study A00586 from Toxicology Division, Lilly Research Laboratories, Division of Eli Lilly and Company, Greenfield, IN, USA.
76. Williams GD, Cochrane RL & Meyerhoff RD (1986c) ; The Toxicity of Ractopamine Hydrochloride (EL-737, Compound 31537) to Juvenile Bobwhite in a Five-Day Dietary Study.
 Unpublished study A01186 from Toxicology Division, Lilly Research Laboratories, Division of Eli Lilly and Company, Greenfield, IN, USA.
 77. Mercier O (1992) ; Test To Evaluate Sensitizing Potential In The Guinea-Pig.
 Unpublished study 207309 from Hazleton France, Les Oncins, B.P. 0118, 69593 L'Arbresle Cedex, France.
 78. Lewis JJ (1985) ; Antimicrobial activity of ractopamine hydrochloride.
 Unpublished study JIL8505 from Lilly Research Laboratories, Division of Eli Lilly and Company, Greenfield, IN, USA.
 79. Sears MR (2002); Adverse effects of β_2 -agonists ;
 J. Allergy Clin Immunol : 2002 (110), No.6, 322-328
 80. The 2004 Prohibited List International Standard ; World anti-doping agency Update 17 March 2004
 81. CANTOX ; Responses to commentary regarding Ractopamine hydrochloride by the Joint Expert Committee on Food Additives, August, 2000 (Unpublished)
 82. Public Release Summary on Evaluation of the new active RACTOPAMINE HYDROCHLORIDE ; Australian Pesticides and Veterinary Medicines Authority (July 2003)
 83. VICH GL32 ; Studies to Evaluate the Safety of Residues of Veterinary Drugs in Human Food : Developmental Toxicity Testing
 84. Hurtt ME, Cappon GD, Browning A (2003) ; Proposal for a tiered approach to developmental toxicity testing for veterinary pharmaceutical products for food-producing animals.
 Food Chem Toxicol. : 2003 (41), No.5, 611-619
 85. WHO TRS 799 (1990)

参考 1

塩酸ラクトパミンの食品健康影響評価について(審議経緯)

- 平成16年4月16日 厚生労働大臣より食品安全委員会委員長に食品健康影響評価の要請（平成16年4月16日付厚生労働省発食安第0416006号）
- 平成16年4月22日 第42回食品安全委員会において厚生労働省より意見聴取
- 平成16年6月15日 第12回動物用医薬品専門調査会において調査審議
平成16年7月22日 第14回動物用医薬品専門調査会において調査審議
平成16年8月27日 第15回動物用医薬品専門調査会において調査審議
- 平成16年9月9日 第61回食品安全委員会において動物用医薬品専門調査会報告書（案）の報告
- 9月9日～10月6日 専門調査会報告書に対する御意見・情報の募集
- 11月2日 動物用医薬品専門調査会座長より食品安全委員会委員長に食品健康影響評価結果について報告

塩酸ラクトパミンに関する御意見・情報の募集結果について

1. 実施期間 平成16年9月9日～平成16年10月6日
2. 提出方法 インターネット、ファックス、郵送
3. 提出状況 2通（1通に複数意見の記載の場合あり）
4. 主な御意見の概要及びそれに対する動物用専門調査会の回答

	御意見・情報の概要	専門調査会の回答
1	<p>一般的に動物実験の結果から ADI を求める場合は、最も感受性の高い動物で得られた無作用量（NOEL）を基に算出されている。しかし、本報告書では最も感受性の高いイヌを用いず、サルのデータを用いている。この点をどのように理解すべきであるか。仮にヒトとサルが類似しているという理由であるならば、動物実験はサルについてのデータを要求すべきであると考え。食品安全委員会における ADI 算出の原則について明確な回答をお願いしたい。</p>	<p>塩酸ラクトパミンについては、心臓血管系に対する作用についてイヌ及びサルの試験結果が提出されており、両者の反応が異なることが示されています。また、ヒトにおいてはこの両者のうち、サルと類似した反応を示すことも明らかにされています。食品健康影響評価は対象薬剤をヒトが食品を介して摂取した際の影響を評価するものですので、上記のような科学的知見が得られている場合、サルにおける試験結果を採用して評価することが科学的により妥当であると考えます。</p>
2	<p>毒性試験の考え方がヒトのみの結果、あるいは近似する動物種で良いとする根拠を示されたい。もし、ヒトのデータがあれば良いとするのであれば、その例数はどの程度を設定するのか。本データでは6例しかなく、この程度でよいとするのか。心臓疾患リスクを考える場合の係数を5とする根拠は何か。本試験における NOEL を5 mg / ヒトであるが、被験者の平均体重75.5 kg で補正した理由はなぜか。 心臓疾患のバックグラウンドレベルというのはどういうことなのか。</p>	<p>1.でも回答していますが、ヒトに近似する動物の試験であることが重要なのではなく、ヒトにおける影響を最も適切に外挿できると考えられる試験であることが科学的評価では重要と考えています。これに基づき、当調査会の結論はサルの慢性毒性試験の NOEL に基づいて ADI を設定することが最も適当であるとしつつ、ヒトにおけるデータについても参照したものであり、ヒトのデータを単純に採用したものではありません。ヒトの試験については、内容が限定的である一方で、観察された影響が微細であることを総合的に考慮して通常の10に加えて追加の係数を適用するのが適当であると判断したものです。なお、個人差が著しい体重について補正を行うことは、ヒト全般に対する客観的な評価をするために当然であると考えます。また、心疾患と 作動薬の関係については、評価書に加筆しました。</p>
3	<p>塩酸ラクトパミンは、in vitro で染色体異常を誘発することが示唆されたが、in vivo の3種類の試験で陰性を示した。食品安全委員会はこれらを総合的に考察した結果、塩酸ラクトパミンは生体にとって問題となるような遺伝毒性はないものと判断している。 遺伝毒性の結果について in vivo 試験の結果を優先させた理由はなぜか。更に報告書22ページには in vitro 試験結果について、さらに解決すべき問題として残されていると記載されている。この点についても説明をお願いしたい。当会は in vitro で染色体異常を示すことから、塩酸ラクトパミンが非遺伝子傷害性発がん物質であると判断できないと考える。</p>	<p>食品健康影響評価において重要なのは、生体においてどのような影響が生じるかを判断することであり、遺伝毒性を評価するにあたって in vivo の試験が優先されるのは定法であると考えています。in vitro の試験結果についてさらに解明すべきとしているのは、現在示された情報は、in vitro において示された現象のメカニズムの解明には不十分であるということを示したものです。</p>

4	<p>報告書 2 1 ページには VICH (動物用医薬品の承認審査資料の調和に関する国際会議) の発生毒性ガイドライン及び農水省課長通知から、ラットでまず試験を実施することを推奨し、この結果、催奇形性を誘発する投与量が特定でき、さらにその試験で得られた NOEL が ADI 設定の根拠として用いられない場合は、第 2 の種おける試験は必要ないとされている。当会は、催奇形性に係る国際的なガイドラインを調査し、次のような結果を得た。OECD の化学物質テストガイドラインではげっ歯類でラット、非げっ歯類としてうさぎを推奨している。EU の食用動物における残留動物用医薬品の設定のためのガイドラインでは、2 種類の動物種を用いるべきであり、通常ラット及びウサギを用いるとされている。IPCS(国際化学物質安全性計画)の環境保健クライテリアでの食品中の残留農薬の毒性アセスメントに係る原則、8.3.3.2 の催奇形性の項目では、ラット、マウス、うさぎを使用し、種特異性を考慮するためにさらに 1 種類以上の動物を用いるように記述されている。以上のように、国際的ガイドラインではいまだ 2 種類以上の動物を用いるべきであると勧告されている。当会は、毒性試験における催奇形性の項目は 2 種類以上の動物種を用いることが要件であると考え。食品安全委員会は農水省通知に踏襲するだけでなく、追加試験としてうさぎを行うこと、または 2 種類以上の動物を用いた試験を要求すべきである。当会では最終結論の出していないガイドラインについてあくまで参考とし、催奇形性の項目ラットの高用量で奇形が発生しているという点を重大に受け止め、更なる試験を求めると考える。</p>	<p>塩酸ラクトパミンの催奇形性については、高用量で催奇形性が認められていました。しかしながら、母体毒性に伴ったもので選択的催奇形性ではなく、その NOAEL も他の毒性試験で特定された NOEL に対して約 100 倍高いものでした。また、他の動物用医薬品やヒト医薬品として使用されている 作動薬についても、選択的催奇形性が認められたという報告はありません。これらのことから、塩酸ラクトパミンについては、催奇形性の NOAEL と他の毒性の NOEL について十分な安全域があると認められると判断され、このため、追加でウサギの試験を実施する必要ないとされたものです。</p> <p>なお、ガイドラインは基本的な要求事項を定めたものですので、催奇形性が懸念される要件が認められた場合には、これに係わず第 2 の種の知見が必要となるものと考えています。</p>
5	<p>げっ歯類の子宮あるいは卵巣間膜の平滑筋腫の発生は、作動薬に広く認められている作用である。このうち、medroxlol, sulbutamol, terbutaline について、平滑筋腫の誘導が 受容体拮抗薬である propranolol により抑制されたとする報告があり、塩酸ラクトパミンの長期投与でげっ歯類に認められた子宮平滑筋腫の発生は遺伝子傷害によるものではないと考えたと記述されている。しかし、当会は塩酸ラクトパミンについてこの抑制の確認を行ったものではないこと、塩酸ラクトパミンが非遺伝子傷害性物質であるとは認められないこと、以上の 2 点から塩酸ラクトパミンの長期投与でげっ歯類に認められた子宮平滑筋腫の発生は遺伝子傷害によるものではないと結論付けることに無理があると考え。</p>	<p>3 . で回答いたしました。当調査会では、塩酸ラクトパミンについては、<i>in vivo</i> においては遺伝毒性を示さないと判断しており、このことからげっ歯類における子宮平滑筋腫の発生は遺伝子傷害によるものではないと考えています。</p>

<p>6</p>	<p>1993 年 JECFA (WHO Foodadditives Series No.31)では再評価として以下の項目を要求している。この点(上記と重複する部分もあるが)について食品安全委員会でどのように評価したかを知りたい。</p> <ul style="list-style-type: none"> ・小核試験のような in vivo の遺伝毒性試験 ・本剤の薬理学的特性に関する十分な調査 ・本剤により引き起こされる作用に対する 1 及び 2 受容体の関与 ・本剤の薬理効果について最も感度の高い測定法、感受性の高い動物種を確立するための十分な根拠 ・ヒトに対する薬理的な NOEL を設定する項目の正当性と有用性 ・経口投与時のヒトと実験動物における 受容体刺激時の薬理的なパラメーターの検討 関連するすべての作用について、その発現と最大薬効を明らかにする動物実験の適切な観察時期・期間の設定 ・残留した畜産物を長期に摂取すると予測されるので、ヒトに長期に 受容体薬を投与した際の薬効以外のすべての作用の検討 	<p>これらについては、本評価書中に記載されている</p> <ul style="list-style-type: none"> ・ 2-2. 毒性試験の(5)遺伝毒性試験 ・ 1. 薬剤の概要の(3)その他 ・ 2-2. 毒性試験の(6)心臓血管系に対する特殊毒性試験 ・ 2-2. 毒性試験の(9)ヒトにおける知見について <p>の項で検討されていますのでご参照下さい。</p>
----------	--	---