

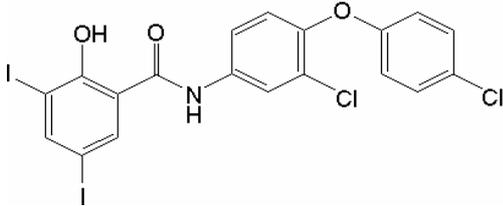
ラフォキサニドの食品健康影響評価について(案)

EMEA レポート(1999、2001年)を基に、毒性に関する主な科学的知見を整理した。

1.薬剤の概要

(1)物質名

ラフォキサニド(Rafoxanide)



(2)効能・効果

ラフォキサニドはハロゲン化サリチルアニリドで種々の線虫類、吸虫類に有効な駆虫薬であり、吸虫類に投与したとき[NAD⁺]/[NADH]比及び[オキサロ酢酸]/[リンゴ酸塩]比を上昇させる。酸化リン酸化の脱共役により、ATP 濃度の減少、グリコーゲン量の減少及びコハク酸エステルの蓄積を引き起こす。

(3)その他

ラフォキサニドを主剤とする動物用医薬品は、国内での使用はなく、EU 諸国で牛、羊、山羊、馬を対象に使用されている。

2.毒性試験の概要

2-1.吸収・分布・代謝・排泄

【ラットにおける投与試験】

感染処置を施したラットに ¹⁴C-標識ラフォキサニドを単回静脈内(2 mg/kg 体重)投与した試験が実施された。投与後 3 時間の総放射活性中の血漿、胆汁、肝臓中放射活性は 16.8-19.9%、2.7-3.9%、10-14%であった。血漿中放射活性の 95%以上が未変化体であった。(EMEA SR(1) 3①)

SD ラットに ¹⁴C-標識ラフォキサニドを単回経口(12 mg/kg 体重)投与したところ、投与後 168 時間までの糞中排泄率は 99%、尿中排泄率は 0.15%であった。排泄のほとんどは投与後 24 時間までに起こり、雄で 84.8%、雌で 78.5%が糞中に排泄された。糞中排泄中の 65.3-68.2%が未変化体、14%が極性代謝物、1.7%、3.2%が他 2 つの代謝物であった。(EMEA SR(1) 3②)

ラットに ¹⁴C-標識ラフォキサニドを単回経口(12 mg/kg 体重)投与した試験が実施された。 C_{max} は雄 12000 μ g-eq/kg、雌 17500 μ g-eq/kg T_{max} は 4 又は 6 時間であった。投与後 168 時間では肝臓で 195 μ g-eq/kg、消化管で 15 μ g-eq/kg が認められたのみであった。肝臓においては未変化体

1 と極性代謝物が検出された。(EMEA SR(1) 3③)

2 3 【ウシにおける投与試験】

4 ウシに ^{14}C -標識ラフォキサニドを単回経口 (11.25 mg/kg 体重) 投与したところ、投与後 6 日まで
5 の尿中排泄率は 0.6% 未満であった。未変化体と 3,5-ジヨードサリチル酸が主な化合物であったが、
6 割合等は求められていない。糞中排泄率は報告されていない。C_{max} は 20000 $\mu\text{g-eq/kg}$ 、T_{max} は
7 1.8 日、T_{1/2} は 3.87 \pm 0.59 日であった。(EMEA SR(1) 3⑤)

8 9 【ヒツジにおける投与試験】

10 ヒツジに ^{14}C -標識ラフォキサニドを単回経口 (11.25 mg/kg 体重) 投与したところ、投与後 3 日まで
11 の尿中排泄率は約 0.12% であった。糞中排泄率は報告されていない。排泄物中の放射活性の
12 91% は 3,5-ジヨードサリチル酸で、未変化体は 9% であった。C_{max} は 19750 $\mu\text{g-eq/kg}$ 、T_{max} は
13 1.4-1.8 日、T_{1/2} は 8.9 \pm 1.2 日であった。排泄速度の遅さはラフォキサニドの血漿中たん白結合率
14 (99% 以上) の高さ起因すると考察されている。(EMEA SR(1) 3④)

15 16 【ウシにおける残留試験】

17 子ウシ 6 頭に ^{14}C -標識ラフォキサニドを単回経口 (11.25 mg/kg 体重) 投与し、組織中濃度を測定
18 した。投与後 3 日における組織中濃度は筋肉、脂肪、肝臓、腎臓でそれぞれ 973、2303、2990、
19 2880 $\mu\text{g-eq/kg}$ であり、30 日では 20、90、約 200、40 $\mu\text{g-eq/kg}$ 、60 日では筋肉 25 $\mu\text{g-eq/kg}$ 、脂肪
20 100 $\mu\text{g-eq/kg}$ 、肝臓及び腎臓で定量限界 (50 $\mu\text{g-eq/kg}$) 未満となった。投与後 3 日における組織
21 中の未変化体濃度は筋肉、脂肪、肝臓、腎臓でそれぞれ 458、1691、695、1682 $\mu\text{g/kg}$ であり、30
22 日では全組織で定量限界 (5 $\mu\text{g/kg}$) 付近又は未満となった。(EMEA SR(1) 14①)

23
24 子ウシ 4 頭に ^{14}C -標識ラフォキサニドを単回経口 (11.25 mg/kg 体重) 投与し、組織中濃度を測定
25 した。投与後 14 日における組織中濃度は筋肉、脂肪、肝臓、腎臓でそれぞれ定量限界 (18 $\mu\text{g-eq}$
26 /kg)-24、<32-46、140.5、63 $\mu\text{g-eq/kg}$ であった。その中で未変化体濃度は筋肉で定量限界 (5 μg
27 /kg)-15 $\mu\text{g/kg}$ 、脂肪でほぼ 15 $\mu\text{g/kg}$ 、腎臓で 18 $\mu\text{g/kg}$ 、肝臓では 2 試料は定量限界 (5 $\mu\text{g/kg}$)
28 未満、他の 2 試料は検出限界 (1 $\mu\text{g/kg}$) 未満であった。(EMEA SR(1) 14②)

29
30 ウシを用いた投与試験で投与後 3 日における総放射活性に占める未変化体の割合は筋肉、脂
31 肪、肝臓、腎臓でそれぞれ 50、75、25、60% であり、14 日では筋肉で約 50%、脂肪で 50%、腎臓で
32 30% であった。肝臓中の未変化体濃度は定量限界 (5 $\mu\text{g-eq/kg}$) 未満であった。(EMEA SR(1) 14
33 ③)

34
35 4 ヶ月齢の子ウシ 8 頭に単回経口 (11.25 mg/kg 体重) 投与し、組織中濃度を測定した。投与後
36 28 日における組織中濃度は筋肉、脂肪、腎臓でそれぞれ 6.6、18.2、7.3 $\mu\text{g/kg}$ であった。肝臓は
37 定量限界 (5 $\mu\text{g/kg}$) 未満であった。42 日では全組織が定量限界未満となった。(EMEA SR(1) 14
38 ④)

39 40 【ヒツジにおける残留試験】

41 ヒツジ 6 頭に ^{14}C -標識ラフォキサニドを単回経口 (11.25 mg/kg 体重) 投与し、組織中濃度を測定

1 した。投与後 3 日における組織中濃度は筋肉、脂肪、肝臓、腎臓でそれぞれ 773、1325、1690、
2 2440 $\mu\text{g-eq/kg}$ であり、30 日では 117.5、160、約 350、約 350 $\mu\text{g-eq/kg}$ となった。

3 LC-MS/MS で測定された投与 3 日後の組織中の未変化体濃度は筋肉、脂肪、肝臓、腎臓で
4 それぞれ、1049、1987、1248、1915 $\mu\text{g/kg}$ であり、30 日後では順に約 150、約 150、176.5、320 $\mu\text{g/kg}$ 、
5 60 日後では <25、<25、<25、ほぼ 50 $\mu\text{g/kg}$ となった。

6 投与後 30 日において、総放射活性に占める未変化体の割合は筋肉、脂肪、肝臓、腎臓でそれ
7 ぞれ 100、88、50、87% であった。(EMEA SR(1) 13①)

8
9 8 ヶ月齢のヒツジ 12 頭に単回経口 (11.25 mg/kg 体重) 投与し、組織中濃度を測定した。投与後
10 28 日における組織中濃度は筋肉、脂肪、肝臓、腎臓でそれぞれ 220、329、424、324 $\mu\text{g/kg}$ であり、
11 42 日では 120、270、189、145 $\mu\text{g/kg}$ 、60 日では約 29、30、30、46 $\mu\text{g/kg}$ となった。(EMEA SR(1)
12 13②)

14 2-2. 毒性試験

15 (1) 急性毒性試験

16 GLP に基づいた急性毒性試験は実施されていない。

17 文献調査によると、LD₅₀ はマウスで 232 mg/kg 体重 (経口)、100 mg/kg 体重 (腹腔内)、ラットで
18 2000 mg/kg 体重以上 (経口)、約 1700 mg/kg 体重 (腹腔内) であった。(EMEA SR(1) 4)

19 (2) 亜急性毒性試験

20 【ラットを用いた 13 週間亜急性毒性試験】

21 ラットを用いた強制経口 (0、12、24、48 mg/kg 体重/日) 投与における 13 週間の亜急性毒性試験
22 において認められた毒性所見は以下の通りであった。また試験後 4 週間の回復期間が設けられた。
23 全投与群で Ca、chol の低値、肝臓、甲状腺、副腎の相対重量の高値が認められた。全投与群の
24 雄及び 48 mg/kg 投与群の雌に小葉中心性肝細胞の腫大及び甲状腺濾胞上皮の肥大が認めら
25 れた。4 週間の回復期間後、48 mg/kg 投与群において認められた所見は部分的に回復した。本試
26 験において NOEL は設定できなかった。(EMEA SR(1) 5)

27 【イヌを用いた亜急性毒性試験】

28
29 イヌに 100 mg/kg 体重を 3-11 回経口投与した試験において、**両側性**赤道部白内障、乳頭浮腫、
30 視神経、**神経交叉**、大脳白質及び脊髄白質の空胞化、坐骨神経の限局性の空胞化を含む神経
31 毒性等の影響が認められた。(EMEA SR(1) 5)

削除: 視束交差

32
33
34 イヌを用いた経口 (0、0.05、0.4、2.5 mg/kg 体重/日) 投与における 13 週間の亜急性毒性試験に
35 において認められた毒性所見は以下の通りであった。また試験後、対照群及び 48 mg/kg 投与群に
36 は 4 週間の回復期間が設けられた。2.5 mg/kg 投与群で体重増加量の減少 (対照群 2.9 kg に対し
37 て 2 kg) が認められた。病理学的所見として視神経 (雌 1 例: 視神経線維) 及び中枢神経 (脊椎白
38 質) に空胞化、**雌雄** 全例に大脳、小脳、中脳あるいは延髄の**白質空胞化**が認められた。4 週間の
39 回復期間後、体重増加量減少は認められなくなったが、雄 1 例に視神経線維の限局性の空胞化
40 は依然として認められた。また大脳、小脳あるいは中脳の**白質空胞化**も認められた。本試験にお
41 ける NOEL は 0.4 mg/kg 体重/日であった。(EMEA SR(1) 5)

削除: 髄膜下

削除: の

削除: 髄膜下

削除: の

1
2 **【ウシ、ヒツジへの過剰投与試験】**

3 文献調査によると、ウシ及びヒツジに対して 16.5 mg/kg 体重までの経口投与では全身毒性は認められない。しかしウシに 45-60 mg/kg 体重を皮下投与、ヒツジに約 150-450 mg/kg 体重を経口投与した過剰投与試験では、失明及び散瞳が報告されている。ヒツジに認められたこれらの視覚障害は、大脳皮質の海綿状病変、視神経の脱髄、浮腫、うっ血、視神経の出血によるものと考えられた。(EMEA SR(1) 6)

削除: の神経症

8
9 **(3)慢性毒性/発がん性試験**

10 慢性毒性試験は実施されていない。発がん性試験は遺伝毒性試験の結果、ラフォキサニドに遺伝毒性はないと評価されたことから実施されていない。(EMEA SR(1) 10)

12
13 **(4)繁殖毒性試験及び催奇形性試験**

14 **【ラットを用いた 2 世代繁殖毒性試験】**

15 ラットを用いた経口 (0, 0.75, 3, 12 mg/kg 体重/日) 投与による 2 世代繁殖毒性試験が実施されている。授乳期の児動物の死亡数が増加 (F₀ の同腹児で 48%、F₁ の同腹児で 62%) した。12 mg/kg 投与群で F₁ 世代の妊娠率の低下 (対照群 83% に対し 54%)、雄の平均精子数、精子運動性、正常形態精子の割合の減少が認められた。3 mg/kg 以上投与群で F₁ 世代に水晶体核混濁及び瞳孔膜遺残といった病変が、眼底検査で認められた。0.75mg 投与群では、被験物質投与に起因すると考えられる影響は認められなかった。本試験における NOEL は 0.75 mg/kg 体重/日であった。(EMEA SR(1) 7)

削除: 検眼鏡

22
23 **【ラットを用いた催奇形性試験】**

24 SD ラットを用いた強制経口 (0, 5, 12, 30 mg/kg 体重/日) 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 16 日の間行った。30 mg/kg 投与群で母動物の体重増加量及び平均同腹児体重の減少、早期胚死亡数のわずかな増加が認められ、胎児には肋骨の屈曲や頭蓋骨、肋骨の骨化異常等の弱い骨格奇形が認められた。本試験における NOEL は 12 mg/kg 体重/日であった。(EMEA SR(1) 8)

削除: 、特に頭蓋骨での骨化不全、肋骨の不規則骨化といったマイナーな骨変異

30
31 **【ウサギを用いた催奇形性試験】**

32 ウサギを用いた経口 (0, 0.5, 2, 5 mg/kg 体重/日) 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 日の間行った。2 mg/kg 以上投与群で平均体重増加量の減少 (対照群 100% に対し、2 mg/kg 投与群で 63%、5 mg/kg 投与群で 44%) が認められた。5 mg/kg 投与群で平均胎児体重の減少、約 55% の胎児に中心性眼球混濁が認められた。本試験における NOEL は 0.5 mg/kg 体重/日であった。(EMEA SR(1) 8)

36
37 **(5)遺伝毒性試験**

38 **【変異原性に関する各種試験の結果一覧】(EMEA SR(1) 9)**

39 *in vitro* 試験

試験系	試験対象	用量	結果
Ames 試験	<i>S. typhimurium</i>	—	陰性

遺伝子突然変異試験 (hprt)	CHO	—	陰性
前進突然変異試験 (Tk)	L5178 マウスリンフォーマ 細胞	—	陰性
染色体異常試験	ヒトリンパ球	—	+S9 で陽性 ¹
	CHO	—	+S9 で陽性 ²

1. 最高用量 250 μ g/mL において陽性。その時の分裂指数は 51% に減少。

2. 細胞毒性用量と同等以上の 15 μ g/mL において陽性。その時の分裂指数は 50% 以下。10 μ g/mL では散発的な染色体異常の増加が認められた。

in vivo 試験

試験系	試験対象	用量	結果
UDS 試験	ラット肝細胞	—	陰性
小核試験	マウス骨髄	経口	陰性

上記のように、ラフォキサニドについて *in vitro*、*in vivo* の試験が実施され、*in vitro* でいくつか陽性所見が認められたものの、*in vivo* UDS 試験及び小核試験において陰性であったことから、ラフォキサニドに生体にとって問題となる遺伝毒性はないと考えられる。

(6) 薬理試験 (EMEA SR(1) 2)

【一般症状及び行動、中枢神経系への作用、消化器官系への作用】

100 mg/kg 体重までを経口投与したときの自発運動、ヘキソバルビタール睡眠、腸運動(いずれもマウス)に影響は認められなかった。

【平滑筋への作用】

摘出回腸(モルモット; 自発収縮)では 0.2 μ g/mL 以上の濃度でアセチルチルコリン、セロトニン、ヒスタミン収縮の抑制が認められ、アセチルコリン及びヒスタミン収縮については 20 μ g/mL で対照群と比較して有意となった。

【呼吸循環器系への作用】

100 mg/kg 体重までを単回十二指腸投与したときの心血管系及び呼吸器系(イヌ)に影響は認められなかった。

【血管系への作用】

ラットの血液凝固能について 10、30、100 mg/kg 体重で試験が実施された。プロトロンビン時間は 30 mg/kg 体重まで、活性部分トロンボプラスチン時間は 100 mg/kg 体重まで影響は認められなかったが、全血凝固時間は全投与群で影響が認められた。これは対照群の高値によるものと考えられた。

【その他】

10 mg/kg 体重を単回経口投与したときの利尿作用(ラット; 尿量、尿中電解質)に影響は認められなかった。

(7) その他

【局所刺激性試験、免疫毒性試験】(EMEA SR(1) 11)

1 ウサギを用いた皮膚刺激性試験で影響は認められなかった。眼刺激性試験では一時的でごく
2 軽度な結膜刺激が認められた。

3 モルモットを用いた皮膚感作性試験^aにおいて、遅延型接触過敏症を起こさなかった。

4 5 3.食品健康影響評価について

6 【遺伝毒性及び発がん性について】

7 ラフォキサニドについて発がん性試験は実施されていないが、遺伝毒性を示さないことから、発
8 がん性試験を欠いても ADI を設定することが可能であると判断された。

9 10 【ADI の設定について】(EMEA SR(1) 12)

11 ラフォキサニドは遺伝毒性発がん性を示さないと考えられることから、ADI を設定することが可
12 能である。

13 毒性試験において、最も用量の低いところで投与の影響が認められたと考えられる指標はイヌ
14 13週間亜急性毒性試験における視神経及び中枢神経の空胞化で、NOEL 0.4 mg/kg 体重/日であ
15 った。この所見は 4 週間の回復期間でも回復しなかったことから追加の安全係数 2 を乗じた安全
16 係数 200 を適用し、ADI は 0.002 mg/ kg 体重/日と設定される。

17 18 【食品健康影響評価について】

19 以上より、ラフォキサニド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
20 適当と考えられる。

21
22 ラフォキサニド 0.002 mg/ kg 体重/日

23
24 暴露量については、当評価結果を踏まえ暫定基準値の見直しを行う際に確認することとする。
25

^a Mangnussen-Klingman 試験