

内臓および骨格観察においても奇形の発現率に影響は認められなかった。2.5 µg/kg 体重/日で腎盂拡張の発現率の上昇がみられた。

本試験における NOAEL は母動物及び胎児で 0.5 µg/kg 体重/日であると考
えられた。催奇形性は認められなかった。

5. 遺伝毒性試験 (参照 21)

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

表 5 *in vitro* 試験

試験	対象	投与量	結果
染色体異常試験	培養ヒト末梢血リンパ球	1、2、5、10 µg/mL (-S9 ; 47.5h) (対照: ±MNNG*; 47.5h)	陰性 ¹⁾

1): 対照 (+MNNG) でのみ、有糸分裂のギャップ及びブレイクの割合が増加。クロプロステノール投与後及び対照 (+MNNG) では異数体細胞及び倍数体細胞数に有意な変化は認められない。

* : N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine

表 6 *in vivo* 試験

試験	対象	投与量	結果
染色体異常試験	マウス骨髄細胞 (BALB/c AnNCR)	1、3、5 mg/kg 体重/日 (対照: ±MNNG) 単回筋肉内	陰性 ²⁾

2): 対照 (+MNNG) でのみ、倍数体細胞及び構造異常細胞数が増加。異数体細胞の割合は対照 (-MNNG) と大差ない。

(参考) d-クロプロステノールを用いた遺伝毒性試験 (参照 22)

d-クロプロステノールの遺伝毒性に関する各種の *in vitro* 及び *in vivo* 試験の結果を表 7、8 にまとめた。

表 7 *in vitro* 試験

試験	対象	投与量	結果
Ames 試験	<i>Salmonella typhimurium</i> TA1535, TA1537, TA98, TA100, TA102	313~5,000 µg/plate(±S9)	陰性 ³⁾
染色体異常試験	培養ヒトリンパ球	23.2~4,990 µg/mL (-S9 ; 2hr+22hr)	陰性 ⁴⁾
		23.2~4,990 µg/mL (+S9 ; 3hr+21hr)	陽性 ⁵⁾ (2320µg/mL)

- 3) plate incorporation、pre-incubation のそれぞれを実施。Pre-incubation の最高濃度で生育阻害が認められた。
- 4) 4,990 μ g/mL では細胞毒性が認められた。
- 5) 4,990 μ g/mL では細胞毒性が認められた。

表 8 *in vivo* 試験

試験	試験対象	投与量	結果
小核試験	マウス骨髄細胞	10、20、40mg/kg 体重/日 単回腹腔内	陰性 ⁶⁾

- 6) 投与群では多染性赤血球にたいする成熟赤血球比率の上昇が認められた

上記のとおり、dl-クロプロステノールについては *in vitro* 及び *in vivo* の染色体異常試験で陰性であった。また、ラセミ体の一つである d-クロプロステノールについては、*in vitro* の Ames 試験、培養ヒトリンパ球を用いた染色体異常試験及び *in vivo* の小核試験が行われ、*in vitro* の染色体異常試験で陽性と判定される所見が認められたが、骨髄に対して毒性の認められる用量まで試験されたげっ歯類を用いた小核試験では陰性であり、既に食品安全委員会で生体にとって特段、問題となる遺伝毒性はないものと考えられると評価している。

以上より、dl-クロプロステノールは限定された遺伝毒性試験しか行われていないが、d-クロプロステノールにおける遺伝毒性試験の結果を踏まえると、生体にとって特段、問題となる遺伝毒性はないものと考えられる。

6. その他

(1) 安全性試験 (牛) (参照 23, 24)

ホルスタイン種雌牛 (5 頭/群) を用いて dl-クロプロステノールを単回筋肉内 (0、0.5、25、50 mg/頭) 投与し、直腸温度、発汗、呼吸数、心拍数、胃腸運動性、疝痛症状、下痢、食欲、唾液分泌について投与直前から投与 72 時間後までの臨床観察を実施した。また、投与前から投与 72 時間後に膺検査、直腸検査を実施し、性周期の判定を行った。

25 及び 50 mg/頭投与群において、口角の泡、発情徴候と同じ興奮性及び過敏、泌乳が低下する毒性徴候が認められたが、どの徴候も緩和で一過性のものであり、その他に投与に起因する影響は認められなかった。(参照 23)

フリージアン種未経産牛 (2 頭/群) を用いて dl-クロプロステノール及び天然型 PGF2 α の筋肉内投与 (0、dl-クロプロステノール: 0.5、5 mg/頭、PGF2 α : 30、50mg/頭) 試験が実施された。経時的 (投与前、投与 1、3、24、48、72、168 時間後) に血液試料が採取され、臨床化学的観察 (血清定量分析) が実施されている。

15 項目 (Na、K、Cl、Ca、無機リン酸塩、Glu、BUN、TP、Alb、T.Bil、AP、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ、アラニンアミノトランスフ

ェラーゼ、イソクエン酸デヒドロゲナーゼ、クレアチンホスホキナーゼ) について検査された結果、個々の動物では、これらパラメーターの 1 つ以上がおよその正常範囲の上または下にばらついてはいるものの、いずれも薬剤及び投与量に相関のある変化は認められなかった。(参照 24)

(2) 安全性試験 (豚) (参照 25, 26)

雌豚 (1 頭/群、6~7 月齢、体重 92~103 kg) を用いて dl-クロプロステノールナトリウムを単回筋肉内 (0.175、0.525、0.875 mg/頭 : 常用量~5 倍量) 投与し、症状観察と血中プロゲステロン量を測定した (第 1 回試験)。約 1 ヶ月後に PMS による性周期同調処置を行い、PMS 処理 15 日後に dl-クロプロステノールナトリウムを単回筋肉内 (0.525、0.875、1.75 mg/頭 : 3 倍量~10 倍量) 投与し、行動、糞尿の状態、皮膚色調、呼吸数、脈拍、血中プロゲステロン値、生殖器の観察を実施した (第 2 回試験)。

第 1 回試験では、いずれの投与群でも投与に起因する影響は認められなかった。第 2 回試験の 1.75 mg/頭投与群では、呼吸の深大が認められた。血中プロゲステロン値は第 1 回試験の全投与群と第 2 回試験の 0.525mg/頭投与群で投与前より低値であり、1.75mg/頭投与群のみで顕著に低下した。第 2 回目の 0.525mg/頭投与群は子宮重量も軽く、生殖器の発育不全と考えられた。0.875 mg/頭投与群では投与による影響は認められなかった。(参照 25)

雌豚 (妊娠経産豚 32 頭、妊娠未經産豚 39 頭、非妊娠未經産豚 4 頭、体重 127~220 kg) を用いて dl-クロプロステノールを筋肉内 (0.525、0.7、0.875、1.4、1.75、2.8、3.5、5.6、11.2、16.8、22.4、28 mg/頭 : 3 倍量~160 倍量) 投与し、行動、排便、排尿頻度、皮膚色調、体温、脈拍、呼吸数、及び分娩と産児への影響を観察した。

主な症状は呼吸に関するもので、1.75 mg/頭以上投与群では呼吸困難が認められた。このほか投与群では「落ち着きのない行動」の増加が認められたが、ほとんどは 1 時間以内に消失している。(参照 26)

7. その他の知見 (参照 27~30)

プロスタグランジンはアラキドン酸等から動物の組織で合成される生理活性物質で、様々な種類及び生理的活性を有する一群の化合物であり、A~J の各群に分けられ、さらに側鎖の二重結合の数で 1~3 に分類されている。PGF₂α はプロスタグランジン的一种で、血圧上昇、血管収縮、腸管運動亢進、子宮収縮、黄体退行、気管支収縮作用等を有することが知られており、ヒト用の医薬品としても利用されている。dl-クロプロステノールは d-クロプロステノールと l-クロプロステノールのラセミ混合物で PGF₂α の合成類縁体である。

国内では PGF₂α、dl-クロプロステノール及び d-クロプロステノールがす

で動物用医薬品として使用されている。通常のウシ、ブタ等の食肉中には内因性 PGF₂α が存在しているとされており¹⁰、薬理作用からこの系統の薬剤の用途は必然的に限定される。さらに排泄が極めて早いことが確認されていることから、クロプロステノールについて EMEA では ADI を設定しつつも MRL の設定は不要であるとしている。FDA では ADI、MRL とともに設定していない。JECFA における評価は実施されていない。

Ⅲ. 食品健康影響評価

上記の通り、dl-クロプロステノールについては発がん性試験は実施されていないが、生体にとって特段、問題となる遺伝毒性を示さないと考えられることから、遺伝毒性発がん性物質である可能性は低いと考えられる。また、生殖発生毒性試験の結果から、催奇形性はないと認められる。毒性試験において認められた主な影響はプロスタグランジン作用によるものと考えられ、さらに、薬剤の性質から使用機会が限定されており、また、動物体内における代謝・排泄が早く、投与 1 日後の筋肉を含む主要臓器等及び投与後 2 回目採取の乳汁では、ppb オーダーでほとんど検出不可能となる。これらのことから、dl-クロプロステノールが適切に使用される限りにおいて、ヒトが食品を通じて dl-クロプロステノールを継続的に摂取する可能性は事実上ないものと考えられる。

以上より、dl-クロプロステノールが適切に使用される限りにおいて、食品を通じてヒトの健康に影響を与える可能性は無視できるものと考えられる。

¹⁰ 現在では、プロスタグランジン F₂α を含む三十数種のプロスタグランジンが知られており、あらゆる動物のすべての組織・体液中に、微量ではあるが (10⁻⁶~10⁻⁹g/g) 広く分布しているとされている。(参照 29)

<別紙1：検査値等略称>

略称	名称
Alb	アルブミン
AP	アルカリフォスファターゼ
BUN	血液尿素窒素
LD ₅₀	半数致死量
LH	黄体ホルモン
Glu	グルコース
GOT	グルタミン酸オキサロ酢酸トランスアミナーゼ(→AST)
PMS	血清性腺刺激ホルモン
T.Bil	総ビリルビン
T.Chol	総コレステロール
TP	総タンパク質

<参照>

- 1 シェリング・プラウアニマルヘルス株式会社, クロプロステノールの承認申請時の資料 I-1 : クロプロステノールの発見・開発経緯 (未公表)
- 2 食品安全委員会, 動物用医薬品評価書 d-クロプロステノールを有効成分とする牛及び豚の注射剤 (ダルマジン) の食品健康影響評価について, 2006
- 3 シェリング・プラウアニマルヘルス株式会社, クロプロステノールの使用の規制に関する要望書, 2007
- 4 シェリング・プラウアニマルヘルス株式会社, クロプロステノールの承認申請時の資料 X-2 : The disposition of the synthetic prostaglandin analogue cloprostenol ('Estrumate') in the rat and marmoset (未公表)
- 5 シェリング・プラウアニマルヘルス株式会社, クロプロステノールの承認申請時の資料 X II-3 : Distribution, elimination, and residue studies in the cow with the synthetic prostaglandin Estrumate (未公表)
- 6 シェリング・プラウアニマルヘルス株式会社, クロプロステノールの承認申請時の資料 X-3 : The metabolic fate of the synthetic prostaglandin cloprostenol ('Estrumate') in the cow : Use of ion cluster techniques to facilitate metabolite identification (未公表)
- 7 シェリング・プラウアニマルヘルス株式会社, クロプロステノールの承認申請時の資料 X II-4 : Clearance of the synthetic prostaglandin Cloprostenol ('Estrumate') from the milk of cows (未公表)
- 8 シェリング・プラウアニマルヘルス株式会社, クロプロステノールの承認申請時の資料 X-1 : Biological activities of the major bovine metabolite of cloprostenol. (未公表)
- 9 シェリング・プラウアニマルヘルス株式会社, クロプロステノールの承認申請時の資料 X II-2 : SM-3860 投与後の牛及び豚の臓器内残留試験 (未公表)
- 10 シェリング・プラウアニマルヘルス株式会社, クロプロステノールの承認申請時の資料 X II-1 : SM-3860 投与後の乳汁中残留試験 (未公表)
- 11 シェリング・プラウアニマルヘルス株式会社, クロプロステノールの承認申請時の資料 IV-1 : SM-3860 の急性毒性試験 (未公表)
- 12 シェリング・プラウアニマルヘルス株式会社, クロプロステノールの承認申請時の資料 IV-2 : SM-3860 のマウスにおける急性毒性試験 (未公表)
- 13 シェリング・プラウアニマルヘルス株式会社, クロプロステノールの承認申請時の資料 V-2 : 'Estrumate' (Cloprostenol) toxicity studies (未公表)
- 14 シェリング・プラウアニマルヘルス株式会社, クロプロステノールの承認申請時の資料 V-1 : SM-3860 のラットにおける 31 日間筋肉内投与による亜急性毒性試験 (未公表)

- 15 シェリング・プラウアニマルヘルス株式会社, クロプロステノールの承認申請時の資料VI-3 : ICI80,996-Cloprostenol Teratology study in rats – oral administration (未公表)
- 16 シェリング・プラウアニマルヘルス株式会社, クロプロステノールの承認申請時の資料VI-5 : ICI80,996-Cloprostenol The effect of ICI80,996 on reproductive performance, general fertility, maintenance of pregnancy and the neonate following oral administration to three generations of rats (未公表)
- 17 シェリング・プラウアニマルヘルス株式会社, クロプロステノールの承認申請時の資料VI-4 : ICI80,996-Cloprostenol Peri and post-natal reproductive toxicity study in rats (未公表)
- 18 シェリング・プラウアニマルヘルス株式会社, クロプロステノールの承認申請時の資料VI-1 : Teratology Studies in the Rat (未公表)
- 19 シェリング・プラウアニマルヘルス株式会社, クロプロステノールの承認申請時の資料VI-2 : Effect of ICI80,996 on the Pregnancy of the New Zealand White Rabbit (未公表)
- 20 川崎三鷹製薬株式会社, ダルマジン輸入承認申請書添付資料 : 吸入毒性等の特殊毒性に関する試験資料 (未公表)
- 21 N.DELIC, M.ANDELKOVIC, B.SOLDATOVIC, D.CVETKOVIC, IN VITRO AND IN VIVO CYTOGENETIC ANALYSIS OF THE EFFECTS OF CLOPROSTENOL ON MAMMALIAN CELLS , Acta Veterinaria(Beograd), Vol.47, No.2-3, 1997, p151-158
- 22 食品安全委員会、d-クロプロステノールを有効成分とする牛及び豚の注射剤（ダルマジン）の食品健康影響評価について：府食530号，2006
- 23 シェリング・プラウアニマルヘルス株式会社, クロプロステノールの承認申請時の資料V II-1 : Toxicity of cloprostenol in cattle (未公表)
- 24 シェリング・プラウアニマルヘルス株式会社, クロプロステノールの承認申請時の資料V III-2 : "Estrumate"(ICI 80,996 Cloprostenol) Field Trials in Cattle (未公表)
- 25 シェリング・プラウアニマルヘルス株式会社, クロプロステノールの承認申請時の資料V II-4 : 豚に対する Prostaglandin F₂α 類縁体(ICI 80,996)の多量投与の影響について (未公表)
- 26 シェリング・プラウアニマルヘルス株式会社, クロプロステノールの承認申請時の資料V II-2 : The acute toxicity of cloprostenol in pigs (未公表)
- 27 EMEA , COMMITTEE FOR MEDICINAL PRODUCTS FOR VETERINARY USE CLOPROSTENOL AND R-CLOPROSTENOL SUMMARY REPORT(1), 1997

- 28 EMEA , COMMITTEE FOR MEDICINAL PRODUCTS FOR VETERINARY USE CLOPROSTENOL AND R-CLOPROSTENOL (Extension ti goats) SUMMARY REPORT(2), 2004
- 29 FDA, TITLE 21--FOOD AND DRUGS CHAPTER I --FOOD AND DRUG ADMINISTRATION DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES SUBCHAPTER E--ANIMAL DRUGS , FEEDS, AND RELATED PRODUCTS. PART 522--IMPLANTATION OR INJECTABLE DOSAGE FROM NEW ANIMAL DRUGS. Sec.522.460 Cloprostenol sodium, 2007
- 30 プロスタグランジン. 岩波生物学辞典. 第4版, 岩波書店, 1996, p1239