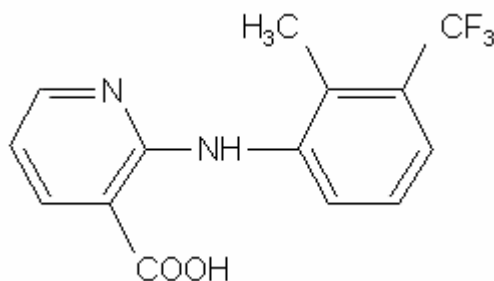


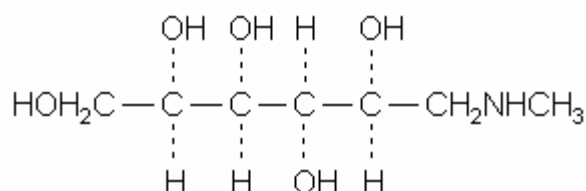
フルニキシンメグルミンの食品健康影響評価について(案)

1. 薬剤の概要

(1)物質名(Ⅱ-2)



フルニキシン(Flunixin)



メグルミン(Meglumine)

分 子 式 : $C_{14}H_{11}F_3N_2O_2 \cdot C_7H_{17}NO_5$

分 子 量 : 491.46 (メグルミン塩)

常温における性状 : 白色結晶

融 点 : $134 \sim 140^\circ C$ 溶 解 度 : $271g/L(20^\circ C, H_2O)^a$

分 配 比 : 0.91(クロロホルム/水)、2.98(酢酸エチル/水)、2.26(オクタノール/水)

(2) 効能・効果(輸入申請書)

フルニキシンは非ステロイド性抗炎症薬(NSAIDs)で、多くの例では可溶化のためにメグルミン塩の形態で製剤化されている。作用機作としては、生体のアラキドン酸カスケード中のシクロオキシゲナーゼを阻害し、炎症の伝達物質であるプロスタグランジン類やトロンボキサン類の生合成を抑制することにより、鎮痛・抗炎症作用を発揮する。国内ではウマの炎症、疼痛、疝痛の緩和・鎮痛の目的で1日1回フルニキシンとして1.0mg/kg 体重を静脈内投与して使用される。休薬期間は2日である。

米国で1977年にウマ用に承認されて以後、米国、欧州各国、オーストラリア、中南米やアジア諸国を含め40ヶ国以上で使用されている。国内の承認は現在ウマのみであるが、諸外国ではウシ、ブタについても広く使用されている。

2. 毒性試験の概要

2-1.吸収・分布・代謝・排泄

(1) 吸収・排泄

【ラットにおける筋肉内投与試験】(X2、X3)

雄SDラットに3位のカルボキシル基の炭素を標識した ^{14}C -標識フルニキシンメグルミンを筋肉内投与(10mg/kg 体重^b)し、1、6、24、48時間後の血液及び各組織中濃度が検討されている。

血漿中薬剤濃度は投与1時間後に最高値を示し、そのときの濃度は $15.60\mu g\text{-eq/g}$ であった。その後24時

^a 飽和溶液のpHは8.29に上昇。

^b フルニキシン遊離酸としての投与量

間後には 0.09 μ g-eq/g、48 時間後には 0.02 μ g-eq/g となった。血液中濃度は血漿中より低く、赤血球中への浸透は少ないと考えられた。48 時間までに回収された総放射能活性は糞から 38.04%、尿から 34.40%、呼吸から 20.92%であり、体内には 6.26%が残存していた。呼吸からの回収は血漿中よりも糞中の濃度と相関が高かったことから、腸内細菌によって標識部位の炭素が除去され、腸管から吸収された後、代謝を受けて排出されたものと推測されている。(X 2)

雄 SD ラット 5 匹に 3'位のトリフルオロメチル基の炭素を標識した 14 C-標識フルニキシメグルミンを筋肉内投与(10mg/kg 体重^c)し、96 時間後までの排泄が検討されている。

投与後 48 時間までに回収された総放射能活性は糞から 61.09%、尿から 29.22%であった。投与後 96 時間では糞から 62.87%、尿から 29.52%となった。(X 3)

【ウマにおける投与試験】(X 1、X II-2)

サラブレッド及びスタンダードブレッドを用いたフルニキシメグルミンの 1mg/kg 体重の静脈内あるいは経口投与における、全血中の $C_{\max}$ 、 $T_{\max}$ 、 $T_{1/2}$ は次の通りであった。それぞれの投与形態について 4 頭が用いられたが、内訳は記載されていない。静脈内投与では、投与後の血中濃度は約 10 μ g/mL に達しその後二相性の減少を示した。 $T_{1/2}$ (β 相)は 1.6 時間であった。経口投与では $T_{\max}$ は 30 分以内で、その時の $C_{\max}$ は約 3 μ g/mL、 $T_{1/2}$ (β 相)は 4.04 時間であった。見かけ上の生物学的利用率は約 80%であった。なお、減衰曲線のデータから、第三相があるかもしれないと考察されているが、12 時間以降の測定において検出されたフルニキシメグルミン量は痕跡程度であった。(X 1)

雌軽種馬 6 頭にフルニキシメグルミンとして 2.2mg/kg 体重/日を 5 日間連続注射し、最終投与後 1, 2, 3, 6, 12, 18, 24, 48 時間後の血漿を採取して濃度変化を調査した。いずれも投与後 1 時間の時点で最高値(5.0-12 μ g/g)を示し、その後減少して 24 時間後には全ての個体で検出限界未満となった。(X II-2)

【イヌにおける投与試験】(別刷 1、EMEA)

ビーグル犬(雌雄各 5 頭/群)に 0、0.01、0.05、0.15、0.40、0.60mg/kg 体重/日^dの用量で 90 日間胃管栄養投与した。初回及び最終投与後とも、 $T_{\max}$ は 0.5 時間、その時の $C_{\max}$ は用量順に初回投与後の雄で 0.0340、0.151、0.527、1.27、2.20、雌で 0.0390、0.158、0.497、1.45、2.15、最終投与後の雄で 0.0295、0.143、0.424、1.20、1.97、雌で 0.0331、0.143、0.510、1.39、2.23 であり、連続投与による蓄積性は認められなかった。(別刷 1)

イヌにフルニキシメグルミン 2mg/kg 体重を静注、皮下及び経口で投与したときの $C_{\max}$ 、 $T_{\max}$ 、 $T_{1/2}$ は次の通りであったと報告されている。

経口投与においては投与 45 分後に $T_{\max}$ に到達し、そのときの $C_{\max}$ は 4.3 μ g/mL であった。血漿中濃度は 12 時間までに 0.05 μ g/mL 以下に減少し、 $T_{1/2}$ は 10 時間であった。皮下投与では 1 時間以内に $T_{\max}$ に到達し、そのときの $C_{\max}$ は 3.0 μ g/mL であった。血漿中濃度は 18 時間までに 0.029 μ g/mL 以下に減少し、 $T_{1/2}$ は 9 時間であった。静脈投与においては 3 分で $T_{\max}$ に到達し、そのときの $C_{\max}$ は 10.3 μ g/mL であった。血漿中濃度は 12 時間までに 0.035 μ g/mL 以下に減少した。これらから計算した生物学的利用率は、経口投与で 97%、

^c フルニキシメグルミン遊離酸としての投与量

^d 遊離酸換算値

皮下投与で 92%であった。(EMA)

【サルにおける投与試験】(EMA)

サルにおける ^{14}C -標識フルニキシメグルミン 5.0mg/kg 体重(遊離酸)の筋肉内投与において、 $T_{\max}$ は 24 分以内であった。排泄は糞中に 33-37%、尿中に 63-68%であった。

【その他の知見】(FDA)

フルニキシンは血漿たん白質と高度に結合することが知られており、また、胆汁を通じて消化管に排泄されるとされている。消失については数多くの論文が存在しているが、 $T_{1/2}$ は論文間でばらつき認められている。これには計算に用いる下限値の取り方をはじめ、いくつかの因子が関係していると考えられるが、その一つとしてフルニキシンが炎症組織に保持されることが指摘されている。(FDA)

(2) 代謝

【ラットにおける体内分布】(X2, FDA)

雄 SD ラット 24 匹に 3 位のカルボキシル基の炭素を標識した ^{14}C -標識フルニキシン 10mg/kg を筋肉内注射し、1、6、24、48 時間後にそれぞれ 6 匹を用いて小腸、血漿、血液、肝臓、腎臓、筋肉(注射部位及び対照部位)、大腸、下垂体、脾臓、副睾丸脂肪、肺、心臓、骨髄、下部腹腔脂肪、胃、精巣、胸腺、副腎、脾臓、甲状腺、脳、眼球の各組織の残留量及び小腸、大腸、胃内容物の放射活性を測定した。投与 6 時間後までの放射活性は小腸が最も高く、投与 1 時間の時点 41.00 $\mu\text{g-eq/g}$ 、6 時間の時点では 24.88 $\mu\text{g-eq/g}$ であった。小腸の放射活性はそれ以降は急速に低下した。大腸の放射活性は投与 6 時間後に最大(17.32 $\mu\text{g-eq/g}$)となり、その後低下した。これらはそれぞれの内容物の活性の消長と一致していた。48 時間後の時点では全ての臓器で 0.4 $\mu\text{g-eq/g}$ 未満となった。この時点で最も高い放射活性を示したのは肝臓で 0.31 $\mu\text{g-eq/g}$ であった。

血漿と腎臓における放射活性物質は TLC で 3 種に分離した。大部分は未変化体で、原点に保持されたスポットが少量、その他中間の R_f 値を持つスポットがごくわずかに認められた。血漿と腎臓の代謝物組成は類似していた。

尿及び糞中の放射活性物質は TLC で 5 種に分離した。尿中では未変化体が約 43%、原点に保持されたスポットが約 56%、その他 1%程度の低極性代謝物が認められた。糞中では未変化体が約 34%、原点に保持されたスポットが約 48%、その他 18%程度の低極性代謝物が検出された。Glusulase 処理により未変化体が増加し低極性代謝物も若干増加したが、原点のスポットは減少したことから、これは抱合体と考えられた。経時的に見ると、投与後 1 時間の時点で小腸に未変化体及び抱合体が認められ、その後大腸、糞へと移行した。この間に大腸及び糞便から低極性代謝物が検出され、消化管微生物による代謝が示唆された。

(X2)

SD ラット(雌雄各 3 匹)に ^{14}C -標識フルニキシン 10mg/kg を 7 日間胃管投与における、尿、糞、肝臓及び腎臓中の代謝物が同定されている。排泄は尿中に 33-40%、糞中に 39-40%であった。代謝物は未変化体、4'-水酸化体、5-水酸化体、2'-MeOH 体、フルニキシン及び水酸化体の抱合体、フルニキシンメチルエステルが同定された。内訳は雄の尿中で順に 57.1、1.9、1.2、10.2、15.2、ND、雌の尿中で 50.0、1.7、7.8、10.1、15.6、ND、雄の糞中で 15.0、6.6、4.7、11.6、19.4、ND、雌の糞中で 14.2、8.1、3.6、7.8、26.4、ND、雄の肝臓で 87.1、ND、0.01、ND、ND、0.38、雌の肝臓で 82.3、ND、1.7、0.59、ND、0.05、雄の腎臓で 91.0、ND、1.7、0.38、ND、0.46、雌の腎臓で 69.0、ND、ND、ND、ND、11.3%であった。(FDA)

【ウマにおける体内分布】(X II-2, 3)

雌軽種馬 6 頭にフルニキシンとして 2.2mg/kg 体重/日を 5 日間連続注射し、最終投与後 2 及び 7 日後に 3 頭ずつを用いて組織中濃度を検討した。筋肉、肝臓、腎臓、脂肪、小腸のいずれの組織においても検出限界未満であった。(X II-2)

同様に雌軽種馬 6 頭にフルニキシンとして 2.2mg/kg 体重/日を 5 日間連続注射し、最終投与後 2 及び 7 日後に 3 頭ずつを用いて組織中濃度を検討した。筋肉、肝臓、腎臓、脂肪、小腸のいずれの組織においても検出限界未満であった。(X II-3)

2-2.毒性試験

(1)急性毒性試験(IV-1, 2, 3, 4, 5)

経口投与による LD₅₀ はマウス(CFL)の雄で 327(197)^e mg/kg 体重、雌で 170-234(102-141)mg/kg 体重^f、ラット(CD)の雄で 113(68)mg/kg 体重、雌で 130(78)mg/kg 体重であった。皮下投与では、マウス(ICR)の雄で 379(229)mg/kg 体重、雌で 256(154)mg/kg 体重、ラット(SD)の雄で 230(139)mg/kg 体重、雌で 171(103)mg/kg 体重であった。静脈内投与では、マウス(CF No.1；雌雄各 5 匹合計)で 111(67)mg/kg 体重、ラット(CD)の雄で 90(54)mg/kg 体重、雌で 92(55)mg/kg 体重であった。筋肉内投与では、マウス(CF No.1；雌雄各 5 匹合計)で 306(184)mg/kg 体重、ラット(CD；雌雄各 5 匹合計)で 180(109)mg/kg 体重であった。

中毒症状として間代性痙攣、立毛、腹部膨満等が観察され、剖検では生存個体、死亡個体とも消化管粘膜の潰瘍、臓器の癒着が認められた。

(2)亜急性毒性試験

【ラットを用いた 28 日間亜急性毒性試験】(V-1)

CD ラット (雌雄各 20 匹/群)を用いた筋肉内(0、1、2、4mg/kg 体重/日^g)投与における 28 日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。各群 10 匹は 14 日の時点で中間剖検に供された。投与期間中に死亡例は認められなかった。

一般的な臨床症状観察、体重変化、摂餌量に特に被験物質の投与に起因した影響は認められなかった。

血液学的検査では、2 週及び 4 週時に血液を採取して実施したが、4mg 投与群の雌の 2 週時点で Ht 及び Hb の低値が認められた。

血液生化学的検査、尿検査、臓器重量、眼検査(間接検眼鏡)、剖検では、特に被験物質の投与に起因した影響は認められなかった。

病理組織学的検査では、注射部位に筋変性、出血、線維増殖、細胞増殖が認められ、頻度及び範囲は投与群でより顕著であった。

本試験における NOAEL は 2 mg/kg 体重/日であった。

【ラットを用いた 13 週間亜急性毒性試験】(V-2)

^e () 内は遊離酸換算値

^f 回帰が有意でなかったため p<0.10 範囲値を記載

^g 遊離酸換算値

CD ラット (雌雄各 20 匹/群)を用いた筋肉内(0、1.5、3.0、6.0mg/kg 体重/日^h)投与における 13 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、3.0mg 以上の投与群で跛行が認められた。また、1.5mg 投与群で 2 匹、3.0mg 投与群で 20 匹、6.0mg 投与群の 7 匹の頸部と前肢に湿疹性病変、痂皮または脱毛が認められた。なお、投与期間中に対照群 1 例が死亡し、6.0mg 投与群の 2 例が死亡、2 例が安楽死処分された。6.0mg 投与群の 4 例はいずれも腸管潰瘍が認められた。

体重変化では 6.0mg 投与群の雌雄で体重の低値が認められた。飼料摂取量では、6.0mg 投与群の雄で全投与期間中、雌で最初の 5 週間で減少が認められた。

眼検査(間接検眼鏡)では特に異常は認められなかった。

血液学的検査では、3.0mg 以上投与群の雌で Hb の低値が認められた。Hb の低値は 6.0mg 投与群の雄でも認められた。他に 6.0mg 投与群の雌雄で好中球の増加、雄で Ht の低値、平均部分プロトロンビン時間の短縮が認められた。

血液生化学的検査、尿検査では、特に被験物質の投与に起因した影響は認められなかった。

臓器重量では、6.0mg 投与群の雄で心臓と肝臓の絶対重量の低値が認められたが、これらは体重減によるものと考えられた。

剖検では、3.0mg 投与群の雌 2 匹、6.0mg 投与群の雄 2 匹と雌 7 匹で腸間膜リンパ節の拡大、胃腸管壁の厚さの異常、腸管癒着、消化管の充血、穿孔が認められた。試験期間中に死亡あるいは瀕死となった 6.0mg 投与群のラットでは腸管の穿孔と癒着を含む腹膜炎、消瘦、脾臓の浮腫、粘液性腸管粘膜、腸管壁の異常、腹水が認められた。また 1.5mg 投与群と 3.0mg 投与群の少数に注射部位の出血が認められた。

病理組織学的検査では、注射部位に線維増殖、筋細胞壊死が全ての投与群認められた。3.0mg 投与群の 1 例、6.0mg 投与群の 6 例で、穿孔性の重度の腸または胃の潰瘍あるいはびらんが認められた。6.0mg 投与群の 6 例で腸間膜リンパ節の浮腫が認められた。

本試験における NOAEL は 1.5 mg/kg 体重/日であった。

【イヌを用いた 90 日間亜急性毒性試験】(別刷 1)

ビーグル犬(雌雄各 5 頭/群)を用いた胃管栄養(0、0.01、0.05、0.15、0.40、0.60mg/kg 体重/日ⁱ)投与における 90 日間の亜急性毒性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。

一般的な臨床症状観察では特に異常は認められなかった。また、試験期間中に死亡した動物はなかった。

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、糞中の潜血、眼検査(間接検眼鏡)、心電図、臓器重量、剖検及び病理組織学的検査、さらに投与前及び投与 5 週目と 12 週目に測定された体温、呼吸数、心拍数、血圧、網膜電(位)図に被験物質の投与に起因した異常は認められなかった。

本試験における NOAEL は 0.60mg/kg 体重/日であった。

【サルを用いた 13 週間亜急性毒性試験】(別刷 2)

アカゲザル(雌雄各 4 頭/群、最高用量は雌雄各 2 頭)を用いた筋肉内(0、5、15、45、60mg/kg 体重/日^j)投与による 13 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被験物質の投与に起因すると考えられるいくつかの所見が認められた。全て

^h 遊離酸換算値

ⁱ 遊離酸換算値

^j 遊離酸換算値

の投与群で注射部位の局所反応が用量相関的に認められたが、5mg 投与群の反応は肉眼的には硬結が1頭で認められたのみで、これは3週以降には消失した。15mg 以上投与群ではしばしば嘔吐が認められた。45,60mg 投与群の各3頭に40日から筋量低下、消瘦、グルーミングの停止が認められた。投与群では潜血便が5mg 投与群の1頭、15mg 以上の投与群で各3頭に認められた。また、45mg 投与群の1頭が状態悪化のため試験途中で安楽死処分された。心拍数、呼吸数、体温、眼検査、心電図に影響は認められなかった。

体重変化、飼料摂取量では、45mg 以上投与群で増体重と飼料摂取量の減少が認められた。

血液学的検査では、45mg 以上投与群で Ht、Hb の低値が認められた。また、統計学的に有意ではないが RBC の低値が認められた。

血液生化学的検査では、15mg 以上投与群の雄及び 45mg 以上投与群の雌でアルブミンの減少、45mg 以上投与群の雌雄で総たん白質の減少と AP の低値が認められた。

尿検査では、特に被験物質の投与に起因した影響は認められなかった。

臓器重量に特に被験物質の投与に起因した影響は認められなかった。

剖検、病理組織学的検査では、全ての投与群で注射部位の局所反応が認められ、60mg 投与群の1頭で消化管の潰瘍が認められた他には特に被験物質の投与に起因した異常は認められなかった。

本試験における NOAEL は 5 mg/kg 体重/日であった。

(3)慢性毒性試験

【ラットを用いた1年間慢性毒性試験】

CD 系ラット(Crl : CD(SD)BR ; 雌雄各 30 匹/群)を用いた混餌 (雄 ; 0、0.98、1.98、5.98、雌 ; 0、0.98、1.99、6.05 mg/kg 体重/日^k)投与による1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。

一般的な臨床症状観察では、高用量群で泌尿器の汚れ、運動失調、振戦、蒼白化、呼吸困難、活動低下、消瘦、無排便もしくは異常便等が認められ、雌雄とも死亡率の増加が認められた。試験中に死亡または安楽死処分された動物数は用量順に 13、7、3、22 匹^lで、高用量群の 22 匹のうち 16 匹には消化管の潰瘍が認められた。

体重変化では、高用量群雄で体重増加量が減少し、体重も対照群と比較して低値を示した。雌では有意ではないが同様の変化が認められた。

飼料摂取量では高用量群の雄で低下が認められた。高用量群では体重の低値が認められているが、飼料摂取量を体重当たりで補正した場合他の群との差は認められず、雌ではむしろ増加していた。

糞便中の潜血の検出率は 28 及び 40 週の時点では高用量群の雄で統計学的に有意な高頻度であった。52 週の時点では中用量群の雄及び高用量群の雌雄で有意となった。

眼検査では特に投与に起因した異常は認められなかった。

血液学的検査では、高用量群で Hb、Ht、MCH の低下、PLT、白血球(好中球)の増加が認められた。

血液生化学的検査では、高用量群の雌雄でアルブミン、グロブリン及び総たん白質が減少し、雄の 39 週ではカルシウムの低下が認められた。

尿検査では、特に投与に起因した異常は認められなかった。

臓器重量では、脾臓について中用量の雄で絶対重量、高用量の雌雄で相対及び絶対重量の増加が認められた。

^k 遊離酸換算値。投与量は各週毎の体重及び飼料摂取量により調整。

^l 対照群の 7 匹、低用量群の 4 匹、高用量群の 2 匹は採血時の事故で死亡。

剖検では、高用量群で腹腔の膿瘍、癒着、腹水、滲出液、腹膜炎、消化管(胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸)に癒着、潰瘍、肥厚、粘膜や漿膜の脱色等、肝臓の癒着や腹膜炎、脾臓の癒着や肥大、リンパ節(腸間膜、胃、盲腸、結腸及び／又は臍十二指腸)の肥大や嚢胞、体の蒼白が認められた。中用量群の雄でも空腸の癒着、脾臓の肥大、腸間膜リンパ節の肥大が認められた。

病理組織学的検査では、中用量群の雄及び高用量群の雌雄で腎臓に乳頭壊死が認められ、消化管に消化管壁の炎症を伴う潰瘍やびらんが認められた。これらは通常、腹膜炎、漿膜炎を起こしていた。また、腹部のリンパ節に反応性過形成、脾臓及び骨髓の造血亢進、心房血栓が認められた。

これらの所見のうちのいくつかは、被験物質の消化管の傷害に伴う二次的影響を示したものと推測された。体重増加量の減少は、飼料摂取量の低下よりも消化管の傷害による飼料効率の低下、貧血等の血液学的検査の異常や脾臓、リンパ節の肥大は出血による造血亢進によるものと考えられた。

本試験における NOAEL は 0.98 mg/kg 体重/日であった。

【マウスを用いた2年間発がん性試験】

CD-1 マウス(雌雄各 60 匹/群)を用いた混餌 (雄 ; 0、0.5、1.8、5.4、雌 ; 0、0.6、2.2、6.7mg/kg 体重/日^m) 投与による2年間の発がん性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。

一般的な臨床症状観察では、特に被験物質の投与に起因した異常は認められなかった。

体重変化では、高用量群の雌で一時的に低値が認められた。試験終了時では対照群と比較して 4-9%の低値を示したが有意差は認められなくなった。

飼料摂取量では、特に被験物質の投与に起因した異常は認められなかった。

血液学的検査では、高用量群の雌で赤血球数、Hg、Ht の低下が認められた。

血液生化学的検査は実施されていない。

剖検では、高用量群で、脾臓の肥大、腹腔あるいは骨盤腔の変化(内臓の癒着、腹膜炎、膿瘍もしくは潰瘍)の発生率の上昇が認められた。また、胃の潰瘍が中用量以上の投与群(2/121, 4/120)で、回腸の穿孔が高用量群の雄の1例で認められた。

病理組織学的検査では、高用量群の雌雄で胃及び消化管の種々の部位(十二指腸、結腸、回腸、盲腸、大腸)で潰瘍が認められた。その他、腹膜炎、肝臓、脾臓、腸間膜リンパ節における造血が認められた。

本試験において観察された項目における NOAEL はフルニキシメグルミンとして 0.6 mg/kg 体重/日であり、遊離酸換算すると 0.36mg/kg 体重/日であった。また、発がん性は認められなかった。

【ラットを用いた2年間発がん性試験】

CD(SD)ラット(雌雄各 60 匹/群ⁿ)を用いた混餌 (0、2、4、8mg/kg 体重/日^o)投与による2年間の発がん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、およそ 16-24 週から試験終了時まで高用量群で対照群と比較して高い死亡率が認められた。

一般的な臨床症状観察では、1-5 週時に泌尿器周囲の被毛の汚れが認められ、前肢に瘡蓋、炎症、擦過傷が認められた。前肢の所見は被験物質の接種の局所反応に関連するものと考えられ、およそ3ヶ月後には消失した。その他には被験物質の投与に起因した異常は認められなかった。

体重変化では、高用量群の雌でおよそ 15 週、雄でおよそ 38 週から試験終了時まで体重の低値が認めら

^m フルニキシメグルミンとして。投与量は各週毎の体重及び飼料摂取量により調整。

ⁿ 対照群は雌雄各 100 匹/群

^o 遊離酸換算値。1-4 週については 1,2,4 mg/kg 体重/日を筋肉内注射。

れた。

飼料摂取量では、高用量群の雄で一時的に減少が認められたが、他に被験物質の投与に起因した変化は認められなかった。

血液学的検査、血液生化学的検査は実施されていない。

眼検査では、特に被験物質の投与に起因した異常は認められなかった。

剖検では、消化管の潰瘍が全ての投与群で用量依存的に認められた。潰瘍の発生は胃と十二指腸で顕著で、他に空腸、回腸で認められた。4mg 以上の投与群で腸間膜リンパ節の肥大もしくは浮腫が認められた。また、8mg 投与群で胸腺の肥大と胸水貯留が認められた。

病理組織学的検査では、消化管に非増殖性の病変(粘膜の壊死と潰瘍、貫壁性壊死(穿孔性潰瘍)、消化管壁及び粘膜の炎症、リンパ球過形成、腹膜炎、膿瘍)が認められた。腹膜炎による二次的影響と考えられる炎症病変や壊死は他の腹腔内の臓器にも認められた。腸間膜リンパ節ではリンパ球過形成が認められた。

本試験における NOAEL は得られなかった。

本試験において発がん性は認められなかった。

(4)繁殖毒性試験及び催奇形性試験

二世世代繁殖毒性試験の代わりに FDA の 3 節試験が実施されている。

【ラットを用いた一世代繁殖毒性試験(第 I 節)】(VI-4)

CD ラット(雌雄各 25 匹/群^p)を用いた筋肉内 (0、1、2、4mg/kg 体重/日^q)投与による試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。被験物質の投与は、雄には交配前 63 日から交配期間中を通じて、雌には交配前 14 日から妊娠 14 日あるいは分娩後 21 日までの間行った。試験期間中に親動物に死亡例は認められなかった。

一般的な臨床症状観察では、特に被験物質の投与に起因した異常は認められなかった。流涙過多、鼻孔周辺の血痕、下痢、後肢の腫脹が認められたがいずれも少数例で、用量相関性はなかった。親動物の体重に投与に起因すると考えられる変化は認められなかった。また、母動物の性周期に異常は認められなかった。

妊娠期間の延長、出産から離乳までの間の哺育児死亡率の上昇が 2mg 以上の投与群で認められた。その他、総着床数、生存胎児数、死亡胚胎児数、子宮内の胎児分布、平均産児数、哺育期間中の児体重及び性比に投与の影響は認められなかった。また、出生児の奇形や変異の発現率に影響は認められなかった。

本試験における NOAEL は、親動物の一般毒性に対して 4 mg/kg 体重/日、生殖発生に対して 1 mg/kg 体重/日であった。

【ラットを用いた催奇形性試験(第 II 節)】(VI-5)

CD ラット(雌各 25 匹/群)を用いた筋肉内 (0、2、4、6mg/kg 体重/日^r)投与による試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。被験物質の投与は、妊娠 6 日から 15 日までの間行い 21 日に剖検した。

試験期間中に 6mg 投与群の 1 匹が死亡し、この個体は腹膜炎と胃潰瘍を起こしていた。この他、体重変化に被験物質の投与に起因した異常は認められなかった。

^p 対照群は雌雄各 30 匹/群

^q 遊離酸換算値

^r 対照群は雌 35 匹/群

^s 遊離酸換算値

平均着床数、平均胚吸収数、平均同腹子数、子宮内の胎児分布、性比、体重及び 24 時間生存率に投与の影響は認められなかった。

6mg 投与群の 1 匹に二分脊椎、頭部扁平を呈する重度の奇形が認められた。その他、過剰肋骨、化骨遅延、腎盂拡張が認められたが、これらの発生率に用量相関性は認められなかった。

本試験における NOAEL は、母動物及び胎児に対して 4 mg/kg 体重/日であった。

【ラットを用いた周産期及び授乳期投与試験(第Ⅲ節)】 (VI-6)

CDラット(雌各 25 匹/群)を用いた筋肉内 (0、2、4、6mg/kg 体重/日^u)投与による試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。被験物質の投与は、妊娠 14 日から分娩後 21 日までの間行なった。

一般的な臨床症状観察で、四肢及び眼の蒼白化、鼻口部及び眼周囲の血液付着、被毛粗造といった所見が単独あるいは複数、2mg 投与群で数個体に、4mg 以上投与群ではほとんどの個体で認められた。6mg 投与群では体重増加量及び平均体重が低値を示した。試験期間中に 4mg 投与群の 9 匹、6mg 投与群の 20 匹が死亡した。これらの個体の主な剖検所見は腸のびらん、癒着、胃腸の充血または出血であった。

4mg 以上投与群の生存ラットにおける平均妊娠期間は対照群と比較して有意に延長した。また、6mg 投与群では約 1/4 が死産児であった。この投与群は難産の兆候を示し、5 匹が分娩予定日あるいは分娩数日後に胎児を残存した状態で死亡した。

6mg 投与群の平均同腹子数は対照群と比較して少なかった。児ラットの出生後 21 日までの死亡率は 4mg 以上投与群で高かった。死産児の割合は 2mg と 6mg 投与群で高かったが、4mg 投与群では対照群と差はなかった。また、6mg 投与群の児動物の体重は低値を示した。4mg 投与群では出生時の児動物体重に差はなかったが、生後 4 日以降は低値を示した。

平均着床数、性比には投与の影響は認められなかった。内臓および骨格観察において奇形や変異の発現率に影響は認められなかった。

本試験では母動物に対する NOAEL は得られなかった。児動物に対して 2 mg/kg 体重/日であった。

【ウサギを用いた催奇形性試験】 (VI-7)

ニュージーランドホワイト種のウサギ(雌 14-16 匹/群)を用いた筋肉内 (0、3.0、6.0、12.0 mg/kg 体重/日^v)投与による催奇形性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。被験物質の投与は、妊娠 6 日から 18 日の間行なった。

親動物の体重、体重増加量に異常は認められなかった。

妊娠率、着床数、胚吸収数、胚吸収が認められた母ウサギの割合、平均同腹子数、同腹子総平均体重、子宮内の胎児分布、性比及び 24 時間生存率に投与に関連した影響は認められなかった。

6mg 投与群の 1 匹に舌の突出、3mg 投与群の後期吸収胚の 1 例で顔面の奇形が認められた。これらの発生率は、試験施設の背景データの範囲内であった。その他、過剰肋骨、化骨遅延、腎盂拡張が認められたが、これらの発生率に用量相関性は認められなかった。

本試験における NOAEL は母動物及び胎児に対して 12 mg/kg 体重/日であった。

^t 対照群は雌 35 匹/群

^u 遊離酸換算値

^v 遊離酸換算値

(6)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
Ames 試験(VI-1)	<i>S. typhimurium</i> TA1535, TA1537, TA98, TA100, <i>E. coli</i> WP2 <i>uvrA</i>	78～5000 µg/plate(±S9) ¹	陰性
染色体異常試験(VI-2)	チャイニーズハムスター肺由来(CHL)細胞	31.25, 62.5, 125, 250, 500 µg/mL ² (-S9 ; 24h)	陰性
		31.25, 62.5, 125, 250, 500µg/mL ³ (-S9 ; 48hr)	陰性
		62.5, 125, 250, 500, 1000 µg/mL ⁴ (±S9 ; 6hr+18hr)	陽性 ≥500µg/mL(-S9) ≥250µg/mL(+S9)

1 *E. coli* を除き 5000µg/plate では 菌の生育阻害が認められた。

2 500µg/mL 以上の用量では細胞毒性のため分裂中期像が認められなかった。

3 250µg/mL 以上の用量では細胞毒性のため分裂中期像が認められなかった。

4 1000µg/mL 以上の用量では細胞毒性のため分裂中期像が認められなかった。

上記のように、*in vitro* の試験においては Ames 試験で陰性、CHL 細胞を用いた染色体異常試験では陽性であった。

in vivo 試験

試験系	試験対象	フルニキシン用量	結果
小核試験(VI-3)	マウス骨髄	18.75, 37.5, 75, 150, 300 mg/kg 単回腹腔内投与 ¹	陰性

¹ 300mg/kg では全てのマウスが死亡した。

上記の通り、*in vivo* 試験では陰性であった。150mg/kg の用量では統計学的に有意ではないが多染性赤血球率の低下が認められていたが、いずれの用量においても小核の出現頻度に変化は認められなかった。

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。

(7)一般薬理試験(IX)

【一般症状及び行動】

一般症状及び行動に及ぼす影響は、Irwin の多次元観察法(マウス)に準じて実施された。30mg/kg 体重の単回皮下投与で軽度の行動、反射、触覚及び痛覚の抑制が認められた。

【中枢神経系への作用】

中枢神経系への作用は、自発運動(マウス ; 自発運動測定装置)、抗痙攣(マウス ; 電撃痙攣、ペンテトラゾール痙攣)、体温測定(ウサギ ; 直腸温)、急性脳波(ラット ; 自発脳波測定)について実施された。30mg/kg 体重までの単回皮下あるいは腹腔内投与において、いずれも影響は認められなかった。

【自律神経系への作用】

自律神経系への作用は、*in vitro* で平滑筋の収縮について摘出回腸(モルモット；アセチルコリン、ヒスタミンによる収縮への影響、ウサギ；自動運動測定)について実施された。モルモット摘出回腸は 1×10^{-4} g/mL でアセチルコリン及びヒスタミン収縮の抑制作用を示した。この作用は 5×10^{-6} g/mL の濃度では認められなかった。ウサギ摘出回腸では自発運動の振幅が 1×10^{-6} g/mL で 10-20%、 2×10^{-5} g/mL で顕著に減少した。これらの減少は洗浄により回復した。また、消化器系については腸管輸送能(マウス；炭末移動)が実施され、30mg/kg 体重の皮下投与で有意差はないが抑制傾向を示した。10mg までの皮下投与では被験物質投与による影響は認められなかった。

【呼吸循環器系への作用】

呼吸循環器系への作用は、呼吸、血圧、心拍数、心電図(いずれもウサギ)について実施された。呼吸については 10 及び 30mg/kg 体重の投与で一過的なリズムの乱れ、呼吸数の減少が認められたが、3 分後には回復した。血圧については 5mg 投与群で若干、10 及び 30mg 投与群では急激な下降が一過的に認められた。これらは 2-10 分以内に回復した。心拍数・心電図では 30mg 投与群で心拍数の減少、心電図の PR 間隔の延長が観察された。これらの異常は、心拍数は 30 分、心電図は 15 分で回復した。

【末梢神経系への作用】

末梢神経系への作用は、ウサギに対する点眼による局所麻酔、局所刺激作用について観察された。 10^{-2} g/mL の点眼で流涙、角膜反射の遅延が認められた。

【その他】

その他、利尿作用(ラット；尿量、 Na^+ 、 K^+ 、 Cl^- 測定)が実施されたが、被験物質投与による影響は認められなかった。

【微生物学的影響に関する特殊試験】 (EMEA)

一般的に NSAIDs に抗菌活性は認められていない。フルニキシンについては、細菌及び真菌に対する MIC は 32-256 µg/mL であったとする報告があり、ほとんど抗菌活性を示さないと考えられる。

(6) ヒトにおける知見について

【ヒトにおける NSAIDs の毒性影響】

NSAIDs については種々の薬剤が古くからヒト臨床において用いられている。NSAIDs はアラキドン酸から環状ペルオキシド(PGG₂、PGH₂)の合成に関与するシクロオキシゲナーゼ(COX-1、COX-2 等)を阻害し、最終的にプロスタグランジン類及びトロンボキサン類の生合成を阻害することにより抗炎症及び鎮痛作用を示す。一方、最も一般的な副作用として胃または腸管の潰瘍形成が知られている。これはプロスタグランジンの減少による胃酸分泌過多、細胞保護粘液の分泌減少及び薬物そのものの局所刺激によると考えられている。潰瘍形成は出血による貧血を伴う場合がある。この他、ヒト臨床上の副作用として、血小板機能障害、妊娠期間の延長、自然陣痛の遅延、腎機能の変化が報告されている。

この消化管の潰瘍形成を抑制するため、「COX-1 が多くの組織で恒常的に発現しているのに対し、COX-2 は炎症が発生した際にサイトカインや炎症メディエーターにより誘導されるため、COX-2 の選択的阻害薬では炎症抑制効果はそのままに COX-1 の阻害による消化管の副作用の低減が期待される」という、

いわゆる「COX-2 仮説」に基づき、様々な COX-2 阻害薬が開発・実用化された。しかしながら、実際には COX を「恒常型」と「誘導型」に二分する仮説は単純化しすぎであり、「恒常型」とされた COX-1 は炎症部位でもある程度誘導されること、「誘導型」とされた COX-2 は炎症部位で誘導されるだけでなく、脊髄、脳、肝臓等の特定の部位では恒常的に発現していること、また、生理学的状況の変化によって血管内皮で誘導されることが明らかにされている。

最近になって、複数の無作為化比較試験で、ある種の COX-2 阻害剤を服用した患者でわずかではあるものの心筋梗塞や脳卒中のリスクが増加することが指摘され、FDA 及び EMEA はいくつかのヒト用 COX-2 選択阻害薬の承認を取り消している。古くから知られる NSAIDs であるジクロフェナクは COX-1、COX-2 を共に強力に阻害するように、伝統的 NSAIDs と COX-2 選択阻害薬に明確な区分があるわけではなく、選択型は COX-1 と比較して COX-2 の阻害の程度が高く、従来型はその逆あるいは非選択的という傾向があるにすぎない。また、COX-2 選択薬で得られているような十分な無作為化比較試験の知見がないため、NSAIDs によるリスク全般については明確でないとされている。一方、心筋梗塞や脳卒中のリスクが増加する原因については、現時点ではなお仮説の域を出ないものの、COX-2 選択阻害薬がその選択性のために血管系における COX-2 によるプロスタサイクリン(PGI₂)^wの合成抑制する一方で、血小板の COX-1 によるトロンボキサン(TxA₂)^xの合成抑制の程度は弱いため、血小板凝集作用のバランスが崩れ、結果としてリスクを上昇させると言うメカニズムが提唱されており、心筋梗塞や脳卒中のリスクと COX-2 の選択性との関連性が指摘されている。(Susanne Fries and Tilo Grosser 2005、Tilo Grosser et al 2006)

フルニキシンは動物専用の NSAIDs であり、ヒト臨床における知見は得られていない。構造式からはフェナム酸類に類似するが、窒素を含むヘテロ環を有している。シクロオキシゲナーゼに対しては COX-1、COX-2 を非選択的に阻害するか、むしろ COX-1 に選択的とされており(Brideau C et al 2001、Riendeau D et al 1997)、種々の動物実験で消化管の潰瘍が認められていることから、ヒトにおいても同様の作用を示すものと推測される。

3. 食品健康影響評価について

【催奇形性について】

繁殖毒性及び催奇形性については、多世代の繁殖毒性試験は実施されていないが、ラットを用いた 3 節試験とウサギの催奇形性試験が実施されている。ラットの第 I 節試験については最長 F₁ 児の離乳まで行われており、一世代繁殖試験と同等であると考えられる。繁殖に関する影響は妊娠期間の延長であるが、これはプロスタグランジンの生合成阻害という薬理作用に関連するものと考えられ、また NOAEL が決定されている。また、ラット、ウサギ共に催奇形性は認められていない。

【遺伝毒性/発がん性について】

フルニキシンの遺伝毒性については、*in vitro* の細菌を用いた復帰突然変異試験、CHL 培養細胞を用いた染色体異常試験及び *in vivo* のマウスを用いた骨髄小核試験が実施されている。CHL 培養細胞を用いた染色体異常試験において、高用量で代謝活性化の有無にかかわらず陽性の結果が得られたが、*in vivo* のマウスを用いた骨髄小核試験で陰性であったことから、生体にとって問題となる遺伝毒性はないと考えられる。

また発がん性については、マウスにおける 2 年間の発がん試験、ラットにおける 2 年間慢性毒性/発

^w プロスタサイクリンは血管内皮細胞で合成され血小板の凝集を抑制する方向に作用する。

^x トロンボキサンは血小板で合成され、血管収縮や血小板凝集作用がある。

がん性併合試験のいずれにおいてもがん原性は認められなかった。

【NSAIDs の副作用に関する影響について】

NSAIDs については鎮痛等の目的で種々の薬剤が古くからヒト臨床において用いられている一方で、副作用として胃または腸管の潰瘍形成、その他に血小板機能障害、妊娠期間の延長、自然陣痛の遅延、腎機能の変化が報告されている。さらに最近になって、一部の COX-2 選択阻害剤で**心筋梗塞や脳卒中のリスクが増加することが指摘された**。NSAIDs 全般についての心筋梗塞や脳卒中のリスクは明確でないとされているが、リスク増加の原因については、現時点ではなお仮説の域を出ないものの、COX-2 選択阻害薬がその選択性のために血管系における COX-2 によるプロスタサイクリン(PGI₂)の合成抑制する一方で、血小板の COX-1 によるトロンボキサン(TxA₂)の合成抑制の程度は弱い**ため、血小板凝集作用のバランスが崩れ、結果としてリスクを上昇させると言うメカニズムが提唱されており、心筋梗塞や脳卒中のリスクと COX-2 の選択性との関連性が指摘されている**(Susan Fries and Tilo Grosser 2005、Tilo Grosser et al 2006)。

フルニキシンの COX-1、-2 に対する選択性については非選択的か、COX-1 に選択的とされている(Brideau C et al 2001、Riendeau D et al 1997)。種々の動物実験で消化管の潰瘍が認められており、ヒトにおいても同様の作用を示すものと推測される。

なお、上記で指摘された心筋梗塞や脳卒中のリスク上昇は、いずれも臨床用量を長期間服用した時に統計学的に認められる知見である。信頼できる NOEL に適切な安全係数を用いて設定された ADI に基づいて管理される限りにおいて、このような高用量の長期の慢性的暴露は起こり得ないと考えられる。

【エンドポイントの選択について】

報告された各種の毒性試験において、最も低い用量で被験物質の投与の影響が認められたと考えられる指標は、マウスを用いた 2 年間発がん性試験における胃の潰瘍で NOAEL はフルニキシンのメグルミンとして 0.6 mg/kg 体重/日であり、遊離酸換算すると 0.36mg/kg 体重/日であった。

【一日摂取許容量(ADI)の設定について】

【食品健康影響評価について】

以上より、フルニキシンのメグルミンの食品健康影響評価については、フルニキシンの ADI として次の値を採用することが適当と考えられる。

フルニキシン mg/kg 体重/日

<参考文献>