

本試験において、全投与群の雌雄において心臓の比重量の増加が認められたことから、NOAEL は設定できず、LOAEL は雌雄ともに 0.1 mg/kg 体重/日であると考えられた。また、本試験では、マウスに発がん性は認められなかった。

表 27 2 年間発がん性試験 (マウス) において認められた毒性影響

| 投与群 (mg/kg 体重/日) | 雄 | 雌 |
|---------------------|--|--|
| 25 | <ul style="list-style-type: none"> ・体重減少 ・精巣の白膜における石灰化の発生頻度上昇及び程度の増強 | <ul style="list-style-type: none"> ・体重減少 ・心臓の絶対重量の増加 |
| 1 | <ul style="list-style-type: none"> ・心臓の絶対重量の増加 | |
| 0.1 以上 | <ul style="list-style-type: none"> ・心臓の比重量の増加 | <ul style="list-style-type: none"> ・心臓の比重量の増加 |

(5) 2 年間発がん性試験 (ラット) (参照 3、5、26)

ラット (Chbb: THOM 系、6 週齢、雌雄各 48~72 匹/群) を用いた塩酸クレンブテロールの混餌あるいは飲水投与⁵ (0、6.25、12.5、25 mg/kg 体重/日) 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とおりであった。本試験では、腫瘍発生におけるラットの系統差を考慮するために、対照群及び 25 mg/kg 体重/日投与群については、別のラット (SD 系: Charles River CD、雌雄各 72 匹/群) 群を設けた。

試験終了時における生存率は、雄で 70~87%、雌では 50~71%であった。死亡率は途中解剖例も含めて 34.4%であった。

一般状態では、全投与群において神経過敏、筋緊張及び攻撃性が認められた。また、ストレスに起因すると考えられる色素涙が認められた。

体重では、いずれの系統の雌雄においても用量依存的な減少が認められた。

飲水量では、SD 系ラットの 25 mg/kg 体重/日投与群で減少が認められた⁶。

摂餌量及び剖検では、投与に起因する影響は認められなかった。

病理組織学的検査では、Chbb: THOM ラットに投与に起因する影響は認められなかった。一方、SD 系ラットでは、25 mg/kg 体重/日投与群で卵巣間膜に平滑筋腫 (別紙 1 参照) の発生が認められた (0 mg: 0 例/72 匹、25 mg: 11 例/72 匹⁷)。その他、対照群も含めていずれの投与群においても心内膜下の線維化が認められ、特に Chbb: THOM ラットでは高い発生が認められたが、いずれも老齢性変化であると考えられた。

本試験において、全投与群の雌雄で神経過敏、筋緊張及び攻撃性、色素涙、体重減少、が認められたことから、NOAEL は設定できず、LOAEL は雌雄ともに 6.25 mg/kg 体重/日であると考えられた。また、本試験では、Chbb: THOM ラットには発がん性は認め

⁵ 混餌投与は最初の 20 週間のみ。対照群の 1 例で投与群と同様の臨床症状が認められ、被験物質の粉塵による暴露の可能性が考えられたことから、試験 20 週目以降は飲水投与に変更。

⁶ 飲水中の高濃度の塩 (被験物質) が減少の原因と考えられる。

⁷ 2/11 例では両側性に認められた。

られなかったが、SD系ラットでは卵巣間膜に平滑筋腫の発生が認められた。

表 28 2年間発がん性試験（ラット）において認められた毒性影響

| 投与群 (mg/kg 体重/日) | 雄 | 雌 |
|---------------------|--|---|
| 6.25 以上 (THOM) | <ul style="list-style-type: none"> ・体重の減少 ・神経過敏、筋緊張及び攻撃性、色素涙（雌雄不明） | <ul style="list-style-type: none"> ・体重の減少 |
| 25 (SD) | <ul style="list-style-type: none"> ・体重の減少 ・飲水量の減少 | <ul style="list-style-type: none"> ・体重の減少 ・飲水量の減少 ・卵巣間膜に平滑筋腫 |

6. 生殖発生毒性試験

(1) 1世代繁殖試験（ラット）（参照 3、5、27）

ラット（Chbb:THOM系、雄：6週齢、雌：7週齢、雌雄各30匹/群）を用いた塩酸クレンブテロールの強制経口投与（0、1、7、50 mg/kg 体重/日）による1世代繁殖試験が実施された。被験物質の投与は、雄は交配10週前から交配期間を通して、雌は交配2週前から妊娠13日あるいは離乳時まで連日行った。妊娠13日に母動物の半数を開腹して胚の生死を検査した。残りの半数については自然分娩させ、生後3週に児を剖検した。また、ラットを用いた周産期及び授乳期投与試験（参照33）で7 mg/kg 体重/日以上投与群で生存児数の減少及び死産児数の増加が認められたことから、本試験では、対照群及び50 mg/kg 体重/日投与群の母動物（各6例）から生まれた児動物を出生直後に交差哺育し、これらの影響が被験物質の胎盤を介した胎児への作用によるものか、あるいは母動物の哺育能の低下によるものかを確認した。さらに、β刺激薬には心筋壊死の誘発が知られていることから、対照群及び50 mg/kg 体重/日投与群の生後1日の児動物（各3例）について、心臓の病理組織学的検査と組織化学的検査（LDH、NADH-T-R、SDH、グリコーゲン、ホスホリラーゼ、ATPase（pH 7.2及び9.4）、AMPase、ALP、ACPase：ラットを用いた18ヶ月間慢性毒性試験と同項目）を実施した。

親動物については、試験期間中に投与に起因する死亡例は認められなかった。また、一般状態、雌雄の繁殖能、雌の受胎率及び剖検に投与に起因する影響は認められなかった。体重では、50 mg/kg 体重/日投与群で雄の体重増加抑制が認められ、雌では妊娠期間中の体重増加抑制が認められた。

妊娠13日の胚生存率及び胚死亡吸収率には投与の影響は認められなかった。

出生後の児動物については、50 mg/kg 体重/日投与群で死産児数の増加及び生存児数の減少が認められ生後1日までに全児が死亡した。対照群と50 mg/kg 体重/日投与群で児動物を交差哺育した場合も、50 mg/kg 体重/日投与群の児動物で死亡が認められた。一方、50 mg/kg 体重/日投与群の母動物に哺育された対照群の児動物においても、授乳期間中に生存児数の減少が認められ、投与の影響による母動物の哺育能の低下あるいは児動物への被験物質の乳汁暴露による生存に対する有害影響が示唆された。生後7日の生存児数の減少が7 mg/kg 体重/日投与群で認められた。また、体重については生後1日に全投与群で減少が認められ、生後21日には7 mg/kg 体重/日投与群で児体重の減少

がみられた。病理組織学的検査では、心臓に明らかな異常は認められなかったが、組織化学的検査では、50 mg/kg 体重/日投与群で脱水素酵素及びフォスファターゼの活性低下が主に左心室壁で認められ、グリコーゲン量の減少が主に左心側で認められた。

本試験において、親動物では50 mg/kg 体重/日投与群で体重増加抑制が認められたことから、親動物に対するNOAELは7 mg/kg 体重/日、児動物では全投与群で体重の減少が認められたことからNOAELは設定できず、児動物に対するLOAELは1 mg/kg 体重/日であると考えられた。(表29)

表29 1世代繁殖試験(ラット)で認められた毒性影響

| 投与群 (mg/kg 体重/日) | 親動物 | 児動物 |
|---------------------|-----------------------|---|
| 50 | ・体重増加抑制(雌では妊娠期間のみ) | <ul style="list-style-type: none"> ・死産児数の増加、生存児数の減少(生後1日までに全例死亡) ・児動物の死亡(対照群の母動物が交差哺育) ・交差哺育した対照群の児動物の生存児数の減少 ・左心室壁で脱水素酵素及びフォスファターゼの活性低下 ・左心側でグリコーゲン量の減少 |
| 7以上 | 7 mg/kg 体重/日以下、毒性所見なし | <ul style="list-style-type: none"> ・生後7日の生存児数の減少 ・生後21日に児体重の減少 |
| 1以上 | | <ul style="list-style-type: none"> ・生後1日の体重減少 |

(2) 2世代繁殖試験(ラット)(参照3、5、28)

高投与量による上記の試験をヒトでの服用量を用いて追試した。ラット(Chbb・THOM系、日齢不明、雌雄各34匹/群)を用いた塩酸クレンブテロールの強制経口投与(0、1.5、7.5、15 µg/kg 体重/日)による2世代繁殖試験が実施された。被験物質の投与は、雄は交配10週前から交配期間を通して、雌は交配2週前から妊娠期間終了まで連日行った。妊娠12~14日に母動物の半数を開腹して胚の生死を検査し、残りの半数については自然分娩させ生後3週まで哺育し、身体発達を含む各種検査に供した。また、一腹につき雌雄各2例の児動物(F₁)を選択し、各種の感覚機能及び行動を検査した。その後、F₁を交配して得られた児動物(F₂)の発育及び行動を観察した。

親動物については、15 µg/kg 体重/日投与群の雄に投与13日から1週間興奮が認められたが、より高用量の他の試験において同様の影響が認められていないことから、投与に起因する影響ではないと考えられた。体重、摂餌量、繁殖能、生存胚数、吸収胚数、剖検及び妊娠期間に投与に起因する影響は認められなかった。

児動物については、F₁では体重、各種の感覚機能及び行動検査、繁殖能等いずれにおいても投与に起因する影響は認められず、また、F₂の発育及び行動にも投与に起因する影響は認められなかった。

本試験において、親動物及び児動物では投与に起因する影響は認められなかったことから、親動物及び児動物に対する NOAEL は本試験の最高用量である 15 µg/kg 体重/日であると考えられた。

(3) 催奇形性試験 (ラット) (参照 3、5、29、30、31、32)

ラット (SD 系、11 週齢、雌 32~34 匹/群) の妊娠 7 日から 17 日に塩酸クレンブテロールを強制経口投与 (0、0.4、2、10 mg/kg 体重/日) し、妊娠 20 日に妊娠動物の 2/3 を帝王切開して胎児 (F₁) を検査した。残りの 1/3 の妊娠ラットについては自然分娩させて得た児動物 (F₁) を離乳後も飼育して内臓/骨格検査、機能/行動/学習試験及び生殖能力を検査した。

母動物については、試験期間中に投与に起因する死亡は認められなかった。一般状態、妊娠期間、出生率、剖検等に投与に起因する影響は認められなかった。なお、体重、摂餌量及び飲水量については、全投与群で投与初期に一過性の減少が認められたが、直ちに对照群と同程度まで回復した。

胎児 (F₁) については、着床数、吸収胚数、胚/胎児死亡率、生存胎児数、性比、外表/内臓/骨格奇形の所見に投与に起因する影響は認められなかった。胎児体重は 2 mg/kg 体重/日以上投与群で減少が認められた。また、骨格観察では、全投与群で第 6 胸骨核未化骨胎児の発現頻度の増加、2 mg/kg 体重/日以上投与群で上後頭骨及び仙尾椎骨の骨化遅延が認められ、10 mg/kg 体重/日投与群では肋骨湾曲の発生頻度の増加が認められた。

しかし、出生後の児動物 (F₁) の検査では、10 mg/kg 体重/日投与群の出生率の減少、雌児の体重増加抑制が認められた。また第 6 胸骨核未化骨、上後頭骨及び仙尾椎骨の骨化遅延、肋骨湾曲はいずれの投与群の出生児にも観察されなかったことから、これらの骨格所見は一過性的な変化と判断される。児動物 (F₁) の生後観察では、生存率、一般状態、臓器重量、機能試験、オープンフィールド試験、条件回避反応試験及び生殖能力に投与に起因する影響は認められなかった。10 mg/kg 体重/日投与群の雌雄で Glu の増加及び AST の減少が認められた。F₂ 胎児では 10 mg/kg 体重/日投与群において腎盂拡張又は腰肋の発現頻度の上昇が認められた。

本試験において、母動物では投与に起因する影響は認められず、F₁ 児では 2 mg/kg 体重/日以上投与群の胎児に体重減少が認められたことから、母動物に対する NOAEL は本試験の最高用量である 10 mg/kg 体重/日、F₁ 児に対する NOAEL は 0.4 mg/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。(表 30) (参照 29)

表 30 催奇形性試験（ラット）で認められた毒性影響①

| 投与群 (mg/kg 体重/日) | 母動物 | 胎児 (F ₁ 、F ₂)・児動物 (F ₁) |
|---------------------|------------------------|---|
| 10 | 10 mg/kg 体重/日以下、毒性所見なし | <ul style="list-style-type: none"> ・出生率の減少 (F₁ 児動物) ・体重増加抑制 (F₁ 雌児動物) ・Glu の増加 (F₁ 雌雄児動物) ・AST の減少 (F₁ 雌雄児動物) ・腎盂拡張又は腰肋の発現頻度の上昇 (F₂ 胎児) |
| 2 以上 | | <ul style="list-style-type: none"> ・胎児体重の減少 (F₁ 胎児) |
| 0.4 | | 毒性所見なし |

ラット (Biberach 系、110 日齢、雌 20 匹/群) の妊娠 5 日から 14 日に塩酸クレンブテロールを強制経口投与 (0、0.04、0.2、1 mg/kg 体重/日) し、妊娠 20 日に胎児を検査した。

母動物については、試験期間中に投与に起因する死亡は認められなかった。また、一般状態、摂餌量、体重、繁殖能及び剖検に投与に起因する影響は認められなかった。

胎児については、吸収胚数、生存胎児数、胎児体重に投与に起因する影響は認められなかった。また、胎児奇形の発現率に投与による影響は認められなかった。

本試験において、母動物及び胎児には投与に起因する影響が認められなかったことから、母動物及び胎児に対する NOAEL は本試験の最高用量である 1 mg/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。(参照 3、5、30)

ラット (SD 系、概ね 100 日齢、雌 25 匹/群) の妊娠 8 日から 13 日に塩酸クレンブテロールを強制経口投与 (0、0.01、1、10、100 mg/kg 体重/日) し、妊娠 21 日に各群 20 匹を帝王切開して胎児を検査し、残りの 5 匹については自然分娩させ、児動物の発育等を観察した。

母動物については、試験期間中に投与に起因する死亡例は認められなかった。一般状態では、100 mg/kg 体重/日投与群で脱力、過敏あるいは血様の膣分泌物が認められた。投与期間中の体重は、10 mg/kg 体重/日以上投与群で増加抑制が認められた。剖検では、1 mg/kg 体重/日以上投与群で子宮角粘膜出血が認められたが、発現頻度に用量依存性は認められなかった。

胎児について、10 mg/kg 体重/日以上投与群で生存胎児数の減少、吸収胚数の増加、着床後胚/胎児死亡率の増加及び奇形発生率の増加が認められた。なお、主な奇形は全身浮腫、肋骨奇形及び椎骨の分離であった。

自然分娩群では、出生時に 100 mg/kg 体重/日投与群で生存児数の減少及び生存児の平均体重の減少が認められた。100 mg/kg 体重/日投与群では出生時に 33 匹であった生存児がわずか 4 匹に減少した。

本試験において、母動物では 10 mg/kg 体重/日以上投与群で体重増加抑制が認められ、F₁ 児では 10 mg/kg 体重/日以上投与群で胚/胎児死亡率の増加等が認められたことから、

母動物及び F₁児に対する NOAEL は 1 mg/kg 体重/日であると考えられた。10 mg/kg 体重/日以上投与群では催奇形性が認められた。(表 31)。(参照 3、5、31)

表 31 催奇形性試験 (ラット) で認められた毒性影響②

| 投与群 (mg/kg 体重/日) | 母動物 | 胎児・児動物 |
|---------------------|--|---|
| 100 | <ul style="list-style-type: none"> ・脱力、過敏 ・血様の膣分泌物 | <ul style="list-style-type: none"> ・出生時生存児数の減少 ・出生時生存児の平均体重の減少 |
| 10 以上 | <ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制 | <ul style="list-style-type: none"> ・生存胎児数の減少 ・吸収胚数の増加 ・着床後胚/胎児死亡率の増加 ・奇形発生率の増加 (主な奇形は全身浮腫、肋骨奇形及び椎骨分離) |
| 1 以下 | 毒性所見なし | 毒性所見なし |

ラット (SD 系、概ね 14 週齢、雌 25 匹/群) の妊娠 8 日から 17 日に塩酸クレンブテロールを強制経口投与 (0、0.01、0.1、1、10、100 mg/kg 体重/日) し、妊娠 21 日に各群 20 匹を帝王切開して胎児を検査し、残りの 5 匹については自然分娩させ、児動物の発育等を観察した。なお、本試験は、前述の試験 (参照 31) で認められた結果を検証するために実施された。

母動物については、試験期間中に 100 mg/kg 体重/日投与群で 25 例中 6 例の死亡が認められ、投与期間が上記の試験より長期であったことに起因すると考えられた。一般状態では 100 mg/kg 体重/日投与群の全例に衰弱が認められ、膣分泌物が 4 例認められた。100 mg/kg 体重/日投与群で有意な体重増加抑制が認められた。

胎児については、10 mg/kg 体重/日以上投与群で生存胎児数の減少が認められ、100 mg/kg 体重/日投与群では吸収胚数の増加、胎児体重の有意な減少が認められ、奇形胎児の発現率に増加がみられた。

出生児動物については、100 mg/kg 体重/日投与群で出生時生存児の数及び体重の減少が認められた。哺育期間中には、耳介展開及び遊泳能の遅延が認められた。

本試験において、母動物では 100 mg/kg 体重/日投与群で衰弱や死亡、体重の増加抑制等が認められ、また、F₁児では 10 mg/kg 体重/日以上投与群で生存胎児数の減少が認められたことから、母動物に対する NOAEL は 10 mg/kg 体重/日、F₁児に対する NOAEL は 1 mg/kg 体重/日であると考えられた。100 mg/kg 体重/日投与群では催奇形性が認められた。(表 32) (参照 3、5、32)

表 32 催奇形性試験（ラット）で認められた毒性影響③

| 投与群 (mg/kg 体重/日) | 母動物 | 胎児・児動物 |
|---------------------|---|--|
| 100 | <ul style="list-style-type: none"> ・死亡例 ・衰弱 ・膾分泌物 ・体重増加抑制 | <ul style="list-style-type: none"> ・吸収胚数の増加 ・胎児体重の減少 ・奇形胎児の発現率の増加 ・出生時生存児数の減少 ・出生時生存児体重の減少 ・耳介展開及び遊泳能の遅延 |
| 10 以上 | 10 mg/kg 体重/日以下、毒性所 | ・生存胎児数の減少 |
| 1 以下 | 見なし | 毒性所見なし |

(4) 周産期及び授乳期投与試験（第Ⅲ節）（ラット）（参照 3、5、33）

ラット（Chbb・THOM 系、概ね 9 週齢、雌 20 匹/群）の妊娠 15 日から分娩 3 週後まで塩酸クレンブテロールを強制経口投与（0、1、7、50 mg/kg 体重/日）し、母動物は分娩 3 週後に剖検した。児動物は生後 3 週に剖検し、X 線検査により骨格異常を調べた。

母動物については、試験期間中に投与に起因した一般状態の変化は認められなかった。摂餌量は全投与群で用量依存性の減少が認められた。

児動物については、出生時において、7 mg/kg 体重/日以上投与群で生存児数の減少及び死産児数の増加が認められた。生後 1 週間で 7 mg/kg 体重/日以上投与群の生存児数は減少し、50 mg/kg 体重/日投与群では全例が死亡した。体重は、出生時及び授乳期間を通じて、全投与群で用量依存的な減少が認められた。

本試験において、母動物では全投与群で摂餌量の減少、児動物では全投与群で体重の減少が認められたことから NOAEL は設定できず、母動物及び児動物に対する LOAEL は 1 mg/kg 体重/日であると考えられた。

(5) 催奇形性試験（ウサギ）（参照 34~36）

ウサギ（Russians/Biberach 系、概ね 36 週齢、雌 15 匹/群）の妊娠 6 日から 18 日に塩酸クレンブテロールを強制経口投与（0、0.03、0.1、0.3 mg/kg 体重/日）し、妊娠 29 日に胎児を検査した。

母動物については、試験期間中に投与に起因する死亡例は認められなかった。一般状態、体重、摂餌量及び剖検に投与に起因する影響は認められなかった。

胎児については、吸収胚数、生存胎児数、胎児体重及び奇形胎児の発現頻度に投与に起因する影響は認められなかったが、0.1 mg/kg 体重/日以上投与群で骨格変異を有する胎児が増加した。

本試験において、母動物に投与に起因する影響は認められなかったが、0.1 mg/kg 体重/日以上投与群で胎児に骨格変異が増加したことから、母動物に対する NOAEL は本試験の最高用量である 0.3 mg/kg 体重/日、胎児に対する NOAEL は 0.03 mg/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。（参照 34）

ウサギ（ヒマラヤン系、5~5.5 ヶ月齢、雌、13~14 匹/群、10 匹/無処置群）の妊娠 6 日から 18 日に塩酸クレンプテロールを強制経口投与（0、0.4、2、10 mg/kg 体重/日）し、妊娠 29 日に胎児を検査した。なお、対照群には蒸留水を投与する群の他に無処置群を設定した。

母動物については、試験期間中に投与に起因する死亡例は認められず、一般状態及び体重に投与に起因する影響は認められなかった。摂餌量では、10 mg/kg 体重/日投与群で妊娠 17~18 日に減少が認められた。臓器重量では、10 mg/kg 体重/日投与群で心臓及び肝臓の絶対及び比重量の増加が認められた。

胎児については、2 mg/kg 体重/日以上投与群で生存胎児数の減少、吸収及び死亡胎児率の増加、平均胎児体重の減少が認められた。胎児の形態学的所見には投与の影響は認められなかった。

本試験において、母動物では 10 mg/kg 体重/日投与群で摂餌量の減少、心臓及び肝臓の絶対及び比重量の増加が認められ、胎児では 2 mg/kg 体重/日以上投与群で生存胎児数の減少、吸収及び死亡胎児率の増加、平均胎児体重の減少が認められたことから、母動物に対する NOAEL は 2 mg/kg 体重/日、胎児に対する NOAEL は 0.4 mg/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。（表 33）（参照 35）

表 33 催奇形性試験（ウサギ）で認められた毒性影響①

| 投与群 (mg/kg 体重/日) | 母動物 | 胎児・児動物 |
|---------------------|--|---|
| 10 | <ul style="list-style-type: none"> 摂餌量の減少 心臓の絶対及び比重量の増加 肝臓の絶対及び比重量の増加 | |
| 2 以上 | 2 mg/kg 体重/日以下、毒性所見なし | <ul style="list-style-type: none"> 生存胎児数の減少 吸収及び死亡胎児率の増加 平均胎児体重の減少 |
| 0.4 以下 | | 毒性所見なし |

ウサギ（ヒマラヤン系、概ね 19 週齢、雌 10 匹/群）の妊娠 8 日から 16 日に塩酸クレンプテロールを強制経口投与（0、0.01、1、50 mg/kg 体重/日）し、妊娠 30 日に胎児を検査した。

母動物については、試験期間中に投与に起因する死亡例は認められず、一般状態に投与に起因する影響は認められなかった。50 mg/kg 体重/日投与群で体重、摂餌量及び飲水量の減少が認められた。

胎児については、50 mg/kg 体重/日投与群で吸収胚数の増加、生存胎児数の減少、胎児体重の減少が認められた。また、50 mg/kg 体重/日投与群では、大部分の胎児が死亡し、生き残った胎児 7 匹中 6 匹に口蓋裂及び胸骨の骨癒合等が認められた。

本試験において、母動物では 50 mg/kg 体重/日投与群に体重、摂餌量及び飲水量の減少が認められ、胎児では 50 mg/kg 体重/日投与群に吸収胚数の増加、生存胎児数の減少、胎児体重の減少が認められたことから、母動物及び胎児に対する NOAEL は 1 mg/kg

体重/日であると考えられた。50 mg/kg 体重/日投与群では奇形胎児の増加が観察された。
(表 34) (参照 3、5、36)

表 34 催奇形性試験 (ウサギ) で認められた毒性影響②

| 投与群 (mg/kg 体重/日) | 母動物 | 胎児・児動物 |
|---------------------|--|--|
| 50 | <ul style="list-style-type: none"> ・ 体重の減少 ・ 摂餌量及び飲水量の減少 | <ul style="list-style-type: none"> ・ 吸収胚数の増加 ・ 生存胎児数の減少 ・ 胎児体重の減少 ・ 口蓋裂及び胸骨の骨癒合等 |
| 1 以下 | 毒性所見なし | 毒性所見なし |

7. 遺伝毒性試験

遺伝毒性に関する各種の *in vitro* 及び *in vivo* 試験の結果を表 35 及び表 36 にまとめた。
(参照 37~44)

表 35 *in vitro* 試験

| 試験 | 対象 | 用量 | 結果 |
|--------------------------------|--|--|-----------------------------|
| 復帰突然変異試験 | <i>Salmonella typhimurium</i> TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA1538, <i>Escherichia coli</i> WP2 <i>uvr</i> | 10、50、100、500、1,000、 5,000 µg/plate(±S9) | 陰性 (参照 37) |
| | <i>S. typhimurium</i> TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA1538、 <i>E. coli</i> WP2(P) | 40、200、1,000、2,500 µg/plate(±S9) ¹⁾ | 陰性 (参照 38) |
| 前進突然変異試験 (HGPRT) ²⁾ | チャイニーズ・ハムスター肺由来 の線維芽細胞株 (V-79) | 10、100、500、1,000 µg/mL (− S9) 10、50、100、500、1,000 µg/mL (+S9) | 陰性 (参照 39) |
| 前進突然変異試験 | マウス L5178Y TK ⁺ リン フォーマ細胞 | 300、400、500、600、700、 800 µg/mL (±S9) | 陰性 ³⁾ (参照 40) |
| 染色体異常試験 | チャイニーズ・ハムスター肺由来 の線維芽細胞株 (V-79) | 0.04、0.08、0.17 mg/mL(±S9) | 陰性 (参照 41) |
| | 培養ヒトリンパ球 | 177.6、235.5、314、418.6、 558.1 µg/mL (−S9) 1,323、1,764、2,352、3,136 µg/mL(+S9) | 陰性 ⁴⁾ (参照 42) |

1) S9 はラット由来。

2) 現在のプロトコールに基づかない。

3) 700 及び 800 µg/mL (+S9) で増加。但し、再現性なし。

4) +S9 で増加の場合あり。但し、再現性及び用量依存性なし。JECFA では遺伝毒性は陰性と評価。

表 36 *in vivo* 試験

| 試験 | 対象 | 用量 | 結果 |
|---------|----------------------|---|---------------|
| 小核試験 | マウス骨髄細胞 | 0、0.006、0.5、50 mg/kg 体重/日、 2日間連続経口投与 | 陰性 (参照 43) |
| 染色体異常試験 | チャイニーズ・ハムスター 骨髄細胞 | 19、60、186 mg/kg 体重/日、 5日間連続経口投与 | 陰性 (参照 44) |

上記のように、*in vitro* の細菌を用いた復帰突然変異試験、動物細胞を用いた染色体異常試験、前進突然変異試験 (HGPR) のいずれにおいても代謝活性化の有無にかかわらず陰性を示した。一方、マウスリンフォーマ細胞を用いた前進突然変異試験及びヒトリンパ球を用いた染色体異常試験の結果では一部で増加が認められたが、再現性や用量依存性は認められなかった。また、*in vivo* の染色体異常試験の結果はいずれも陰性であったことから、塩酸クレンブテロールは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。

8. 刺激性試験 (参照 3)

(1) 皮膚刺激性試験

ウサギ (Russian/Biberach 系、性別不明、6 匹) の皮膚に塩酸クレンブテロールを 28 日間閉塞塗布した結果、皮膚刺激性は認められなかった。

(2) 筋肉内刺激性試験

ウサギ (系統、性別不明) の背部筋肉内に塩酸クレンブテロール製剤を 0.5 mL 投与した結果、ごく軽度の出血、浮腫及び壊死が認められた。

(3) 眼粘膜刺激性試験

ウサギ (ニュージージーランドホワイト種、性別不明、6 匹) の左眼に塩酸クレンブテロール製剤 (0.1 mL) を注入した結果、中程度の刺激性が認められた。なお、投与 48 時間後には回復が認められた。

9. 免疫毒性試験 (参照 3)

モルモット (系統、性別不明) を用いた塩酸クレンブテロールの皮膚感作性試験 (Buehler 法 : 有効成分として 70.4 μ g/mL、Maximization 法 : 0.2 % 溶液 + Freund's アジュバント) を実施した結果、皮膚感作性は陰性であった。

10. 一般薬理試験 (参照 45~47)

クレンブテロールの各種臓器への作用を β -受容体刺激薬であるイソプロテレノール、サルブタモール及びクレンブテロールの代謝物である代謝物 A の作用と比較検討した一般薬理試験を実施した。

主として β_1 -受容体を有する心房及び消化管においては、クレンブテロールの作用はイソプロテレノールよりもかなり弱くサルブタモールと同じ、もしくはさらに弱かった。

(イソプロテレノール > サルブタモール ≥ クレンブテロール)。一方、 β_2 受容体を有する子宮（妊娠/非妊娠）、血管及び気管平滑筋（ヒスタミン収縮）においては、クレンブテロール作用はイソプロテレノール、サルブタモールと同じ、もしくは強かった（クレンブテロール ≥ イソプロテレノール、サルブタモール）。一方、プロスタグランジン $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$) 及びブラジキニンで収縮した気管では、クレンブテロールの作用はイソプロテレノールに比べて弱かったが、最大効力は同じであった。また、自発性収縮を起こした気管平滑筋においてはクレンブテロールの効力はイソプロテレノールよりも強く、最大反応は同じであった。以上の結果より、クレンブテロールは β_2 受容体に対して比較的選択性が高いことが確認された。また、ヒスタミンによる気管狭窄を緩解したことから、気管支喘息に有効であることが示唆された。その他、神経刺激による骨格筋収縮に対するクレンブテロールの影響は認められなかった。また、代謝物 A は全ての臓器において明らかな作用は示さなかった。（参照 45）

クレンブテロールの循環器系、子宮、糖代謝等に対する一般薬理試験を実施した。結果は表 37 に示されている。

クレンブテロールのこれらの作用は β 遮断薬であるプロプラノロールの処置により抑制されたことから、 β 受容体刺激作用を介する作用と推察された。（参照 46）

表 37 一般薬理試験概要

| 試験の種類 | 動物種 | 投与量 ($\mu\text{g}/\text{kg}$) | 無作用量 ($\mu\text{g}/\text{kg}$) | クレンブテロール 作用量 ($\mu\text{g}/\text{kg}$) | 結果の概要 | |
|------------|---------------------------|------------------------------------|-------------------------------------|--|-------|---|
| 呼吸循環器系への作用 | ① クレンブテロールの直接作用（大腿静脈内注入） | | | | | |
| | 血圧 | イヌ | 10, 30, 100 iv. | — | 10 | 用量依存的な下降 (1時間以上持続) |
| | 心拍数 | | | | | 用量依存的な増加 (1時間以上持続) |
| | 左心室内圧 | | | | | 投与直後に用量依存性の一過性の減少。30 μg 投与群以上では回復したが、10 μg 投与群では逆に上昇。 |
| | Max. dLVP/dt ⁸ | | | | | 10 及び 100 μg 投与群で軽度な増加傾向。 |
| | 大腿動脈血流量 | | | | | |
| | ② 迷走神経刺激による反応に及ぼす影響 | | | | | |
| | 血圧 心拍数 | イヌ | 10, 30, 100 iv. | — | — | 影響なし |
| | ③ 総頸動脈閉鎖による反射性反応に及ぼす影響 | | | | | |
| | 血圧 | イヌ | 10, 30, 100 iv. | 30 | 100 | 総頸動脈閉鎖による上昇作用をクレンブテロールはいずれも抑制。 |
| 左心室内圧 | 10 | | | 30 | | |

⁸ 左心室内圧最大立ち上がり速度

| | Max. dLVP/dt | | | 30 | 100 | |
|---|----------------------|----------------------------|-----------------------------|--|--------------------------|---|
| 局所血流量に及ぼす影響 | ① 大腿動脈血流量(FBF)に及ぼす影響 | | | | | |
| | 血圧 | イヌ | 0.03、0.1、0.3、 1、3 ia. | — | — | 影響なし |
| | 心拍数 | | | — | — | 影響なし |
| | FBF | | | 0.03 | 0.1 | クレンプテロールは 0.1µg 投与群以上で用量依存的に FBF を増加。 |
| | ② 冠状動脈血流量(CBF)に及ぼす作用 | | | | | |
| | CBF | イヌ | 0.01~10 ia. | 0.1 | 0.3 | クレンプテロールは 0.3 µg 以上で用量依存的に軽度増加。 |
| ③ 腎動脈血流量(RBF)に及ぼす影響 | | | | | | |
| RBF | イヌ | 1、3、10 ia. | — | — | クレンプテロールの影響なし | |
| 正体位子宮 | 正体位子宮運動 | ウサギ | 0.01、0.1、1、10 iv. | 0.01 | 0.1 | 用量依存的に抑制 ⁹ |
| 血中の Glu、乳酸及び遊離脂肪酸に及ぼす作用 (被験物質の投与後 30 分及び 6 時間後に採血) | | | | | | |
| Glu 乳酸 | ラット | 1~30 p.o. | 3 | 10 | 10 | クレンプテロールは 10 µg 以上の用量で投与 30 分後に増加作用。 |
| 遊離脂肪酸 | ラット | 1~3 p.o. | 3 | 10 | 10 | クレンプテロールは 10 µg 以上の用量で投与 6 時間後に増加作用。 |
| 肝臓並びに心臓のグリコーゲン量に及ぼす作用 (被験物質の投与後 30 分及び 6 時間後に臓器を抽出) | | | | | | |
| 肝・心 グリコーゲン量 | ラット | 0.01~10 (mg/kg) p.o. | 1 0.01 | 10 mg/kg (肝) 0.1 mg/kg (心) | 10 | クレンプテロールは投与 6 時間後に高用量で肝臓のグリコーゲン量を低下。一方、心臓のグリコーゲン量には著明な作用なし。 |
| カラゲニン(1%)浮腫に及ぼす作用 (投与後 1、2、3 時間後の浮腫率) | | | | | | |
| 浮腫率 30%抑制 | ラット | 0.01~10 (mg/kg) p.o. | | | ED ₃₀ : 0.016 | いずれの被験物質も投与 1、2 時間後の浮腫を強く抑制。 |
| 尿排泄並びに尿中への Na ⁺ 及び K ⁺ 排泄に及ぼす作用 | | | | | | |
| 尿排泄・Na ⁺ 及び K ⁺ の尿中排泄 | ラット | 0.3~10 p.o. | 3 | 10 (Na ⁺ 、K ⁺) | 10 | クレンプテロールは尿量に対し影響なし。 Na ⁺ 及び K ⁺ に対し、低下作用あるいは低下傾向を示す。 |

⁹ プロプラノロール 0.5 mg/kg iv. 処置により抑制。

¹⁰ プロプラノロール 400 µg/kg iv. 処置により回復。

| | | | | | | |
|-----------|-----------------------------------|-------|-----------|------|-----|-----------|
| 局所麻酔・刺激作用 | ① 表面麻酔作用 | | | | | |
| | 角膜反射 | モルモット | 0.03~0.1% | 0.1% | — | 影響なし |
| | ② 浸潤麻酔作用 | | | | | |
| | 皮膚反射 | モルモット | 0.01~0.1% | 0.03 | 0.1 | 非常に弱い作用あり |
| | ③ 局所刺激作用 | | | | | |
| | 色素漏出 | モルモット | 0.1~1% | 0.1 | 0.3 | 非常に弱い作用あり |
| その他 | 血液像、血小板凝集能、凝固線溶系、溶血作用に対し、いずれも影響なし | | | | | |

クレンブテロールの抗アレルギー作用を *in vivo* 及び *in vitro* で検討した一般薬理試験が実施された。結果は表 38 に示されている。

in vivo 試験ではクレンブテロールの抑制作用は 0.01~0.1 mg/kg という低用量で用量依存的に認められた。ラット肥満細胞を用いた *in vitro* 試験においては、クレンブテロールのヒスタミン遊離に対する抑制作用は高濃度でのみ認められた。(参照 47)

表 38 一般薬理試験概要②

| 試験の種類 | 動物種 | 投与量 (mg/kg) | 無作用量 (mg/kg) | 作用量 (mg/kg) | 結果の概要 |
|---|-----|----------------------|--------------|---|-------------------|
| 1. 血管透過性 (<i>in vivo</i>) | | | | | |
| デキストラン浮腫 (1% w/v, 0.1 mL, 右後肢足蹠皮下) | ラット | 0.001~0.03 p.o. | 0.001 | 0.003~0.03 抑制率: 0.01 (26%), 0.03 (48%) ED ₅₀ : 0.01 | 用量依存的な抑制 (強い抑制作用) |
| コンパウンド 48/80 による血管透過性 (10 µg, 0.1 mL, 皮内) | | 0.01, 0.03, 0.1 p.o. | — | 0.01~0.1 抑制率: 0.03 (30%), 0.1 (37%) ED ₅₀ : 0.05 | 用量依存的な抑制 |
| 2. 受身皮膚アナフィラキシー (PCA) 反応 (<i>in vivo</i>) | | | | | |
| 同種 ¹¹ PCA | ラット | 0.01, 0.1, 1 p.o. | — | 0.01~1 抑制率: 0.1 (83%), 1 (89%) ED ₅₀ : 0.05 | 用量依存的な抑制 |
| 異種 ¹² PCA | | 0.01~10 p.o. | — | 0.01~1 抑制率: 0.1 (63%), 1 (80%) ED ₅₀ : 0.09 | 用量依存的な抑制 |

¹¹ ラットに卵白アルブミン (1 mg/kg) を筋肉内注射するとともに *Bordetella pertussis* 2×10¹⁰ を腹腔内注射して免疫。

¹² マウスに DNP-KLH (2 µg) とアルミニウムゲル (2 mg) を混和したものを腹腔内注射して免疫。

| 3. 肥満細胞からのヒスタミン遊離 (<i>in vitro</i>) | | | | | |
|---------------------------------------|-------------|-----------|---------|------------------------------|------------|
| コンパウンド 48/80 (0.5 µg/mL) | ラット 肥満細胞 | 0.01~1 mM | 0.01 mM | 0.1~1 mM 抑制率: 1 mM (15%) | 用量依存的な弱い抑制 |
| アレルギー性 ¹³ | | 0.01~1 mM | — | 0.01~1 mM 抑制率: 1 mM (33%) | 用量依存的な抑制 |

11. ヒトにおける知見について

(1) 吸入投与試験 (参照 3、48)

患者にクレムブテロールを吸入投与 (10 µg : 0.167 µg/kg 体重) したとき、軽度な血圧の低下は認められたが、心電図検査で頻脈は認められなかった。また、心不整脈患者に同用量のクレムブテロールを吸入投与したとき、異常は認められなかった。(参照 3)

気道疾患患者 (男性 : 13 名、女性 : 11 名、計 24 名、年齢 : 34~62 才) に塩酸クレムブテロールを単回吸入投与 (2.5、5、10、20 µg/ヒト) すると、いずれの用量においても 5 分以内に鎮痙作用が生じ、作用は投与 30 分~3 時間後で最大となり、6 時間後まで持続した。なお、作用の発現は 5 µg/ヒト以上の用量に比べ、2.5 µg/ヒトでは遅かった。肺機能への明らかな影響は 5 µg/ヒト以上投与群 (0.083 µg/kg 体重) で認められ、ごく軽度な影響は 2.5 µg/ヒト投与群 (0.042 µg/kg 体重) でも認められた。(参照 3、48)

(2) 単盲検クロスオーバー試験 (参照 3、5、49)

クレムブテロールの急性の気管支鎮痙作用及び副作用を確認するために、慢性の閉塞性気道疾患患者 (男女各 3 名、平均年齢 55.7 歳、平均体重 73.2 kg、平均疾患歴 15 年) に対して単盲検クロスオーバー試験を実施した。4 日間の投与期間のうち、初日はプラセボを投与し、残りの 3 日間は各用量のクレムブテロールを無作為に割り付けし経口投与 (1、2.5、5 µg/ヒト) した。観察は投与 2 時間後まで行い、気管支抵抗、胸郭内ガス量、橈骨動脈拍動頻度、血圧について検査した。また、観察終了後、サルブタモールによる吸入投与 (0.2 mg/ヒト) を行い、吸入による気管支鎮痙作用についても確認した。結果は表 39 に示されている。

本試験における NOAEL は本試験の最高用量である 5 µg/ヒト/日 (0.08 µg/kg 体重/日) であると考えられた。

表 39 単盲検クロスオーバー試験概要

| 被験物質 | 疾患 | 人数 | 年齢 (平均) | 投与量 (µg/ヒト) | 結果 | | | | |
|--------------|-------------------|----|------------|----------------|-----------|------------|--------------|----|-----|
| | | | | | 気管支 抵抗 | 胸郭内 ガス量 | 橈骨動脈 拍動頻度 | 血圧 | 副作用 |
| クレムブテ ロール | 慢性閉 塞性気 道疾患 | 6 | 55.7 | プラセ ボ | — | — | — | — | — |
| | | | | 1 | | | | | |
| | | | | 2.5 | | | | | |

¹³ 抗卵白アルブミン血清で受身感作した肥満細胞に卵白アルブミン (100 µg/mL) を添加。

| | | | | | | | | | |
|-------------------------------------|--|--|--|----------------|------------------------|----|----|------------------|-------------------------|
| サルブタ モール | | | | 5 | | | | | |
| | | | | 0.2 mg (吸入) | 鎮座 ¹⁾ 作用 | 低下 | 低下 | 低下 ²⁾ | 上肢の ³⁾ 振戦 |
| NOAEL : 5 µg/ヒト/日 (0.08 µg/kg 体重/日) | | | | | | | | | |

- 1) 明らかな気管支鎮座作用。
- 2) 収縮期血圧の低下 (2.5 µg 投与後のみ)。
- 3) 一過性の上肢の振戦 (2例)。

(3) 経口投与試験 (参照 3、5、50)

クレンプテロールの気管支鎮座作用について、以下の試験が実施された。試験では、慢性閉塞性気道疾患患者 (計 20 名) を A 及び B の 2 つのグループに分け、各用量のクレンプテロールを単回経口投与 (A 群は 0、5、10、15、20、25、30 µg/ヒト、B 群は 0、1、2.5、5 µg/ヒト) を行った。投与 10、30、60 及び 90 分後に肺活量、呼吸気量、気道抵抗及び胸郭内ガス量について検査した。なお、いずれの群においても、最終投与の翌日に各用量のプラセボ投与を行った。結果は表 40 に示されている。

本試験における NOAEL は 2.5 µg/ヒト/日 (0.042 µg/kg 体重/日) であると考えられた。

表 40 気管支鎮座作用に関する経口投与試験概要

| 群 | 疾患 | 肺結核 | 気管支 喘息 | 人数 | 年齢 (平均) | 投与量 (µg/ヒト) | 結果 |
|--|--------------------------|-----|-----------|----|-----------------|--------------------------|---|
| A | 慢性閉塞性呼吸器疾患 ¹⁾ | + | - | 10 | 46~75 (60.8) | 5、10、 15、20、 25、30 | 5 ≤ 急性の気管支拡張作用あり 肺活量及び呼吸気量の増加 胸腔内ガス量の低下 気道抵抗の低下 |
| B | 慢性閉塞性呼吸器疾患 | - | - | 5 | 56~67 (65.2) | 1、2.5、5 | 2.5 µg までプラセボと有意差なし |
| | | | + | 5 | 34~57 (46.4) | | 1 µg 以上で気道抵抗の低下が認められたが用量依存性なし |
| NOAEL : 2.5 µg/ヒト/日 (0.042 µg/kg 体重/日) | | | | | | | |

1) 両群 (A、B) とともに気管支閉塞の程度は同等 (平均抵抗 : A 群 8.68 cmH₂O/L/sec、B 群 8.75 cmH₂O/L/sec)。

(4) 子供への投与試験 (参照 3)

子供にクレンプテロールを経口投与 (0.05~0.075 mg) したときに、軽度な頻脈が認められた。

(5) 女性への投与試験 (参照 3、51)

30 歳の女性にクレンプテロールを 30 錠服用 (0.6 mg: 約 10 µg/kg 体重) したときに、頻脈と高血圧が約 1 時間持続した。胃洗浄では錠剤は確認されず、チャコールと塩類下

剤による処置を行った翌日には、脈拍及び血圧ともに回復が認められた。(参照 3)

妊婦(妊娠 24~35 週、早産の分娩痛を伴う 12 名)にクレンプテロールを以下の要領で経口投与した。投与開始日には、負荷量として 2 錠(1 錠: 40 µg、計 80 µg)、その 12 時間後には 1 錠(40 µg)を服薬した。投与開始 1 日後以降は 1/2 錠(20 µg: 維持量)を 12 時間間隔で 1 日 2 回、投与開始 7 日後まで服薬した。投与開始日、投与開始 1、3、5、7 日後に血液を各 3 回(①1 回目の服薬直前、②服薬後 3 時間、痛 2 回目の服薬直前)採取した。

投与開始 1、3、5、7 日後における平均血漿中濃度は 0.266~0.328 ng/mL で、明らかな個体差はなく、負荷量により急速に定常状態に達したと考えられた。また、服薬間隔における血漿中濃度は次回服薬直前にトラフ値として 0.280 ng/mL、服薬 3 時間後にはピーク値として 0.334 ng/mL を示し、トラフ/ピーク比は 84 % と高い安定性が認められた。さらに、クレンプテロールの静脈内投与後の薬物動態パラメータから、経口投与による生物学的利用率は 80 % 以上であることが推測された。

クレンプテロールの薬理作用は、子宮収縮頻度の低下及び子宮収縮効果の評価から明らかに確認された。子宮収縮抑制薬の影響として知られる心血管系(心拍、血圧)に対する影響はほとんど認められなかったが、予想どおり、最も頻繁に散見された副作用は動悸と振戦であった。(参照 51)

(6) 患者への投与試験(参照 3、52、53)

閉塞性気道疾患患者(53 名の外来患者、男性: 35 名、女性: 18 名、年齢: 27~79 才)に対して、クレンプテロール錠の 1 日 2 回の 6 ヶ月間連続経口投与(40 µg/ヒト/日)試験を実施した。その結果、肺機能に対する有意な改善が認められた。副作用として軽度な振戦やごく稀に軽度な頻脈が認められた。血液生化学的検査では、CK の有意な増加が認められた。(参照 52)

喘息様気管支炎患者(49 名)に対して、クレンプテロールを 20~60 µg/ヒト/日(0.3~1.0 µg/kg 体重/日)の用量を 1 年間及び 12 週間(6 週間毎に 1 週間の休薬期間)投与した。その結果、投与に関連すると考えられる器質的変化、蓄積あるいは順応は認められなかったが、肺機能に対する薬理効果が 1 年間及び 12 週間投与ともに認められた。副作用として、一過性の振戦が少数例でのみ認められた。(参照 3、53)

(7) 副作用(中毒例)等について(参照 54~64)

海外で肥育目的として、違法にクレンプテロールを投与された家畜の肉や肝臓の摂取によるヒトの中毒例について、以下の表 41 に示すような事例報告がなされている。また、ヒトがクレンプテロールを摂取した時の中毒例及び筋肉増強目的で意図的に大量摂取した時の中毒例について、表 42 に示す。

主な中毒症状は、頻脈、振戦、動悸、頭痛、めまい、神経過敏、嘔吐、低カリウム血症及び白血球増加症等である。発症に年齢及び性差は認められていない。症状は早いもので摂取 10 分後から認められ、症状の持続は 1.5 時間~6 日と様々である。一般に、中

毒症状は牛の肝臓を摂取した際に発生しているが、牛肉や豚の肺及び肝臓を摂取した場合にも認められている。また、肝臓及び肉中にクレンプテロールが含まれる場合、100~200 gの摂取（臨床用量の約5倍量相当）により薬理学的影響が認められると考えられている（参照 54）。クレンプテロールは可食組織中で熱に安定であるため、加熱調理による防御は難しいとされている（参照 54）。なお、上記のクレンプテロールの副作用の中でも、特に低カリウム血症については重大な副作用（外国症例）として国内のヒト用医薬品の添付文書に記載されている（参照 55）。

表 41 違法にクレンプテロールを投与された家畜の肉や肝臓の摂取によるヒトの中毒例

| 国 | 人数 | 年齢 (平均) | 摂取 | 発症時間 | 症状 ¹⁴ | 持続 時間 (平均) | 排泄 |
|----------------------------------|----------------------|--------------|------------------------|-------------------------|--|----------------------------|--|
| スペイン (参照 56) | 43 家族 | 1~68 | 肝臓 ¹⁵ | 101 分 (0.5~6 時間) | 筋振戦、動悸、神経過敏、頭痛、筋肉痛、めまい、悪心、嘔吐、発熱、悪寒（年齢・性差なし） | 40 時間 (8~96 時間) | 尿中 (2~4 ppb) 摂取 40 時間後 |
| スペイン (参照 57) | 232 症例 | | 子牛 肝臓 舌 | 0.25~6 時間 | 頻脈、筋振戦、神経過敏、筋肉痛、頭痛 | 90 分~ 6 日 | 尿中(n=47) (11~486µg/L) 血清(n=2) (<5 µg/L) |
| スペイン (参照 58) | 15 名 男性:7 女性:8 | 6~44 | 子牛肝 臓 ¹⁶ | 0.5~2 時間 (93%) | 振戦、動悸、不安神経症、倦怠感、悪心、搔痒感、頻脈 (100%)、低カリウム血症(66%)、 白血球増加症(28%) | 72 時間 後には 67%が回 復 | 尿中 (50±42 ng/mL) |
| フランス (参照 57、 58、 59) | 8 家族 (22 名) | — | 子牛肝 臓 ¹⁷ | 1~3 時間 | 振戦、頭痛、頻脈 | 1~3 日 | — |
| フランス (参照 57) | 1 名 心臓疾 患あり | — | — | — | 著しい動悸 ⇒心臓疾患を有する 者は影響が大きい。 | — | — |
| イタリ (参照 60) | 62 名 | 7~65 (30) | 牛肉 ¹⁸ | 10~30 分 から 2~3 時間 | 動悸・頻脈・神経過敏 (91%)、振戦(88%)、 胃腸症状(65%)、めま | — | — |

¹⁴ 動悸、振戦及び頭痛の症状は、ヒトにクレンプテロールを経口（10 µg×4 回/日）投与した際に認められる。

¹⁵ 肝臓中のクレンプテロールの残留量：160~291 ppb

¹⁶ 肝臓中のクレンプテロールの残留量：500 ppb

¹⁷ 肝臓中のクレンプテロールの残留量：375~500 µg/kg

¹⁸ 牛肉（牛肉薄切り、ひき肉含む）中濃度：0.8~7.4 mg/kg（ELISA 検出）

| | | | | | | | |
|--------------|-----|---------------|----------|---------|---|------|--------------------------------------|
| | | | | | い(42%)、筋肉痛(20%)、頭痛(18%)、無力症又は意識混濁、洞頻脈 (ECG、120~150拍/分)、心房細動(1名) | | |
| 例7 (参照61) | 15名 | 20~30 (27) | 子牛肉 | 0.5~3時間 | 手足の震え、動悸、めまい、頭痛、ほてり、呼吸困難、頻脈、神経過敏、呼吸促進、顔面紅斑、感覚異常、悪心、嘔吐、水晶体調節疾患、筋肉痛、高血糖、低カリウム血症、白血球増加症等 | 3~5日 | 尿中 (2~98 ng/mL) 摂取 48時間後 |
| 例7 (参照54) | - | - | 豚 肺・肝 | - | - | - | - |

- : 記載なし

表 42 ヒトがクレンプテロールを摂取した時の中毒例及び筋肉増強目的で意図的に大量摂取した時の中毒例

| 国 | 人数 | 年齢 (平均) | 摂取 | 発症 時間 | 症状 | 持続 時間 (平均) | 排泄 |
|--|----|------------|--------------|-----------|---|------------------|----|
| アメリカ (参照62) | 1名 | 28 | クレンプ テロール | 1時間 以内 | 持続性の洞頻脈、動悸、嘔吐、低カリウム血症(2.4 mmol/L)、低リン血症(0.29 mmol/L)、低マグネシウム血症(0.76 mmol/L) | 20時間 以上 | - |
| <p>28歳の女性。 クレンプテロールを指先に付けて摂取後、1時間以内に中毒症状発症。クレンプテロールは、ボディビルダーの友人が筋肉増強目的で使用していた。 治療：メトプロロール、塩化カリウム、チャコール</p> | | | | | | | |
| アメリカ (参照63) | 1名 | 55 | クレンプ テロール | - | 頻拍性の心房細動、急性の心筋梗塞、低カリウム血症、白血球増加症、高血糖、代謝性アシドーシス | - | - |
| <p>55歳の男性。2型糖尿病。 ヘロインと混合されたクレンプテロールによる中毒。 治療：ドーパミン、ノルエピネフリン、塩化カリウム、インスリン他</p> | | | | | | | |
| ポータド | 1名 | 21 | クレンプ | - | 頻脈、頭痛、めまい、振 | - | - |

| | | | |
|---|--|------|----------------------------------|
| (参照 64) | | テロール | 戦、発汗、筋力低下、興奮、低カリウム血症(2.6 mmol/L) |
| 21歳のボディビルダー。中毒発症1週間前から、筋肉増強の目的で1日2錠(20 mg)のクレンプテロールを服用。中毒症状を発症した日は、オレンジジュースとともに48錠(4.8 g)のクレンプテロールを服用。治療：プロプラノール(1.0 g)、塩化カリウム(60 mmol) | | | |

—：記載なし

III. 食品健康影響評価

1. 毒性学的影響について

(1) 亜急性毒性試験

ラット、イヌ及び馬を用いた亜急性毒性試験が実施された。β-アドレナリン作動薬の薬効として周知されているものとして頻脈がある。また、副作用として心筋壊死の報告がなされている。クレンプテロールにおいても低用量から心臓への影響が認められており、頻脈や心筋壊死・線維化が各動物で認められている。なお、心筋壊死・線維化は主に左心室乳頭筋に限局して認められた。

ラットを用いた1、3及び6ヶ月間の亜急性毒性試験が実施されており、心臓毒性及び肝臓毒性が認められた。ラットを用いた試験の中で、唯一NOAELが得られている1ヶ月間の試験では、血液生化学的検査の結果(Gluの減少)を基にNOAELとして1 mg/kg 体重/日が設定された。しかしながら、3ヶ月間の試験では、経口投与の用量としては最低用量である0.4 mg/kg 体重/日から心筋線維化が認められており、ラットではこの心筋病変の結果をもとにLOAEL 0.4 mg/kg 体重/日が得られた。6ヶ月間の試験の結果からも、心筋壊死の発生及びその程度には明らかな用量依存性が認められた。最も低いLOAELは3ヶ月間の試験で得られた0.4 mg/kg 体重/日であった。

イヌを用いた13週間の経口投与試験では、頻脈が認められることから、ラットでみられた所見との関連性が示唆される。頻脈に対するLOAELは0.4 mg/kg 体重/日が得られた。

馬を用いた経口投与による試験においても、主な所見として頻脈が認められた。

(2) 慢性毒性・発がん性試験

慢性毒性試験はラット及びイヌ、発がん性試験はマウス及びラットを用いて実施されている。

ラットの12ヶ月間の慢性毒性試験では、亜急性毒性試験に比較し、心筋線維化の発生頻度が対照群においても増加し、明らかな用量依存性も認められないことから、投与群で認められた変化も被験物質の影響ではなく加齢性変化として評価されているが、低用量から心臓及び肺重量の増加が認められた。18ヶ月間の慢性毒性試験では、低用量の0.1 mg/kg 体重/日から徐脈や心拍数減少等が認められ、心臓の組織化学的検査では低用量から各種酵素系に変動が認められたが、EMEAではこの結果をもとに本試験におけるNOAELは設定していない。最も低いLOEALは12ヶ月間の試験で得られた0.01 mg/kg 体重/日であった。

イヌの1年間慢性毒性試験では、亜急性毒性試験と同様に頻脈と心筋の線維化の発生は同用量から認められることから、両所見には関連性が示唆される。

発がん性試験においては、マウス及びラットを用いて2年間の発がん性試験が実施されており、マウスでは全投与量群で心臓の比重量の増加が認められたこと、またラットでは全投与群で神経過敏、筋緊張、攻撃性及び体重減少が認められたことから両試験ともLOELが求められた。また、両試験とも発がん性は認められなかった。最も低いLOELは、マウスを用いた発がん性試験で得られた0.1 mg/kg 体重/日であった。

(3) 生殖発生毒性試験

繁殖毒性及び催奇形性については、ラットを用いた1世代及び2世代繁殖毒性試験、催奇形性試験、周産期及び授乳期投与試験、ウサギを用いた催奇形性試験が実施された。

ラットでは、経口投与で100 mg/kg 体重/日の用量まで試験が実施された。繁殖毒性試験では50 mg/kg 体重/日投与群の親動物に体重増加抑制が認められたことから、親動物に対するNOELは7 mg/kg 体重/日、F₁児では1 mg/kg 体重/日以上投与群で体重減少が認められたことから、F₁児動物に対するNOELは15 µg/kg 体重/日であると考えられた。親動物の繁殖及び生殖能力に対する影響は50 mg/kg まで認められなかった。催奇形性試験では10 mg/kg 体重/日投与群で母動物に体重増加抑制が認められたことから母動物に対するNOELは2 mg/kg 体重/日、胎児では2 mg/kg 体重/日投与群で体重減少が認められたことから胎児に対するNOELは1 mg/kg 体重/日であると考えられた。10 mg/kg 体重/日以上投与群では催奇形性が認められた。周産期及び授乳期投与試験の最低用量の1 mg/kg 体重/日において母動物の摂餌量の減少、児動物では体重の減少が認められたことからNOELは設定できず、母動物及び児動物に対するLOELは1 mg/kg 体重/日であると考えられた。

ウサギの催奇形性試験では、経口投与で50 mg/kg 体重/日の用量まで試験が実施されている。母動物では10 mg/kg 体重/日投与群で摂餌量の減少、心臓及び肝臓重量の増加、50 mg/kg 体重/日投与群では体重、摂餌量及び飲水量の減少が認められた。胎児では0.1 mg/kg 体重/日以上投与群で骨格変異の発現率が増加し、2 mg/kg 体重/日以上投与群で体重減少、吸収及び死亡胎児率の増加、50 mg/kg 体重/日投与群では催奇形性が認められた。よって、母動物に対するNOELは2 mg/kg 体重/日、胎児に対するNOELは0.03 mg/kg 体重/日、催奇形性のNOELは10 mg/kg 体重/日が得られた。

以上の試験から得られる最小のNOELは、ラット児動物に対する15 µg/kg 体重/日であると考えられた。

(4) 遺伝毒性・発がん性試験

遺伝毒性試験については、*in vitro*の細菌を用いた復帰突然変異試験、動物細胞を用いた染色体異常試験、前進突然変異試験(HGPRT)、*in vivo*の小核試験及び染色体異常試験のいずれも陰性であった。なお、*in vitro*のマウスリンフォーマ細胞を用いた前進突然変異試験及びヒトリンパ球を用いた染色体異常試験では一部で増加が認められたが、再現性や用量依存性は認められなかった。これらのことから、クレンプテロールは特段問題となる遺伝毒性を示さないものと考えられる。

発がん性試験については、マウス及び Chbb:THOM ラットを用いた 2 年間の発がん性試験（最高用量：それぞれ 25 mg/kg 体重/日）で発がん性は認められていない。しかしながら、SD 系ラットを用いた 2 年間の発がん性試験では、25 mg/kg 体重/日投与群で卵巣間膜に平滑筋腫の発生増加が認められている。β 作動薬の投与によりラットの卵巣間膜及びマウス子宮の平滑筋腫が増加することが既に報告されており、本腫瘍の発生には β 作動薬による持続的かつ強いアドレナリン刺激に起因するとされている（参照 67、69）。またラットの本腫瘍に対する感受性には系統差が存在し、SD 系は高感受性であることも報告されている。JECFA 及び EMEA でも本腫瘍の発生はアドレナリン刺激によるものであり、クレンプテロールの遺伝毒性作用に基づくものではないと評価している。また、ヒトでは卵巣間膜の平滑筋腫は非常に稀な腫瘍であり、クレンプテロール及び他の β 作動薬の長い臨床使用歴においても卵巣間膜の平滑筋腫の発生増加に関する報告例はない。以上のことから、クレンプテロールはヒトにとって問題となるような発がん性はないものと考えられる。

(5) 一般薬理試験

クレンプテロールの各種臓器、循環器系、糖代謝及び抗アレルギー作用等に対する効力を β-受容体刺激薬であるイソプロテレノール、サルブタモールあるいはクレンプテロールの代謝物 A と比較検討した試験が実施されている。その結果、クレンプテロールの β₂ 受容体選択性及び気管支喘息への有効性が確認された。なお、代謝物 A には明らかな薬理作用は認められなかった。

(6) ヒトにおける影響

ヒトにおける知見については、気道疾患患者に対する吸入試験、気道疾患患者、子供及び女性に対する経口投与試験が実施された。

吸入試験では 10 µg/ヒトで軽度な血圧の低下が認められたが、頻脈は認められなかった。経口投与試験では 5 µg/ヒトで気管支拡張作用が認められたものの、2.5 µg/ヒトでは投与に起因する影響は認められなかった。このことから、最も低い NOAEL は気道疾患患者における 2.5 µg/ヒト (0.042 µg/kg 体重/日) であると考えられた。

クレンプテロールはヒト用医薬品、あるいは動物用医薬品としても長い使用歴があるが、最も一般的かつ深刻な有害作用は、海外で稀に認められた事例から想定されるクレンプテロールが肥育目的として不法投与された家畜を摂取したヒトに中毒症状を起こす場合である。主な中毒症状として、頻脈、動悸、神経過敏、筋振戦、めまい及び頭痛等が報告されており、いずれも致死的な症状ではないものの、心臓疾患を有する者はより影響が大きいことが知られている。中毒症状は主に牛の肝臓、舌及び肉を摂取した際に認められ、発症は摂取後 10 分~6 時間に認められ、長いものでは 6 日後まで持続する。

動物用医薬品として適切に使用される限りにおいては、クレンプテロールを投与された家畜由来の肉類の摂取でヒトに中毒は起こり得ないが、海外で認められた稀な事例であるが、違法に過剰量投与された肉を摂取した場合は 100~200 g（臨床用量の約 5 倍量相当）の摂取により中毒症状が認められている。

ヒト用医薬品の副作用として、振戦、動悸、AST 及び ALT の増加等が知られている。