



府食第601号

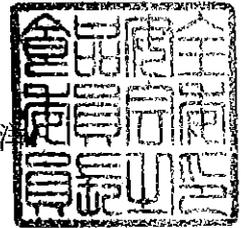
平成28年9月27日

厚生労働大臣

塩崎 恭久 殿

食品安全委員会

委員長 佐藤 洋



食品健康影響評価の結果の通知について

平成28年3月22日付け厚生労働省発食0322第10号をもって厚生労働大臣から食品安全委員会に意見を求められたトリプトレリン酢酸塩に係る食品健康影響評価の結果は下記のとおりですので、食品安全基本法（平成15年法律第48号）第23条第2項の規定に基づき通知します。

なお、食品健康影響評価の詳細は別添のとおりです。

記

トリプトレリン酢酸塩の一日摂取許容量を特定する必要はない。

動物用医薬品評価書

トリプトレリン酢酸塩

2016年9月

食品安全委員会

## 目次

	頁
○審議の経緯 .....	3
○食品安全委員会委員名簿 .....	3
○食品安全委員会動物用医薬品専門調査会専門委員名簿 .....	3
○要約 .....	4
I. 評価対象動物用医薬品の概要 .....	5
1. 用途 .....	5
2. 有効成分の一般名 .....	5
3. 化学名 .....	5
4. 分子式 .....	5
5. 分子量 .....	5
6. 構造式 .....	5
7. 使用目的及び使用状況 .....	5
II. 安全性に係る知見の概要 .....	7
1. 薬物動態試験 .....	7
(1) 薬物動態試験 (イヌ) .....	7
(2) 薬物動態試験 (豚) .....	7
(3) 薬物動態試験 (ヒト) .....	7
(4) GnRH 及び GnRH アナログの薬物動態について .....	8
2. LH 濃度の測定による薬理試験 .....	9
(1) LH 濃度測定試験 (ラット) ① .....	9
(2) LH 濃度測定試験 (ラット) ② .....	10
(3) LH 濃度測定試験 (豚) ① .....	11
(4) LH 濃度測定試験 (豚) ② .....	11
3. 残留試験 .....	12
4. 遺伝毒性試験 .....	13
5. 単回投与毒性試験 .....	13
(1) 急性毒性試験 (マウス、ラット又はウサギ) .....	13
(2) 単回投与毒性試験 (ラット) .....	14
6. 亜急性毒性試験 .....	14
(1) 45 日間亜急性毒性試験 (ラット) ① .....	14
(2) 45 日間亜急性毒性試験 (ラット) ②<参考資料> .....	14
(3) 亜急性毒性試験 (ラット、イヌ及びサル) <参考資料> .....	15
7. 慢性毒性及び発がん性試験 .....	17
(1) 発がん性試験 (マウス、ラット) <参考資料> .....	17
8. 生殖発生毒性試験 .....	18

(1) 生殖毒性試験（ラット、サル）＜参考資料＞	18
(2) 妊娠初期及び器官形成期投与試験（ラット）＜参考資料＞	18
(3) 発生毒性試験（マウス）＜参考資料＞	18
(4) 発生毒性試験（ラット）＜参考資料＞	18
(5) 発生毒性試験（ラット、ウサギ）＜参考資料＞	19
9. その他の試験	19
(1) 皮膚刺激性試験（ウサギ）	19
(2) 眼刺激性試験（ウサギ）	19
(3) 皮膚感作性試験（マウス）	19
(4) 安全性試験（豚）①＜参考資料＞	20
(5) 安全性試験（豚）②＜参考資料＞	21
10. ヒトにおける知見	21
(1) ヒトにおけるトリプトレリンの影響	21
III. 国際機関等の評価	22
1. EMA における評価	22
(1) 薬理学的一日摂取許容量（ADI）について	22
(2) 毒性学的 ADI について	22
(3) 微生物学的 ADI について	22
2. FDA における評価	22
IV. 食品健康影響評価	24
1. 薬物動態及び残留性について	24
2. 毒性学的又は薬理学的影響について	24
3. ADI の設定について	25
・別紙 1：検査値等略称	26
・参照	27

### <審議の経緯>

- 2016年 3月 18日 インポートトレランス設定の申請（参照1）
- 2016年 3月 23日 厚生労働大臣から残留基準設定に係る食品健康影響評価（インポートトレランス）について要請（厚生労働省発生食0322第10号）、関係資料の接受
- 2016年 3月 29日 第600回食品安全委員会（要請事項説明）
- 2016年 4月 27日 第190回動物用医薬品専門調査会
- 2016年 6月 24日 第192回動物用医薬品専門調査会
- 2016年 8月 9日 第618回食品安全委員会（報告）
- 2016年 8月 10日から9月8日まで 国民からの意見・情報の募集
- 2016年 9月 21日 動物用医薬品専門調査会座長から食品安全委員会委員長へ報告
- 2016年 9月 27日 第623回食品安全委員会（報告）  
（同日付で厚生労働大臣に通知）

### <食品安全委員会委員名簿>

（2015年7月1日から）

佐藤 洋（委員長）  
山添 康（委員長代理）  
熊谷 進  
吉田 緑  
石井 克枝  
堀口 逸子  
村田 容常

### <食品安全委員会動物用医薬品専門調査会専門委員名簿>

（2016年4月1日から）

青山 博昭（座長）	島田 美樹	宮田 昌明
小川 久美子（座長代理）	須永 藤子	吉田 和生
青木 博史	辻 尚利	吉田 敏則
石川 さと子	寺岡 宏樹	渡邊 敏明
石塚 真由美	能美 健彦	
島田 章則	舞田 正志	

## 要 約

繁殖同期剤である「トリプトレリン酢酸塩」(CAS No.140194-24-7) について、インポートトレランス申請資料等を用いて食品健康影響評価を実施した。

評価に用いた試験成績等は、薬物動態(イヌ、豚及びヒト)、遺伝毒性、急性毒性(マウス、ラット及びウサギ)、亜急性毒性(ラット、イヌ及びサル)、発がん性(マウス及びラット)、生殖発生毒性(マウス、ラット及びサル)等の試験成績である。

豚を用いた薬物動態試験において、血漿中トリプトレリン濃度は静脈内投与では投与 36 時間後までに、腔内投与では異常値を除き投与 8 時間後までに、全例で定量限界未満となった。また、LH 濃度を測定した薬理試験において、ラットへの単回皮下投与及び豚への単回腔内投与により、血清中 LH 濃度の上昇が認められたが、ラットへの単回強制経口投与では血清中 LH 濃度への影響は認められなかった。したがって、強制経口投与では、デカペプチドであるトリプトレリンは消化管内で分解され、その LH 放出刺激作用が消失したものと考えられることから、経口バイオアベイラビリティは低く、食品を介したばく露による影響は無視できると考えた。

トリプトレリン酢酸塩を用いた遺伝毒性試験は実施されていない。しかし、トリプトレリンパモ酸塩を用いた各種遺伝毒性試験において陰性の結果が報告されており、かつ、トリプトレリンは消化管内で分解されると考えられることから、トリプトレリン酢酸塩は *in vivo* で遺伝毒性を示す懸念は低く、生体にとって問題となる遺伝毒性は示さないと考えた。

トリプトレリン酢酸塩を用いた経口投与による発がん性試験及び生殖発生毒性試験は実施されていない。しかし、ラットを用いた強制経口投与及び皮下投与によるトリプトレリン酢酸塩の LH 濃度測定試験及び 45 日間亜急性毒性試験において、皮下投与(4 µg/kg 体重/日)では投与 2 時間後に明確な血清中 LH 濃度の上昇が認められ、投与期間終了時点では血清中のその他の性ホルモン濃度の変化及び生殖器官等への毒性影響が認められたが、強制経口投与(最高用量 4 µg/kg 体重/日)では試験期間を通して毒性影響は認められず、血清中の性ホルモン濃度の変化も認められなかったことから、トリプトレリン酢酸塩の経口投与による毒性学的及び薬理学的影響を考慮する必要性はないと考えた。

以上のように、トリプトレリン酢酸塩は、生体にとって問題となる遺伝毒性は示さないと考えられること、及び、消化管内で分解されるため、経口バイオアベイラビリティが低く、食品を介したヒトへのばく露は無視できると考えられることから、食品安全委員会は、トリプトレリン酢酸塩については、ADI を特定する必要はないと判断した。

## I. 評価対象動物用医薬品の概要

### 1. 用途

繁殖同期剤 (参照 2)

### 2. 有効成分の一般名

和名：トリプトレリン酢酸塩

英名：Triptorelin Acetate (参照 2)

### 3. 化学名

CAS (No. 140194-24-7)

和名：トリプトレリン酢酸塩

英名：6-D-Tryptophanluteinizing hormone-releasing factor (swine) Acetate

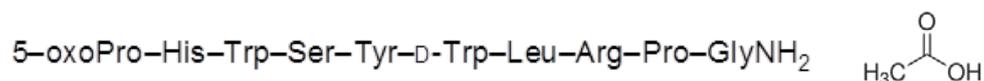
### 4. 分子式

$C_{64}H_{82}N_{18}O_{13} \cdot C_2H_4O_2$  (参照 3)

### 5. 分子量

1,371.53 (参照 3)

### 6. 構造式



(参照 3)

### 7. 使用目的及び使用状況

トリプトレリンは、デカペプチドである性腺刺激ホルモン放出ホルモン (GnRH) のアナログであり、GnRH アゴニストの 1 種である。GnRH アゴニストは、GnRH と同様に性腺刺激ホルモン [黄体形成ホルモン (LH) 及び卵胞刺激ホルモン (FSH) のような下垂体ゴナドトロピン] の放出を制御しており、単回投与時には LH 及び FSH の放出を促進する。GnRH アゴニストは性腺刺激ホルモンの分泌を一過性に刺激した後、GnRH 受容体のダウンレギュレーションを起こし、性腺刺激ホルモンの分泌を抑制する。(参照 4、5)

哺乳動物の GnRH のアミノ酸配列は、調べられた全動物種で類似しており、N 末端 (pGlu-His-Trp-Ser) 及び C 末端 (Pro-Gly NH<sub>2</sub>) の配列は共通である。これらの部位が受容体結合性と活性化に重要である。(参照 2、6、7) 合成 GnRH アゴニストには、タンパク分解から保護するために天然型配列の 6 位を置換したものや受容体への結合親和性を改善するために C 末端を置換したものがある。GnRH と比べて、これらのアゴニストは、より強い効力とより長い作用持続時間を持つ。トリプトレリンでは、6 位のグリシンが D-トリプトファンに置換されている。(参照 2、4、6)

GnRH 及び GnRH アゴニストのアミノ酸配列を表 1 に示した。(参照 2、4、6、8)

表 1 GnRH 及び GnRH アゴニストのアミノ酸配列

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
GnRH	pGlu	His	Trp	Ser	Tyr	Gly	Leu	Arg	Pro	Gly NH <sub>2</sub>
トリプトレリン	pGlu	His	Trp	Ser	Tyr	D-Trp	Leu	Arg	Pro	Gly NH <sub>2</sub>
ナファレリン	pGlu	His	Trp	Ser	Tyr	D-Nal	Leu	Arg	Pro	Gly NH <sub>2</sub>
デスロレリン	pGlu	His	Trp	Ser	Tyr	D-Trp	Leu	Arg	Pro	NHEt
リュープロレリン	pGlu	His	Trp	Ser	Tyr	D-Leu	Leu	Arg	Pro	NHEt
ブセレリン	pGlu	His	Trp	Ser	Tyr	D-Ser(Tbu)	Leu	Arg	Pro	ethylamide

トリプトレリン酢酸塩は、繁殖同期剤として使用される。離乳後の母豚に対し定時に膈内投与することにより排卵の同調を促進し、投与後一定時間内に排卵を集中させ、この時期における単回の人工授精で受胎を可能とする。(参照 2、8)

米国、豪州及びカナダ等で動物用医薬品として承認され、母豚の授精前に単回投与される。また、海外では、ヒト用医薬品としても承認されている。(参照 2、8)

日本では、トリプトレリンの動物用及びヒト用医薬品としての承認はない。なお、他の GnRH アゴニストには、ナファレリンやリュープロレリン等があり、ヒト用医薬品として承認されている。(参照 9、10)

今回、厚生労働省からトリプトレリン酢酸塩のインポートトレランス申請に伴う残留基準値の設定に係る評価要請がなされている。(参照 2)

## II. 安全性に係る知見の概要

本評価書では、インポートトランス申請のための資料を基に、トリプトレリン酢酸塩の毒性に関する主な知見を整理した。(参照 2~28)

検査値等略称を別紙に示した。

### 1. 薬物動態試験

#### (1) 薬物動態試験 (イヌ)

##### ① 静脈内投与

イヌ (ビーグル種、体重 14~14.6 kg、雄 2 匹) にトリプトレリンを単回静脈内投与 (100 µg/匹) し、投与 240 分後まで経時的に血液を採取して、RIA により血漿中トリプトレリン濃度を測定したところ、血漿中濃度は二相性の減衰を示し、第一相の半減期は 10 及び 12 分、第二相の半減期は 84 及び 119 分であった。(参照 2、11)

##### ② 皮下投与

イヌ (品種不明、体重 12~16.8 kg、雄 6 匹) にトリプトレリンを単回皮下投与 [100 µg/匹 (6~8.3 µg/kg 体重に相当)] し、投与 24 時間後まで経時的に血液を採取して、RIA により血漿中トリプトレリン濃度を測定したところ、血漿中濃度は、投与 45~60 分後に最高値に達し、その後投与 12 時間後まで指数関数的に減少した。半減期は 108 ±9 分であった。血漿中濃度は、投与 12 時間後にはなお維持され、投与 24 時間後に基底レベルとなった。(参照 2、11)

#### (2) 薬物動態試験 (豚)

児を離乳して 4 日後の経産豚 (品種不明、雌 6 頭/群) にトリプトレリン酢酸塩を静脈内投与又は腔内投与 (それぞれトリプトレリンとして 200 µg/頭) し、投与 10 分後 (腔内投与群は 20 分後) から投与 48 時間後まで経時的に血液を採取して、LC-MS/MS により血漿中トリプトレリン濃度を測定し、薬物動態試験が実施された。

平均血漿中濃度の最高値は、静脈内投与では投与 10 分後であった。腔内投与では投与 1 時間後であった。静脈内投与後の血漿中濃度は、投与 12 時間後までは全例 (6/6 例) で定量限界 (50.0 pg/mL) 以上であったが、投与 36 時間後には全例で定量限界未満となった。腔内投与後の血漿中濃度では、6 例中 2 例については全時点で定量限界未満であり、他の 4 例も多くの時点で定量限界未満であった。投与 8 時間後以降では、投与 18 時間後の異常値 (1/6 例) を除き、全時点の全例 (6/6 例) で定量限界未満となった。(参照 2、12)

#### (3) 薬物動態試験 (ヒト)

ヒト (健常人ボランティア、男性 6 名) にトリプトレリン酢酸塩を静脈内投与 (0.5 mg/人) し、薬物動態試験が実施された。薬物動態パラメーターを表 2 に示した。

血中トリプトレリン濃度は三相性の減衰を示し、第一相及び第二相 (分布相) の半減期はそれぞれ 0.11 時間及び 0.62 時間であり、第三相 (消失相) の半減期は 2.8 時間であった。Vd は 31.2 L で、血漿タンパク質との結合は臨床的に無視できる程度であった。

トリプトレリンの腎クリアランスは 24 時間で 83.5 mL/min であり、未変化のトリプトレリンの尿中排泄は約 40%であった。(参照 2、6、13～15)

表 2 ヒトにおけるトリプトレリン静脈内投与後の薬物動態パラメーター

投与経路	投与量 (mg/人)	C <sub>max</sub> (ng/mL)	T <sub>1/2</sub> (hr)	AUC <sub>0-∞</sub> (ng·hr/mL)	CL <sub>p</sub> <sup>a</sup> (mL/min.)
静脈内	0.5	46.6	2.81	35.6	210

a : 血漿クリアランス

#### (4) GnRH 及び GnRH アナログの薬物動態について

##### ① GnRH の薬物動態

放射標識 GnRH を用いてラット (静脈内投与)、マウス (静脈内投与)、ウサギ (静脈内投与) 及び牛 (静脈内及び筋肉内投与) における薬物動態が検討された。各動物種において、ゴナドレリン (合成 GnRH ペプチド) の生物学的半減期は、静脈内投与で約 4 分であった。筋肉内投与後の牛では、ゴナドレリンは急速に注射部位から移行し、血漿中半減期は約 20 分であった。ラットにおける分布試験では、GnRH の組織中濃度は、血漿より松果体、下垂体前葉、下垂体後葉、卵巣、肝臓及び腎臓の方が高かった。投与化合物は急速に不活性小ペプチド及びアミノ酸に代謝され、主要な排泄経路は尿及び呼気であった。(参照 20)

放射標識 GnRH を用いてヒト (静脈内投与) における薬物動態が検討された。投与 1 時間後に投与放射活性の 48.2%が尿中に排泄され、投与 24 時間後に 73.5%となった。ヒトの場合、放射活性の大部分が短鎖ペプチドに認められ、未変化の GnRH は認められなかった。(参照 2、6、13)

##### ② トリプトレリンの薬物動態

トリプトレリンは GnRH と類似していることから、ヒトにおけるトリプトレリンの薬物動態は、多くの点で GnRH と同様であると考えられる。このことは、ヒトでのトリプトレリンの薬物動態が以下の特徴を示すことから裏付けられた。すなわち、血漿中で三相性の減衰を示すこと、V<sub>d</sub> が大きく組織への広い分布を示すこと、ペプチダーゼによる生物学的に不活性なフラグメントへの分解が、下垂体のような他の組織でも行われるが、主に腎臓及び肝臓で行われること、並びに迅速なクリアランスが主に腎臓で行われることである。分布及び代謝のパターンは、全ての GnRH アナログにおいて全般的に類似していた。(参照 8)

トリプトレリンと GnRH の薬物動態の違い [トリプトレリンの方が、半減期が長く (ヒトではトリプトレリン : 50 分～2.8 時間、GnRH : 13～60 分)、トリプトレリンの非経口投与量のかなりの部分が未変化のペプチドとして尿中に排泄される] は、6 位のアミノ酸の置換 (L-グリシンの代わりに D-トリプトファン) によって説明される。この置換によりコンホメーション変化が起こり、ペプチダーゼによる切断から保護さ

れる。また、これにより下垂体受容体に対する高い親和性が説明され、消失半減期の延長と併せて GnRH に比べて約 100 倍高い効力をもたらす。天然の GnRH の血漿タンパク質結合は、無視できる程度であると報告されており、トリプトレリンについても同様であると考えられる。(参照 8、13)

トリプトレリンの薬物動態プロファイルは、タンパク質分解に対して安定性が高く GnRH よりも半減期が長い他の GnRH アナログのプロファイルと一致している。(参照 8)

### ③ GnRH アナログの薬物動態

<sup>3</sup>H ブセレリンを用いてラット（静脈内投与）における薬物動態が検討された。投与放射活性の 58%が 24 時間以内に尿中に回収され、尿中放射活性の 21.6%は未変化のブセレリンであった。糞中からは投与放射活性の 3.6%が回収された。(参照 2、6)

放射標識ナファレリンを用いてサル（静脈内投与）における薬物動態が検討された。投与放射活性の約 80%が尿中に排泄された。未変化体のナファレリンは尿中放射活性の約 5%を占め、5 種類の代謝物（短鎖ペプチド 4 種類及び 2-ナフチル酢酸）が 70%を占めた。(参照 2、6)

### ④ 経口バイオアベイラビリティ

GnRH アナログは、消化管内でペプチダーゼ分解により不活化されることから、実験動物種及びヒトにおける経口バイオアベイラビリティは、一般に非常に低く、ヒトでは 1%未満と推定される。トリプトレリンについては、ラットにおける反復投与毒性試験で経口投与（最高用量 4 µg/kg 体重）後に影響が認められなかったことから、経口バイオアベイラビリティは低いことが示唆された。(参照 8)

## 2. LH 濃度の測定による薬理試験

GnRH アナログは、GnRH と同様に LH 及び FSH のような下垂体ゴナドトロピンの放出を制御し、単回投与時には LH 及び FSH の放出を促進する。この作用は投与による最も感度の高い薬力学的な反応である。(参照 5)

以下の試験は、トリプトレリンの作用による下垂体からの LH の放出を指標とし、その血清中濃度を測定することにより実施された。(参照 2)

### (1) LH 濃度測定試験（ラット）①

ラット（SD 系、約 11 週齢、雌雄各 8 匹/群）に 4 µg/kg 体重の用量でトリプトレリン酢酸塩を単回強制経口投与又は皮下投与し、経時的に血清中の LH 濃度を測定して、LH の放出を指標として吸収性が検討された。対照群として溶媒を経口投与する群が設定された。本試験は LH 濃度測定試験[II. 2. (2)]及び亜急性毒性試験[II. 6.]の予備試験として実施された。

投与前 7 日間の雌の性周期判定では、皮下投与群の 1 例を除き少なくとも 1 回の発情

が認められた。発情が認められなかった 1 例においても発情前期、発情休止期及び発情後期の徴候が認められた。

強制経口投与試験では、対照群の雄（溶媒投与）及び投与群の雌雄ともに全ての測定時点で投与による LH 濃度の変動は認められなかった。

皮下投与試験では、雄及び雌ともに投与 1～4 時間後に血清中 LH 濃度の上昇が認められ、平均最高濃度はそれぞれ投与 2 時間後であり、投与前と比較して、雄で約 250 倍、雌で約 100 倍であった。

以上のように、ラットにおいてトリプトレリン酢酸塩の皮下投与により雌雄ともに血清中 LH 濃度の上昇が認められたが、同用量での強制経口投与では雌雄ともに投与による血清中 LH 濃度への影響は認められなかった。（参照 2、16）

## (2) LH 濃度測定試験（ラット）②

ラット（SD 系、8～9 週齢、雌雄各 10 匹/群）にトリプトレリン酢酸塩を強制経口投与又は皮下投与し、血清中の LH 濃度を測定して、LH の放出を指標として吸収性が検討された。本試験は亜急性毒性試験 [II. 6.] の一部として実施された。試験の構成を表 3 にまとめた。

表 3 試験設定

試験	動物数 (匹/群)	投与の経路・回数・期間	投与量 ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日)	試験の種類
1	雄 10 <sup>a</sup> 雌 10	強制経口・単回	0、0.25 (雄のみ)、 1 (雄のみ)	薬物動態 <sup>d</sup> 内分泌検査
			4	
		皮下・単回	4 400	
2	雄 10 <sup>a</sup> 雌 10	強制経口・1 回/日・45 日間 +皮下・単回 <sup>b</sup>	0+400	薬物動態 <sup>e</sup> 内分泌検査 一般毒性
			0.25+400	
			1+400	
			4+400	
		皮下・1 回/日・45 日間	4 (400) <sup>c</sup> 400	

a : 試験群 1 と試験群 2 で共通、b : 投与開始後 14 日の強制経口投与前に実施

c : 投与開始後 14 日の投与量は 400  $\mu\text{g}/\text{kg}$  体重

d : LH 濃度の測定（投与 2～3 時間前及び投与 2 時間後）

e : LH 濃度の測定 [投与開始後 14 日の皮下投与 0（投与前）、1、2 及び 4 時間後]

試験 1 の強制経口単回投与群では、雌雄ともに投与による LH 濃度の変化は認められなかった。皮下単回投与群では、雌雄ともに 4 及び 400  $\mu\text{g}/\text{kg}$  体重投与群において投与 2 時間後に LH 濃度の上昇（対照群の値と比較して、雄で約 200 倍、雌で約 150 倍）が認められた。（参照 17）

試験 2 の強制経口反復投与群では、反復投与開始後 14 日に単回大量皮下投与した場

合、全測定時点において LH 濃度は雌雄ともに対照群と同等であった。一方、皮下反復投与群では、同様に反復投与開始後 14 日に単回大量皮下投与した場合、LH 濃度は雌雄ともに強制経口投与と単回大量皮下投与を組み合わせさせた群より低かった。反復投与期間終了時点では、いずれの投与群においても雌雄ともに投与による LH 濃度への影響は認められなかった。(参照 2、17)

### (3) LH 濃度測定試験 (豚) ①

卵巣を摘出した未経産豚 (品種不明、200 日齢、体重約 100 kg、雌 4 頭/群) に、エストラジオール投与による前処理 148 時間後、トリプトレリン酢酸塩ゲル製剤 (メチルセルロース (MC) 濃度 1.2%) を単回腔内投与 (トリプトレリンとして 0、25、50 又は 100 µg/頭) し、投与 30 時間後までの血中 LH 濃度が測定された。

100 µg/頭投与群の全例 (4/4 例)、50 µg/頭投与群の 3/4 例及び 25 µg/頭投与群の 2/3 例で、投与による LH 放出反応が認められた<sup>2</sup>。

血中 LH 濃度は全ての群の全例で投与 30 時間後までに投与前の濃度まで低下した。

以上の結果から、豚におけるトリプトレリン酢酸塩の腔内投与による吸収が確認された。(参照 2、8、18)

### (4) LH 濃度測定試験 (豚) ②

児を離乳して 3 日後以内の経産豚 (品種不明、雌 8 頭/群) にトリプトレリン酢酸塩のゲル製剤を単回腔内投与 (トリプトレリンとして 0、200 又は 1,400 µg/頭) し、投与 0 (投与前)、2~3 及び 5~6 時間後並びに投与 2 日後の剖検前に血液を採取して、血清中 LH 濃度が測定された。本試験は、経産雌豚に対する安全性試験 [II. 9. (4)] の一部として実施された。

投与 2 及び 5 時間後では、200 µg/頭及び 1,400 µg/頭投与群ともに LH 濃度が投与前値より高く、200 µg/頭投与群では投与 5 時間後で約 1.5 倍、1400 µg/頭投与群では投与 2 時間後で約 1.7 倍となり、両投与群で投与 2 日後では投与前値まで低下した。

以上のことから、申請者はトリプトレリンが腔内投与により速やかに吸収されて LH 濃度の上昇を引き起こし、その後減衰して LH 濃度も低下することが示唆されたと考察している。(参照 2、8、19)

上記のように、血清中 LH 濃度を測定した薬理試験において、ラットへの単回皮下投与及び豚への単回腔内投与では、血清中 LH 濃度の上昇が認められた。一方、ラットへの単回強制経口投与では血清中 LH 濃度への影響は認められなかったこと、並びにラットへの反復強制経口投与群及び対照群 (いずれも投与開始後 14 日に単回大量皮下投与) で、全測定時点において血清中 LH 濃度が同等であったことから、ラットへの反復強制経口投与群で認められた血清中 LH 濃度の上昇は、皮下投与によるものと考えられた。

<sup>1</sup> このモデル系では、エストラジオール投与後約 48~72 時間に、経産雌豚の発情開始時に近い LH サージ (LH の急性放出) が起こる。(参照 18)

<sup>2</sup> 各投与群の解析動物数はそれぞれ 3、3、4 及び 4 頭 [投与前 (0 時間後) 測定時に LH 濃度の上昇が認められた動物を除外]。

したがって、経口投与のみでは血清中 LH 濃度に影響はなく、トリプトレリンは消化管内で分解され、その LH 放出刺激作用が消失したものと考えられた。

### 3. 残留試験

残留試験は、実施されていない。

申請者は、残留試験を実施していない理由として以下を挙げている。

- 1) トリプトレリンは、外因性の GnRH と比較した場合、6 位の D-アミノ酸への置換により、半減期の延長及び受容体結合度の増強が図られ、効果が増強している。しかし、報告されている半減期は相対的に短く、生体内からの排泄は比較的速やかと考えられる。
- 2) トリプトレリンの代謝機序及び LH 放出を指標とした薬物動態から、その吸収、代謝及び排泄は速やかであると考えられる。
- 3) トリプトレリンは、比較的広範な組織に分布するが、下垂体、肝臓、腎臓等の代謝及び排泄器官を除き、その分布濃度は低いと考えられる。
- 4) トリプトレリンの用法用量は単回の短時間作用であり、母豚の例では最大でも年間 2~3 回の投与であり、反復投与による残留蓄積性は考慮する必要がないと考えられる。(参照 2)

EMEA は、提供されたデータから、トリプトレリンの豚への腔内投与後における残留物の薬物動態学的挙動は、下垂体、腎臓及び肝臓を含む種々の器官への迅速な吸収及び広範な分布、並びに主に腎臓及び肝臓におけるペプチダーゼによる生物学的に不活性化フラグメントへの分解及び腎臓による迅速で優勢なクリアランスであるとして、トリプトレリンの用法用量、すなわち母豚への単回投与 (1 回/性周期、2~3 回/年) では、豚組織における蓄積を考慮する必要はないと考えた。(参照 8)

EMEA は、一連の動物種の薬物動態データにより GnRH アナログは速やかに排泄されることが示されており、これはトリプトレリン投与後の雌豚における血中 LH 濃度のデータと一致しているとして、残留試験の省略は妥当であると考えた。また、食品中に残留したトリプトレリンは、ヒトの消化管内で不活性化フラグメントに分解されると考えた。(参照 8)

FDA は、トリプトレリン酢酸塩製剤を投与した雌豚において、可食組織中のワーストケース (最悪の場合) の残留濃度を表 4 のとおり算出し、ヒトへのばく露量を評価した。ワーストケースにおける最大ばく露量 (0.128 µg/kg 体重/日) は、ラットを用いた 45 日間亜急性毒性試験において生物学的及び毒性学的に有意な影響が認められなかった最高用量 (4 µg/kg 体重/日) の 31 分の 1 であり、消費者の安全を確保するための十分なマージンがあると結論づけている。(参照 28)

表 4 トリプトレリン 200 µg を投与した離乳豚の可食組織の摂食による  
ヒトへのばく露量 (ワーストケースによる推定値)

可食組織	体重当たり 組織重量の 割合 (%)	体重 214 kg の 雌豚の組織重 量 (kg)	200 µg 投与に よる残留濃度 (µg/g)	ばく露量 (µg/人/日)	ばく露量 (µg/kg 体重/日)
筋肉	54.5	116.6	0.0017	0.51	0.009
肝臓	1.3	2.8	0.0714	7.14	0.119
腎臓	0.6	1.3	0.1538	7.69	0.128
脂肪	35.0	74.9	0.0027	0.14	0.002

ワーストケース：膈内投与されたトリプトレリン全量が吸収され、投与からと殺までの 12 時間でトリプトレリンの排泄及び消失がなく、トリプトレリン全量がそれぞれの可食組織（筋肉、肝臓、腎臓及び脂肪）に分布すると仮定

#### 4. 遺伝毒性試験

トリプトレリン酢酸塩を用いた遺伝毒性試験の報告はない。

トリプトレリンの遺伝毒性については、トリプトレリンパモ酸塩 (CAS No.124508-66-3) を用いた *in vitro* 及び *in vivo* 試験が実施されている。

*in vitro* 試験では、サルモネラ、チャイニーズハムスター卵巣由来細胞 (CHO) 及びマウスリンパ腫細胞を用いる試験系において、代謝活性化条件の有無に関わらず、トリプトレリンパモ酸塩の変異原性又は染色体異常誘発性は認められなかった。

*in vivo* のマウス小核試験では、トリプトレリンパモ酸塩投与による小核の発生頻度が陰性対照と同等であり、頻度の有意な上昇は認められなかった。(参照 2、21、31)

食品安全委員会は、トリプトレリンパモ酸塩について遺伝毒性が *in vitro* 及び *in vivo* で陰性であり、かつ、トリプトレリンが消化管内で分解されることから、トリプトレリン酢酸塩が *in vivo* で遺伝毒性を示す懸念は低く、生体にとって問題となる遺伝毒性は示さないと判断した。

#### 5. 単回投与毒性試験

##### (1) 急性毒性試験 (マウス、ラット又はウサギ)

トリプトレリン酢酸塩のマウス、ラット及びウサギにおける急性毒性試験の結果を表 5 に示した。(参照 2、22、23)

表 4 トリプトレリン酢酸塩の急性毒性試験結果

動物種	投与経路	LD <sub>50</sub> (mg/kg 体重)	備考
マウス	経口	300	—
ラット	経口	2,000~5,000	GHS 区分 5 <sup>3</sup>
		980	—
ウサギ	経口	3,200	—

GHS：化学品の分類および表示に関する世界調和システム、—：なし

<sup>3</sup> 経済協力開発機構 (OECD) の化学物質の試験に関するガイドライン 423 (2001 年 12 月 17 日採択) 補遺 2c に基づく

## (2) 単回投与毒性試験 (ラット)

ラット (SD 系、9~11 週齢、雌雄各 8 匹/群) にトリプトレリン酢酸塩を単回強制経口投与又は皮下投与 (4 µg/kg 体重) した。対照群には溶媒を経口投与した。

試験期間中に死亡例はなかった。

一般状態には、全例で異常は認められなかった。(参照 2、16)

## 6. 亜急性毒性試験

### (1) 45 日間亜急性毒性試験 (ラット) ①

ラット (SD 系、8~9 週齢、雌雄各 10 匹) にトリプトレリン酢酸塩を 45 日間強制経口投与 (0、0.25、1 又は 4 µg/kg 体重/日) し、亜急性毒性試験が実施された。全ての群は投与開始後 14 日に、強制経口投与前にトリプトレリン酢酸塩を単回皮下大量投与 (400 µg/kg 体重) された。本試験は、LH 濃度測定試験 [II. 2. (2)] 及び亜急性毒性試験 [II. 6. (2)] とともに実施されている。

一般状態には、投与に起因する毒性徴候は認められず、試験期間中に死亡例はなかった。

体重、摂餌量及び眼検査の結果には、投与による影響は認められなかった。

性周期に対する影響については、対照群及び投与群の雌ともに性周期が回帰し、45 日の投与期間中に少なくとも 11 回の発情期が認められ、投与による影響は認められなかった。血液学的検査、血液生化学的検査及び尿検査では、投与によると考えられる影響は認められなかった。

内分泌系検査では、いずれの測定時点においても、投与による血清中 LH 濃度に対する影響は認められなかった (LH 濃度測定試験 [II. 2. (2)] 参照)。血清中の他のホルモン (テストステロン、プロゲステロン及びエストラジオール) の濃度については、投与期間終了時点において、いずれも投与による影響は認められなかった。

剖検、臓器重量及び病理組織学的検査の結果には、いずれの投与群においても投与による変化は認められなかった。(参照 17)

食品安全委員会は、全ての投与群で投与による影響が認められなかったことから、本試験の NOAEL を最高用量の 4 µg/kg 体重/日<sup>4</sup>と設定した。

### (2) 45 日間亜急性毒性試験 (ラット) ②<参考資料<sup>5</sup>>

ラット (SD 系、8~9 週齢、雌雄各 10 匹) にトリプトレリン酢酸塩を 45 日間皮下投与 (4 又は 400 µg/kg 体重/日) し、亜急性毒性試験が実施された。4 µg/kg 体重/日投与群は投与開始後 14 日のみ、トリプトレリン酢酸塩を 4 µg/kg 体重ではなく、400 µg/kg 体重の用量で皮下投与された。本試験は、LH 濃度測定試験 [II. 2. (2)] 及び亜急性毒性試験 [II. 6. (1)] とともに実施されている。

一般状態には、投与による影響は認められず、試験期間中に死亡例はなかった。

<sup>4</sup> 14 日目に 400 µg/kg 体重の用量を皮下投与されているが、少なくとも 4 µg/kg 体重/日の用量を 45 日間強制経口投与しても、毒性影響は認められないと判断した。

<sup>5</sup> 経口投与で実施されていないことから、参考資料とした。

摂餌量及び眼検査では、投与による影響は認められなかった。

体重増加及び性周期に対する影響（発情なし）が両投与群の雌で認められた。

血液学的検査、血液生化学的検査及び尿検査の結果には、投与によると考えられる影響は認められなかった。

内分泌系検査では、両投与群の雄で血清中テストステロン濃度の低下が、雌で血清中プロゲステロン濃度の低下が認められた（LH 濃度への影響は LH 濃度測定試験 [II. 2. (2)] 参照）。

剖検では、両投与群の雌で子宮の萎縮、雄で精巣及び精嚢（凝固腺を含む）の萎縮、400 µg/kg 体重/日投与群の雌で卵巣の萎縮及び副腎の肥大が認められた。

臓器重量には、両投与群の雌で子宮重量の減少、雄で精巣及び精嚢（凝固腺を含む。）重量の減少、400 µg/kg 体重/日投与群の雌で副腎重量の増加が認められた。

病理組織学的検査では、400 µg/kg 体重/日投与群の雌雄で、乳腺の萎縮及び骨髓細胞の減少が認められた。また、400 µg/kg 体重/日投与群の雌で卵巣の萎縮、膈の萎縮及び副腎皮質の肥大が認められ、雄で精細管変性/萎縮の頻度又は重症度が増加した。また、精巣上体では胚細胞残屑及び精子減少症が増加した。前立腺、精嚢及び凝固腺では分泌物の減少が認められた。4 µg/kg 体重/日以上投与群の雌では卵胞発達減少が認められ、黄体数が顕著に増加した。

また、400 µg/kg 体重/日投与群の雄で、心臓の筋線維の変性及び単核球の浸潤頻度に若干の上昇が認められた。（参照 2、17、28）

上記のとおり、ラットにおけるトリプトレリン酢酸塩の経口投与試験では、いずれの投与群においても毒性影響が認められなかった。しかし、皮下投与試験では雌雄ともに明確な毒性影響が認められた。

申請者は、この結果は、LH 濃度測定試験 [II. 2. (1)及び(2)] において、反復経口投与時には血清中 LH 濃度への影響が認められなかったが、反復皮下投与時には血清中 LH 濃度の上昇が認められたことを反映したものと考察している。すなわち、トリプトレリン酢酸塩は、経口投与時には消化管内で代謝・分解を受けてその作用が失われ、下垂体からの LH 放出が起こらず、血清中の LH 濃度が変化しなかったため、毒性影響を示さなかったものと考えている。

### （3）亜急性毒性試験（ラット、イヌ及びサル）＜参考資料<sup>6</sup>＞

豪州の資料によると、ラット（SD 系、雌雄又は雌のみ、匹数不明）、イヌ（ビーグル種、雌雄、匹数不明）及びサル（オマキザル、雌雄、頭数不明）に、トリプトレリン酢酸塩を皮下投与又は徐放化剤（トリプトレリン酢酸塩マイクロカプセル製剤）を筋肉内投与して、亜急性毒性試験が実施された。試験設定を表 5 にまとめた。

<sup>6</sup> 経口投与ではなく、詳細不明のため参考資料とした。

表 5 試験設定

試験	動物種	投与の経路及び期間	投与量 ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日)
1	ラット	筋肉内 <sup>a</sup> ・45 日 間	160、332、633 <sup>b</sup>
2	ラット	皮下・6 か月	2、20、200
3	イヌ	筋肉内 <sup>a</sup> ・6 か月	0.2、2、20
4	サル	皮下・6 か月	2、20、200

a：徐放化剤を月 1 回投与している。投与量は 1 日当たりの換算値。

b：雌のみのデータ

雌への影響について、試験 1 では、160  $\mu\text{g}/\text{kg}$  体重/日以上投与群で黄体細胞の空胞変性が認められた。

試験 2 では、2 及び 20  $\mu\text{g}/\text{kg}$  体重/日投与群で黄体数の増加及び卵巣の肥大が認められたが、200  $\mu\text{g}/\text{kg}$  体重/日投与群では認められなかった。また、全ての投与群で原始卵胞及び一次卵胞が減少し、20  $\mu\text{g}/\text{kg}$  体重/日以上投与群で硬化症、子宮内膜及び又は子宮筋層の萎縮が認められた。

試験 3 では、0.2  $\mu\text{g}/\text{kg}$  体重/日投与群で黄体数の増加、2  $\mu\text{g}/\text{kg}$  体重/日以上投与群で卵巣及び卵管の萎縮、子宮内膜及び又は子宮筋層の萎縮が認められた。

試験 4 では、2  $\mu\text{g}/\text{kg}$  体重/日以上投与群で原始卵胞の減少、200  $\mu\text{g}/\text{kg}$  体重/日投与群で黄体を認めない卵巣硬化症が認められた。

2 か月間の回復期間により試験 2 及び 4 における上記の影響は回復した。

雄への影響について、精細管の萎縮、ライディッヒ細胞の過形成及び精子形成の抑制が認められたが、一時的なものと考えられた。試験 3 及び 4 の全投与群でテストステロン濃度が減少した。

生殖器官以外の臓器では、試験 2 の全投与群の雌雄及び試験 4 の 20  $\mu\text{g}/\text{kg}$  体重/日以上投与群の雌で尿細管の拡張が認められたが、試験 4 の雄及び 23 か月間投与試験 [II. 7. (1)②] では認められなかった。試験 2 の 200  $\mu\text{g}/\text{kg}$  体重/日投与群の雌雄で肝臓のびまん性脂肪変化が認められたが、試験 4 の同じ投与量では、認められなかった。(参照 31)

申請書添付資料によると、ラット（雌雄、系統及び匹数不明）、イヌ（ビーグル種、雌雄、匹数不明）及びサル（雌雄、品種及び頭数不明）に、トリプトレリンを毎日注射投与（2  $\mu\text{g}/\text{kg}$  体重/日及びそれ以上の用量）し、又は徐放化剤（トリプトレリン酢酸塩高分子微粒子剤又はトリプトレリンパモ酸塩微小顆粒剤）を用いた場合はこれと等量を月 1 回筋肉内投与して、亜急性毒性試験<sup>7</sup>が実施された。

<sup>7</sup> 参照 21 と参照 31 にある内容は同一の試験についてまとめられたものと考えられるが、投与製剤等の記載に齟齬があるため、分けて記載した。

2 µg/kg 体重/日以上投与群において、テストステロン（雄）、エストラジオール及びプロゲステロン（雌）並びに LH の血清中濃度の低下が認められた。

同じ用量レベルで、雄（ラット、イヌ及びサル）では精子形成停止並びに精巣及びその他の副生殖器の萎縮が認められ、雌（ラット、イヌ及びサル）では発情の抑制並びに卵巣及びその他の副生殖器の萎縮が認められた。雌雄ともに投与により生殖器官の重量低下が認められた。

雄ラットでは、酢酸塩高分子微粒子剤（月 1 回）の筋肉内投与又はトリプトレリン（毎日）の 6 か月間注射投与により下垂体前葉の変化（限局性の過形成又は微小腺腫）が認められた。投与 6 か月後のイヌ及びサルの下垂体には変化は認められなかった。

血清中ホルモン濃度及び生殖器官重量の変化並びに性腺及びその他の副生殖器の病理組織学的な萎縮性変化は休薬により回復した。下垂体過形成及び微小腺腫の回復は認められなかった。（参照 2、21）

## 7. 慢性毒性及び発がん性試験

### (1) 発がん性試験（マウス、ラット）〈参考資料<sup>8</sup>〉

トリプトレリン酢酸塩を用いた発がん性試験の報告はない。

#### ① 18 か月間投与試験

マウス及びラットを用いたトリプトレリンパモ酸塩の発がん性試験が実施された。

マウス（CD-1、性別及び匹数不明）では、トリプトレリンパモ酸塩の徐放性製剤を 28 日毎 18 か月間筋肉内投与 [120~6,000 µg/kg 体重/月 (4.3~214 µg/kg 体重/日に相当)] し、発がん性試験が実施された。

僅かな臨床徴候を示したが、生存率や体重増加量に投与の影響は認められなかった。

高用量を投与されたほとんどのマウスで精巣の萎縮が、4.3 µg/kg 体重/日以上投与群で卵巣の萎縮、子宮内膜及び又は子宮筋層の萎縮が認められた。

発がん性は認められなかった。（参照 2、21、31）

#### ② 23 か月間投与試験

ラット（SD 系、性別及び匹数不明）では、トリプトレリンパモ酸塩の徐放性製剤を 28 日毎 23 か月間筋肉内投与 [120~3,000 µg/kg 体重/月 (4.3~107 µg/kg 体重/日に相当)] し、発がん性試験が実施された。

4.3 µg/kg 体重/日以上投与群で卵巣の萎縮が認められた。

脳下垂体に腫瘍性変化（下垂体前葉腺腫及び腺癌）が認められ、それにより早期の死亡を含む死亡率の顕著な増加が認められた。下垂体前葉の変化（限局性の過形成及び微小腺腫）は、リュープロレリン、ナファレリン及びゴセレリン等の GnRH アゴニストでもラットにおいて同様に認められるもので、本薬剤の薬理作用によるものと判断された。

雄ラットにおいて、[II. 6. (3)] で認められた下垂体前葉の所見と同様の変化が、6 か月間を超えた投与においても認められた。（参照 2、21、31）

<sup>8</sup> 筋肉内投与試験であり、詳細不明のため参考資料とした。

## 8. 生殖発生毒性試験

トリプトレリン酢酸塩を用いた経口投与による生殖発生毒性試験の報告はない。

### (1) 生殖毒性試験（ラット、サル）＜参考資料<sup>9)</sup>＞

ラット（系統、性別及び匹数不明）及びサル（品種、性別及び匹数不明）にトリプトレリンを6か月間投与（投与経路不明、2～2,100 µg/kg 体重/日）し、生殖毒性試験が実施された。

いずれも生殖能低下とともに生殖器官の萎縮が認められた。これらの影響は、本剤の薬理作用に起因する生殖機能の低下によるものと考えられたが、2～4か月の回復期間中に概ね回復した。（参照 2、21）

### (2) 妊娠初期及び器官形成期投与試験（ラット）＜参考資料<sup>10)</sup>＞

ラット（系統及び匹数不明）にトリプトレリン酢酸塩を皮下投与（10 µg/kg 体重/日）し、妊娠初期及び器官形成期試験が実施された。投与は妊娠 1～6 日及び器官形成期の前半に当たる妊娠 7～12 日に行われた。

両期間の投与において、黄体数及び着床前胚損失率に高値が認められたが、平均着床数に変化はなかった。

妊娠 1～6 日の投与では、平均胎児体重の顕著な減少（約 50%）や胎児の発達遅延（骨化遅延）が認められた。

両期間の投与において、妊娠期間の延長が認められた。妊娠 1～6 日の投与では出生児の体重や生後の哺育児発達に異常が認められなかったことから、妊娠期間の延長は胎児の発達遅延を代償する変化と見受けられた。

一方、妊娠 7～12 日の投与では、妊娠 20 日までは胎児の発達に対する悪影響が出現しなかったものの、自然分娩させた母動物には分娩遅延や難産などの顕著な影響が観察され、生まれた児のほとんどは死産であった。

投与期間中の母動物へのエストラジオールやプロゲステロンの補助的投与は、トリプトレリンのこれらの作用を防ぐことができなかった。（参照 31）

### (3) 発生毒性試験（マウス）＜参考資料<sup>11)</sup>＞

妊娠マウス（系統及び匹数不明）にトリプトレリンを妊娠 6～15 日に皮下投与（2～200 µg/kg 体重/日）し、発生毒性試験が実施された。

母毒性、胎児毒性、胚毒性及び催奇形性作用は認められなかった。（参照 2、21）

### (4) 発生毒性試験（ラット）＜参考資料<sup>12)</sup>＞

妊娠ラット（系統及び匹数不明）にトリプトレリンを妊娠 6～15 日に皮下投与（10

<sup>9)</sup> 詳細不明のため参考資料とした。

<sup>10)</sup> 皮下投与試験であり、詳細不明のため参考資料とした。

<sup>11)</sup> 皮下投与試験であり、詳細不明のため参考資料とした。

<sup>12)</sup> 皮下投与試験であり、詳細不明のため参考資料とした。

μg/kg 体重/日) し、発生毒性試験が実施された。

母毒性、胎児毒性、胚毒性及び催奇形性は認められなかった。(参照 2、21)

妊娠ラット(系統及び匹数不明)にトリプトレリンを妊娠 6 日～15 日に皮下投与(100 μg/kg 体重/日) し、発生毒性試験が実施された。

母毒性として、投与期間中における体重増加量の減少、及び胎児毒性として、吸収胚数の増加が認められた。(参照 2、21)

#### (5) 発生毒性試験(ラット、ウサギ) <参考資料<sup>13)</sup>>

ラット(系統及び匹数不明)及びウサギ(品種及び匹数不明)にトリプトレリン酢酸塩を皮下投与(0.4～10 μg/kg 体重/日及び 0.5～50 μg/kg 体重/日、いずれも投与期間不明) し、発生毒性試験が実施された。

いずれの種においても母体毒性は認められなかった。

黄体数の高値に関連して、着床前胚損失率が全ての投与群で上昇したが、平均着床数や同腹児数に影響はなかった。(参照 31)

### 9. その他の試験

#### (1) 皮膚刺激性試験(ウサギ)

ウサギ(NZW 種、約 5 か月齢、雌 3 匹)の剪毛した背部及び側部の皮膚に、脱イオン水で湿らせたトリプトレリン酢酸塩を 2 層のガーゼパッチ(2.5 cm×2.5 cm)を用いて半閉塞の状態に適用(500 mg)した。4 時間後にパッチを除去し、被験部位を脱イオン水で清拭した後、72 時間後までドレイズ法に従い皮膚刺激性が評価された。

試験期間中、紅斑及び浮腫等の刺激性変化は認められなかった。(参照 2、24)

#### (2) 眼刺激性試験(ウサギ)

ウサギ(NZW 種、約 6 か月齢、雄 2 匹及び雌 1 匹)を用いて、トリプトレリン酢酸塩を片方の眼の結膜嚢に点眼[0.1 mL (10.7 mg 相当)]し、もう一方の目を対照として投与 72 時間後まで角膜、虹彩及び結膜を観察してドレイズ法に従い眼刺激性及び腐食性を評価した。

試験期間中のいずれの時点においても角膜混濁及び虹彩炎は認められなかった。角膜刺激性は、3 例中 3 例で認められたが、48 時間以内に消失した。OECD405<sup>14)</sup>では、Non irritant(非刺激性)に区分された。(参照 2、25)

#### (3) 皮膚感作性試験(マウス)

マウス(CBA/J 系、約 8 週齢、体重約 20～25g、雌 5 匹/群)を用いて、局所リンパ節試験(LLNA: Local Lymph Node Assay)により、トリプトレリン酢酸塩の皮膚感作性が調べられた。トリプトレリン酢酸塩分散液を 3 日間連続で両耳の表面に塗布投与(0、

<sup>13)</sup> 皮下投与試験であり、詳細不明のため参考資料とした。

<sup>14)</sup> OECD の化学物質試験法ガイドライン 405 (急性眼刺激性/腐食性試験) に準拠。

25、50 又は 75%、25 µL/耳、溶媒：プロピレングリコール) し、試験開始後 6 日に細胞増殖マーカー物質の <sup>3</sup>H 標識メチルチミジンを尾静脈から注射 (0.25 mL/匹) して約 5 時間後に安楽死させた。耳介のリンパ節を摘出して細胞懸濁液を調製し、取り込まれた <sup>3</sup>H-メチルチミジンの総放射活性を LSC で測定し、感作性指数 (SI : Sensitization Index<sup>15</sup>=投与群の dpm<sup>16</sup>/対照群の dpm、陽性 : SI ≥ 3) が求められた。

トリプトレリン酢酸塩投与群の SI から、マウスに対して感作性を示さないと考えられた。(参照 2、26)

#### (4) 安全性試験 (豚) ①<参考資料<sup>17</sup>>

児を離乳して 3 日以内の経産豚 (品種不明、雌 8 頭/群) にトリプトレリン酢酸塩のゲル製剤を単回腹腔内投与 (トリプトレリンとして 0、200 又は 1,400 µg/頭) し、豚に対する安全性試験が実施された。投与 0 (投与前)、2~3 及び 5~6 時間後並びに投与 2 日後の剖検前に採血した。本試験は、LH 濃度測定試験 [II. 2. (4)] とともに実施されている。

一般状態では、投与に起因すると考えられる変化は認められなかった。

体重では、授乳終了に伴う乳腺組織の急速な退縮により全例で体重低下が認められたが、群間での差は認められず、投与による影響は認められなかった。

摂餌量は、全例で試験期間を通して安定しており、投与による変化は認められなかった。

血液学的検査及び尿検査では、異常な所見は認められなかった。

血液生化学的検査では、Glob が全例で、CPK が投与前の 200 µg/頭投与群を除く全例で参照範囲よりも高かった。CPK の上昇はストレスによるものと考えられた。これらの所見を除き、異常な所見は認められなかった。

内分泌検査では、血清中の LH、エストラジオール及びプロゲステロンの濃度に異常な所見は認められなかった。(LH 濃度に関する詳細は、LH 濃度測定試験 [II. 2. (4)] に記載)

剖検では、投与に起因すると考えられる異常な所見は認められなかった。卵巢の剖検では排卵状態が調べられ、投与群の排卵数が対照群に比べて多かったが統計的に有意な差ではなかった。

臓器重量では、1,400 µg/頭投与群の腎臓で絶対重量の増加が認められたが、相対重量では統計的に有意な差は認められなかった。

病理組織学的検査では、腔組織の炎症 (0、200 及び 1,400 µg/頭投与群でそれぞれ 2、4 及び 3 頭) が認められたが、用量依存性がなく軽度であり毒性影響ではないと考えられた。投与に起因する変化は認められなかった。(参照 2、19)

<sup>15</sup> OECD TG429 では、Stimulation Index と記載されている。

<sup>16</sup> disintegrations per minute : 1 分当たりの崩壊数

<sup>17</sup> 豚に対する安全性試験であり、一般的な毒性試験とは異なることから参考資料とした。

## (5) 安全性試験 (豚) ②<参考資料<sup>18)</sup>>

米国内 5 施設において、児を離乳して 4 日後の経産豚 (経産回数 1~7 回、投与群 : 雌 503 頭、プラセボ投与群 : 雌 502 頭) を用いたトリプトレリン酢酸塩のゲル製剤 (MC 濃度 : 1.2%) の腔内投与 [トリプトレリンとして 0 (プラセボ投与群) 又は 200 µg/頭] による臨床試験が実施された。投与約 22 時間後に全ての群の動物に人工授精を行い、繁殖安全性が調べられた。

妊娠率 (85.08 : 77.83 (%))、分娩率 (83.31 : 75.49 (%))、一腹出生時体重 (16.59 : 15.46 (kg)) 及び一腹総子豚数 (12.20 : 11.59) では、プラセボ投与群に比べて投与群の方が統計的<sup>19)</sup>に有意に高い数値を示した (投与群のデータ : プラセボ投与群のデータ)。

非妊娠率<sup>20)</sup>、妊娠期間、一腹死産子豚数、一腹ミイラ化子豚数、一腹生産子豚数、一腹離乳前死亡数、一腹離乳時体重、離乳~発情までの日数及び一腹離乳子豚数では、投与による影響は認められなかった。(参照 2、8、27、28)

## 10. ヒトにおける知見

### (1) ヒトにおけるトリプトレリンの影響

ヒトの臨床例では、反復非経口投与による下垂体脱感作作用及び血清中の性ステロイドホルモン濃度の低下を伴う性腺抑制作用が副作用として確認されている。(参照 8)

トリプトレリンは、非経口投与によりヒトの医療に使用され、忍容性が高いことが報告されている。観察された副作用は、可逆的で比較的小さな影響であり、それらはいずれも二次的な薬理作用によるもので、骨量減少及び性欲喪失 (男性及び女性) 並びに月経停止、ほてり、膣の乾燥、一過性頭痛、軽度不眠、情緒不安定及び体重の微増 (女性) であったと報告されている。(参照 8)

前立腺がん患者におけるトリプトレリンの長期投与において精巣の変化が報告されている。(参照 2、21)

<sup>18)</sup> 豚に対する安全性試験であり、一般的な毒性試験とは異なることから参考資料とした。

<sup>19)</sup> 統計は投与の失宜や記録ミス等を除いて実施されている。

<sup>20)</sup> 非妊娠率は、(妊娠雌数 - 分娩雌数) ÷ 妊娠雌数 × 100 により算出された。

### III. 国際機関等の評価

#### 1. EMA における評価

トリプトレリンは、デカペプチドであり、投与動物由来の食品中に残留しうるトリプトレリンは、ヒトの消化管内でアミノ酸に分解され、吸収されないと考えられる。EMEA は、このことに照らして、安全性に関する一連の試験の資料は提供されなかったとしている。(参照 8)

##### (1) 薬理学的な一日摂取許容量 (ADI) について

経口摂取によるトリプトレリンのヒトへのばく露は無視できると考えられることから、薬理学的 ADI を設定する必要はないと考えられた。これは薬理学的 ADI の設定に関する CVMP ガイドラインに一致している。(参照 8)

##### (2) 毒性学的 ADI について

MRL の設定のために通常実施される標準的な毒性試験は提供されなかったが、食品中に残留してもヒト消化管内で不活化されると考えられるため、提出された毒性試験の資料で十分であると考えられた。これは、「ヒト食品中残留動物用医薬品の安全性を評価する試験」に関する VICH ガイドライン「試験への一般的アプローチ (VICH GL33)」に沿ったものであり、「データを提出する必要がない科学的な理由」の提供と認められるものであった。(参照 8)

経口バイオアベイラビリティが極めて低く、経口によるヒトの全身ばく露は無視できると考えられることから、トリプトレリン酢酸塩の毒性学的 ADI を設定する必要はないと考えられた。(参照 8)

##### (3) 微生物学的 ADI について

デカペプチドであるという本物質の化学的性質により、微生物学的影響は想定されないことから、微生物学的 ADI の設定は必要ではないと考えられた。(参照 8)

以上のように、EMA は、トリプトレリン酢酸塩の ADI を設定する必要はないと判断している。(参照 8)

また、EU では、トリプトレリンと構造的に類似する GnRH (ゴナドレリン) 及びその他の GnRH アナログが、以前実施された EMEA の評価 (参照 20、29) を受けて、全ての食用動物種において「MRL 設定不要物質」に区分されており (参照 8)、トリプトレリン酢酸塩についても、同様の区分とされている。(参照 30)

#### 2. FDA における評価

FDA は、トリプトレリン酢酸塩ゲル製剤の離乳後雌豚への使用に関するヒトにおける食品安全性を評価した。

文献におけるトリプトレリン及び GnRH アナログに関する知見やヒト用医薬品の使用に関する知見とともに、ラットを用いた 45 日間亜急性毒性試験は、ヒトが製剤投与した雌豚の可食組織を摂食した場合において、トリプトレリンの経口バイオアベイラビ

リティが、他の GnRH アナログと同様に極めて低いという十分な証拠を与えていると考えられた。

また、トリプトレリンが *in vivo* では分解を受けやすい小ペプチドであることから、FDA は残留濃度や代謝物の同定のための試験は相応ではないと考え、ワーストケースを想定した豚の組織中最大残留濃度から求めたヒトの最大ばく露量 (0.128 µg/kg 体重/日) とラットを用いた 45 日間亜急性毒性試験における経口投与での無作用量 (4 µg/kg 体重/日) を比較し、十分なばく露マージンがあると結論付けている。この結論は、ばく露期間及び種間の相違に関する以下の考察に基づいている。その結果、FDA では、離乳後雌豚におけるトリプトレリン酢酸塩ゲル製剤の使用は、休薬なしでもヒトにおける食品安全性に関する懸念とはならないと結論付けている。(参照 28)

- ① 45 日間亜急性毒性試験は、慢性ばく露の影響を扱うのに適切に設定されており、長期間ばく露による影響が認められない。
- ② 哺乳動物の GnRH は、ヒトの GnRH に類似し、受容体を介しての作用機序が動物種間で同様であり、種特異性はない。

## IV. 食品健康影響評価

### 1. 薬物動態及び残留性について

豚を用いた薬物動態試験において、血漿中トリプトレリン濃度は静脈内投与では投与36時間後までに、腔内投与では異常値を除き投与8時間後までに、全例で定量限界未満となった。

LH濃度を測定した薬理試験において、ラットへの単回皮下投与及び豚への単回腔内投与により、血清中LH濃度の上昇が認められたが、ラットへの単回強制経口投与では血清中LH濃度への影響は認められなかった。強制経口投与では、デカペプチドであるトリプトレリンは消化管内で分解され、そのLH放出刺激作用が消失したものと考えられた。

EMAは、一連の動物での薬物動態データによりGnRHアナログが速やかに排泄されることが示されており、これはトリプトレリンの腔内投与後の雌豚における血中LH濃度のデータと一致するとして、トリプトレリンの安全性評価における残留試験の省略は妥当であると判断している。また、食品中に残留したトリプトレリンはヒトの消化管内で不活性なフラグメントに分解されると考えている。

FDAは、トリプトレリンが*in vivo*では分解を受けやすい小ペプチドであることから、残留濃度や代謝物の同定のための試験は相応ではないと考え、トリプトレリン酢酸塩製剤を投与した雌豚の可食組織におけるワーストケースの残留濃度から算出した摂食によるヒトへのばく露量を評価し、消費者の安全を確保するための十分なマージンがあると結論づけている。

食品安全委員会は、トリプトレリン酢酸塩を用いた残留試験は実施されていないが、豚を用いた腔内投与による薬物動態試験において、血漿中トリプトレリン濃度が投与8時間後には定量限界未満となること、並びに、ラットに対する単回及び反復強制経口投与によるLH濃度測定試験において、経口投与による血清中LH濃度への影響は認められず、トリプトレリンは消化管内で分解されると考えられることから、経口バイオアベイラビリティは低く、食品を介したばく露による影響は無視できると考えた。

### 2. 毒性学的又は薬理学的影響について

トリプトレリン酢酸塩を用いた遺伝毒性試験は実施されていない。しかし、トリプトレリンパモ酸塩を用いた各種遺伝毒性試験において陰性の結果が報告されており、かつ、トリプトレリンは消化管内で分解されると考えられることから、トリプトレリン酢酸塩は*in vivo*で遺伝毒性を示す懸念は低く、生体にとって問題となる遺伝毒性は示さないと考えた。

ラットを用いた強制経口及び皮下投与によるトリプトレリン酢酸塩のLH濃度測定試験 [II. 2. (2)] 及び45日間亜急性毒性試験 [II. 6. (1)及び(2)] において、皮下投与(4 µg/kg 体重/日)では、投与2時間後に明確な血清中LH濃度の上昇が認められ、投与期間終了時点では血清中のその他の性ホルモン濃度の変化及び生殖器官等への毒性影響が認められた。しかし、強制経口投与(最高用量4 µg/kg 体重/日)では試験期間を通して毒性影響は認められず、血清中の性ホルモン濃度の変化も認められなかったことから、トリプトレリン酢酸塩の経口投与による毒性影響は無視できるものと考えられた。

以上のことから、食品安全委員会は、トリプトレリン酢酸塩を用いた経口投与による発がん性試験及び生殖発生毒性試験は実施されていないが、食品健康影響評価に当たっては、トリプトレリン酢酸塩の経口投与による毒性学的及び薬理学的影響を考慮する必要性はないと考えた。

### 3. ADI の設定について

以上のように、トリプトレリン酢酸塩は、生体にとって問題となる遺伝毒性は示さないと考えられること、及び、消化管内で分解されるため、経口バイオアベイラビリティが低く、食品を介したヒトへのばく露は無視できると考えられることから、食品安全委員会は、トリプトレリン酢酸塩については、ADI を特定する必要はないと判断した。

<別紙1：検査値等略称>

略称等	名称
ADI	一日摂取許容量
AUC	薬物濃度曲線下面積
CHO 細胞	チャイニーズハムスター卵巣由来細胞
CL	クリアランス値
C <sub>max</sub>	最高濃度
CPK	クレアチニンホスホキナーゼ
CVMP	欧州医薬品（審査）庁動物用医薬品委員会
EMA（EMEA）	欧州医薬品庁（欧州医薬品審査庁）
FDA	米国食品医薬品庁
FSH	卵胞刺激ホルモン
Glob	グロブリン
GnRH	性腺刺激ホルモン放出ホルモン
LD <sub>50</sub>	半数致死量
LC-MS/MS	液体クロマトグラフィータンデム質量分析
LH	黄体形成ホルモン
MRL	最大残留基準値
NOAEL	無毒性量
RIA	放射免疫測定法、ラジオイムノアッセイ
T <sub>1/2</sub>	消失半減期
T <sub>max</sub>	最高濃度到達時間
Vd	分布容積

## <参照>

1. 日本イーライリリー株式会社. トリプトレリン酢酸塩残留基準値 (インポートトランス) 設定のための資料: 申請書 (非公表)
2. 日本イーライリリー株式会社. トリプトレリン酢酸塩残留基準値 (インポートトランス) 設定のための資料概要 (非公表)
3. The Merck Index, 15<sup>th</sup> Ed., 2013
4. グッドマン・ギルマン薬理書 第12版 廣川書店
5. EMEA: DESLORELIN ACETATE, Committee for Veterinary Medicinal Products, Summary Report, 2002.
6. 日本イーライリリー株式会社. トリプトレリン酢酸塩残留基準値 (インポートトランス) 設定のための資料: 参考資料1 (非公表)
7. Millar RP: GnRHs and GnRH receptors. Animal Reproduction Science, 2005; 88: 5-28.
8. EMA CVMP: Triptorelin acetate (all food producing species), European public MRL assessment report (EPMAR), 2014.
9. ファイザー株式会社: 医薬品添付文書「ナサニール®点鼻液0.2%」、2009年6月改訂第2版.
10. 武田薬品工業株式会社: 「リユープリン®注射用1.88 mg、リユープリン®注射用3.75 mg、リユープリン®注射用キット1.88 mg、リユープリン®注射用キット3.75 mg「タケダ」」、2015年9月改訂第21版
11. Ezan E, Drieu K, Chaperat M, Rougeot C and Dray F: Radioimmunoassay of [D-Trp<sup>6</sup>]-luteinizing hormone-releasing hormone: its application to animal pharmacokinetic studies after single injection and long-acting formulation administration. Regulatory Peptides, 1986; 14: 155-167.
12. 日本イーライリリー株式会社. トリプトレリン酢酸塩残留基準値 (インポートトランス) 設定のための資料: 試験資料4 (非公表)
13. 日本イーライリリー株式会社. トリプトレリン酢酸塩残留基準値 (インポートトランス) 設定のための資料: 参考資料3 (非公表)
14. Watson Laboratories, Inc.: Trelstar, Triptolerin pamoate, Prescribing information, 2013.
15. Müller FO, Terblanchè J, Schall R, van Zyl Smit R, Tucker T, Marais K, et al.: Pharmacokinetics of triptorelin after intravenous bolus administration in healthy males and in males with renal or hepatic insufficiency. British Journal of Clinical Pharmacology, 1997; 44: 335-341
16. 日本イーライリリー株式会社. トリプトレリン酢酸塩残留基準値 (インポートトランス) 設定のための資料: 試験資料1 (非公表)
17. 日本イーライリリー株式会社. トリプトレリン酢酸塩残留基準値 (インポートトランス) 設定のための資料: 試験資料6 (非公表)
18. 日本イーライリリー株式会社. トリプトレリン酢酸塩残留基準値 (インポートトランス) 設定のための資料: 試験資料2 (非公表)

19. 日本イーライリリー株式会社. トリプトレリン酢酸塩残留基準値 (インポートトランス) 設定のための資料: 試験資料 3 (非公表)
20. EMEA: GONADOTROPHIN RELEASING HORMONE (GONADORELIN), Committee for Veterinary Medicinal Products, Summary Report. 公表年月日不明
21. Watson Laboratories, Inc.: Trelstar, Triptolerin pamoate, Product Monograph, 2009.
22. 日本イーライリリー株式会社. トリプトレリン酢酸塩残留基準値 (インポートトランス) 設定のための資料: 試験資料 5 (非公表)
23. Clearsynth Labs Pvt. Ltd.: Triptorelin acetate, Material Safety Data Sheet.
24. 日本イーライリリー株式会社. トリプトレリン酢酸塩残留基準値 (インポートトランス) 設定のための資料: 試験資料 8 (非公表)
25. 日本イーライリリー株式会社. トリプトレリン酢酸塩残留基準値 (インポートトランス) 設定のための資料: 試験資料 9 (非公表)
26. 日本イーライリリー株式会社. トリプトレリン酢酸塩残留基準値 (インポートトランス) 設定のための資料: 試験資料 10 (非公表)
27. 日本イーライリリー株式会社. トリプトレリン酢酸塩残留基準値 (インポートトランス) 設定のための資料: 試験資料 7 (非公表)
28. FDA: NADA 141-339, OVUGEL (Triptorelin Acetate Gel), FREEDOM OF INFORMATION SUMMARY, Original new animal drug application, 2012.
29. EMEA: D-PHE<sup>6</sup>-LUTEINIZING-HORMONE-RELEASING-HORMONE, Committee for Veterinary Medicinal Products, Summary Report.
30. EU Commission: Official Journal of the European Union (EU), COMMISSION IMPLEMENTING REGULATION (EU) No 200/2014 of 3 March 2014, Triptorelin acetate.
31. Australian Government: Australian Public Assessment Report for Triptorelin Acetate, August 2015