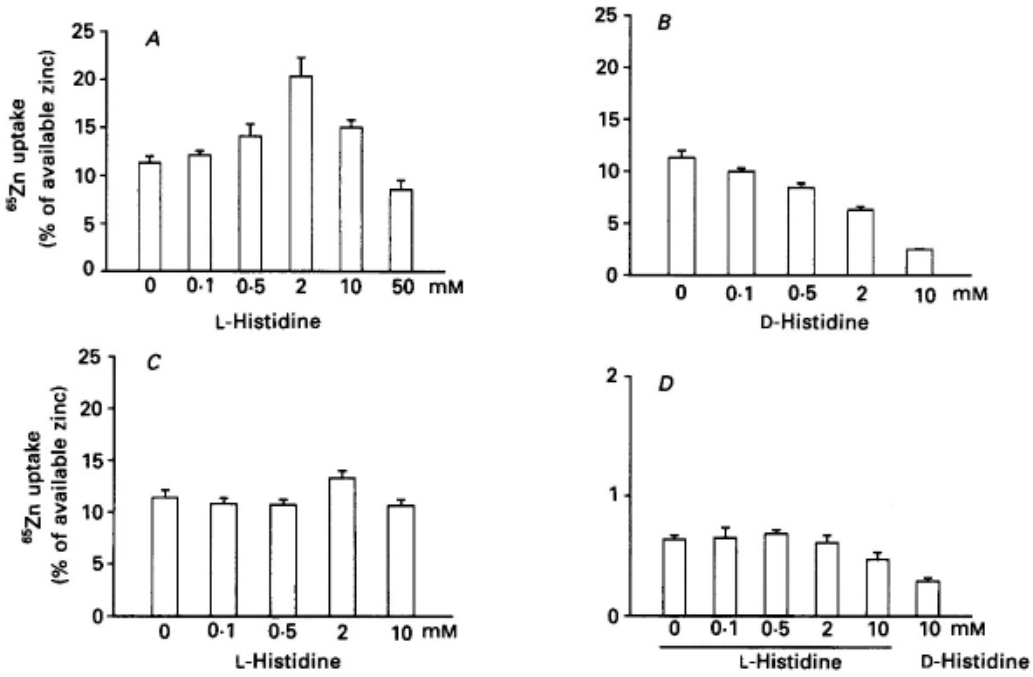
2.6.5.6 薬物動態試験：血球移行

＜添付資料 4.2.2.3-6 参＞

試験系	ラット赤血球
試験方法	・亜鉛の赤血球への取込みに対する Histidine の効果を、インキュベーション条件を種々変更して検討した ・雄性 Wistar ラットから採血し、遠心分離して赤血球を回収した。氷冷した等張生理食塩水で 3 回洗浄し、緩衝液（100 mmol/L NaCl、125 mmol/L ショ糖、10 mmol/L HEPES、pH 7.4）に懸濁した ・^{65}Zn（3.0 μM）及び種々の濃度の L-Histidine 又は D-Histidine を添加して 37 ℃で 2 時間のインキュベーション後、遠心分離して回収した赤血球を生理食塩水で洗浄した ・γ-カウンターで放射能を測定して ^{65}Zn 取込み量（% of available zinc）を求めた ・ナトリウム依存性の検討の場合は、緩衝液の NaCl を KCl に置換した ・温度依存性の検討の場合は、インキュベーション温度を 1 ℃に設定した ・横軸に L-Histidine 又は D-Histidine の添加濃度、縦軸に ^{65}Zn 取込み量（% of available zinc）をプロットした

種々の条件下での亜鉛の赤血球への取込みに対する Histidine の効果



A：L-Histidine の効果（ナトリウムを含む緩衝液 at 37 ℃）
B：D-Histidine の効果（ナトリウムを含む緩衝液 at 37 ℃）
C：L-Histidine の効果（ナトリウムを含まない緩衝液 at 37 ℃）
D：L-及び D- Histidine の効果（ナトリウムを含む緩衝液 at 1 ℃）

2.6.5.7 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験

2.6.5.7.1 胎盤通過（ラット経口投与）

＜添付資料 4.2.2.3-7 参＞

動物種	妊娠ラット（未経産）
給餌	通常飼料
被験物質	$^{65}ZnCl_2$
溶媒／投与形態	記載なし
投与経路	経口投与
投与量	トレーサー量
試料	胎仔
定量（対象）物質	放射能
定量法	ガイガー・ミュラーカウンター

妊娠ラットに $^{65}ZnCl_2$ を経口投与したときの胎仔への放射能移行率

解剖日の妊娠日数	一腹あたりの放射能移行率（%）[a)]		一胎仔あたりの放射能移行率（%）[a)]	
	投与後 24 h	投与後 48 h	投与後 24 h	投与後 48 h
11	—	1.0 [1*]	—	0.3
15	0 [1]	1.0 [1]	0	0.1
18	15.2 [1]	—	2.1	—
19	15.8 [1]	6.3 [1]	1.7	0.6
20	52.4 [5] (18.3～70.0) [b)]	14.6 [2] (8.3～20.9)	7.2 (5.8～8.9)	2.0 (1.7～2.3)
21	40.8 [2] (26.5～55.0)	21.8 [4] (5.6～45.7)	4.0 (2.4～5.6)	2.9 (1.4～5.1)
22	60.3 [4] (20.0～97.4)	25.4 [7] (10.0～41.4)	7.0 (4.1～9.4)	3.3 (2.0～5.0)

a：投与放射能量から母動物の糞中排泄放射能量及び消化管内放射能量を差し引いた放射能量を、母動物に吸収され残存している放射能（投与放射能量の約 5%）とし、これを 100%として移行率を求めた
*：肩の数値は、評価した腹数を示す
b：カッコ内の値は範囲を示す
—：データなし

2.6.5.7.2 乳汁中排泄（ラット腹腔内投与）

＜添付資料 4.2.2.3-7 参＞

動物種	授乳ラット
給餌	通常飼料
被験物質	$^{65}ZnCl_2$
溶媒／投与形態	記載なし
投与経路	腹腔内投与
投与量	トレーサー量
試料	乳仔
定量（対象）物質	放射能
定量法	ガイガー・ミュラーカウンター
亜鉛の乳汁を介した乳仔への放射能移行率	
投与後時間（h）	% of retained dose [a)]
24	21
48	37
72	45
96	57

a：投与放射能量から母動物の糞中排泄放射能量及び消化管内放射能量を差し引いた放射能量
平均値（n=2）

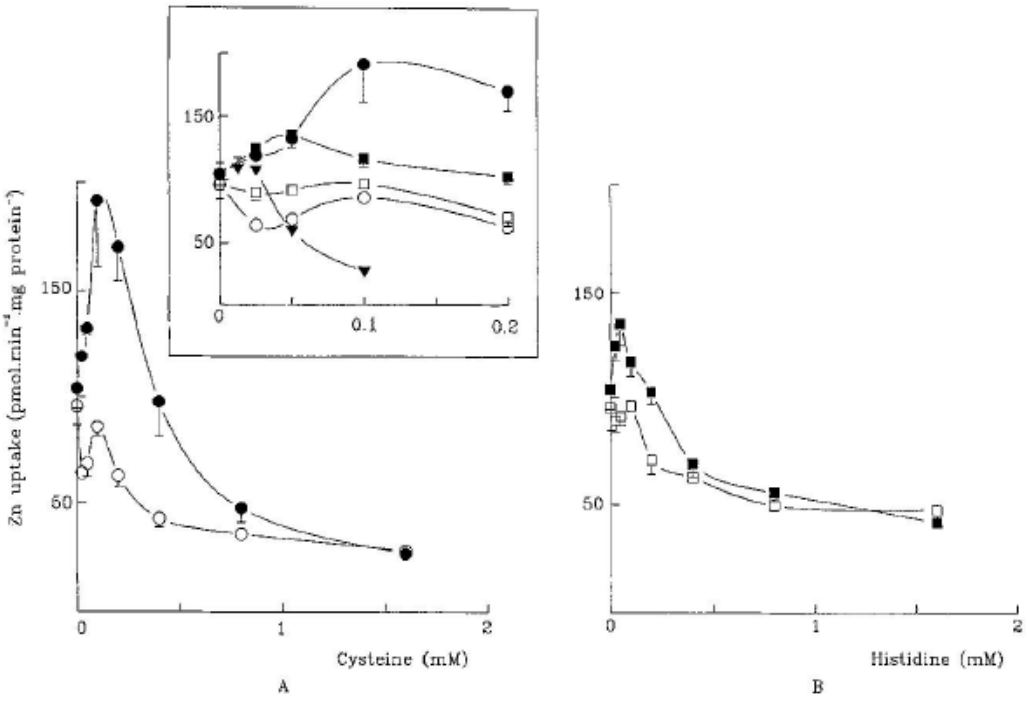
2.6.5.8 薬物動態試験：その他の分布試験

2.6.5.8.1 尿細管細胞への取込み

＜添付資料 4.2.2.3-8 参＞

試験系	ウサギ尿細管細胞
試験方法	・ウサギ尿細管細胞への亜鉛の取込みに対するL-システイン及びL-ヒスチジンの効果を検討した ・雄ウサギ（New Zealand White）の腎臓を培地（pH 7.4）でかん流した後、細切した腎皮質をナイロンメッシュでろ過して単離尿細管細胞を得た ・細胞をハンクス平衡塩類溶液（ナトリウムを含む）又はナトリウムを含まない培地に懸濁し、^{65}Zn（25 μmol/L）を加え、20℃で0.5分間インキュベーションした後、遠心分離して細胞を回収した ・細胞は3回洗浄後に溶解して放射能をシンチレーションカウンターにより測定した ・横軸にL-システイン、L-ヒスチジン又はアルブミンの添加濃度、縦軸に^{65}Zn取込み量（pmol/min/mg protein）をプロットした

ウサギ尿細管細胞への亜鉛の取込みに対するシステイン及びヒスチジンの効果



A：L-システイン（●、○）の効果、B：L-ヒスチジン（■、□）の効果
●、■、▼：ハンクス平衡塩類溶液での実験、○、□：ナトリウムを含まない培地での実験
挿入図はアミノ酸濃度の低い領域を拡大したもの（▼：アルブミン）

2.6.5.9 薬物動態試験：代謝：in vivo

該当する試験を実施していない。

2.6.5.10 薬物動態試験：代謝：in vitro

該当する試験を実施していない。

2.6.5.11 薬物動態試験：推定代謝経路

該当する試験を実施していない。

2.6.5.12 薬物動態試験：代謝：薬物代謝酵素の誘導／阻害

該当する試験を実施していない。

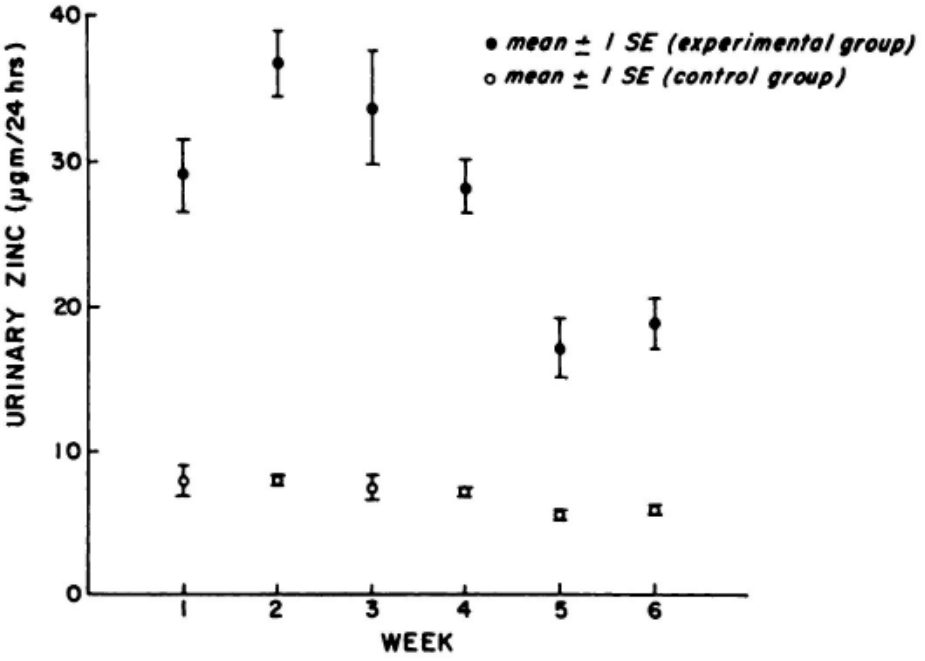
2.6.5.13 薬物動態試験：排泄

2.6.5.13.1 亜鉛の尿中排泄に対するヒスチジンの効果（ラット経口投与）

＜添付資料 4.2.2.3-4 参＞

動物種	SD 系雄ラット
給餌	通常飼料（150 ppm Zn）
被験物質	ヒスチジン
溶媒／投与形態	水／水溶液
投与経路／投与回数	経口投与／43 日間
投与量	500 mg/2 mL/rat/day
定量（対象）物質	Zn
定量法	原子吸光法
試験方法	・ステレンス製代謝ケージに個体別に収容 ・投与期間中、毎日、体重測定し尿を採取 ・1 週間の尿中亜鉛排泄量を 24 時間あたりの排泄量として表示

ヒスチジンを反復経口投与したときの尿中亜鉛排泄量の変化（n=10）

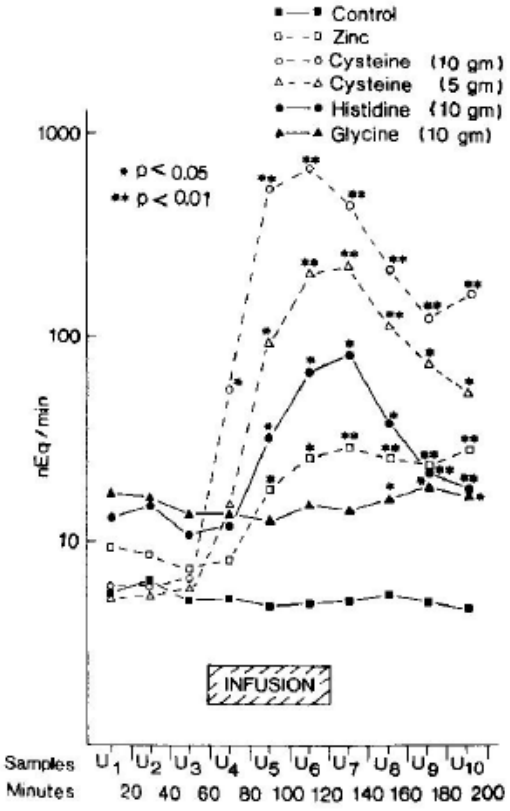


2.6.5.13.2 亜鉛の尿中排泄に対するヒスチジンの効果（イヌ静脈内投与）

＜添付資料 4.2.2.5-1 参＞

動物種	イヌ（雑種、性別不明）
給餌	実験前夜から絶食
被験物質	硫酸亜鉛、Cysteine、Histidine 又は Glycine
溶媒／投与形態	0.9%食塩水／溶液
投与経路	静脈内持続注入
投与速度	硫酸亜鉛：40 mg Zn/dog/60 min、 Cysteine：5 又は 10 g/dog/60 min、 Histidine 及び Glycine：10 g/dog/60 min
定量（対象）物質	Zn
定量法	原子吸光法
試験方法	・麻酔下で 0.9%食塩水の定速注入（1.0 mL/min）を開始 ・全ての尿を回収できるように、左右の尿管にカテーテルを挿入 ・30 分間の平衡化の後、20 分間隔で 200 分間の尿を採取 （10 試料：U1、U2、U3･･･、U10） ・投与開始前及び各尿採取区間の中央時間に採血 （11 試料：B0、B1、B2、B3･･･、B10） ・尿の採取開始 60 分後（U3 の採取後）、被験物質溶液を 60 分間定速静脈内注入 ・各尿試料及び血清／血漿試料中亜鉛濃度を原子吸光法により測定 ・一部の血漿試料を限外ろ過し、高分子に結合していない亜鉛濃度を測定

0.9%食塩水（control）、Zn、Cysteine、Histidine 又は Glycine を静脈内定速注入したときの亜鉛尿中排泄速度（neq/min）の経時変化



Control：0.9%食塩水

それぞれの被験物質群の投与開始前（U3）に対する有意差：*P<0.05、**P<0.01

0.9%食塩水（Control）、亜鉛、Cysteine、Histidine 又は Glycine を静脈内定速注入したときの限外ろ過後[a)]の血漿中亜鉛濃度（μeq/L）の経時変化						
被験物質（投与量）	試料数	血漿試料				
		B0	B4	B6	B8	B10
亜鉛（40 mg）	9	－	1.5±0.3	1.8±0.3	2.1±0.3	1.5±0.3
Cysteine（10 g）	5	－	2.4±0.3	2.8±0.3	2.7±0.6	2.4±0.6
Cysteine（5 g）	4	1.5±0.3	1.8±0.3	1.8±0.3	1.5±0.3	1.8±0.3
Histidine（10 g）	5	3.1±0.6	4.6±0.9	5.2±0.9*	4.3±0.6	2.4±0.6
Glycine（10 g）	3	2.4±0.3	1.5±0.3	2.4±0.6	1.8±0.3	2.1±0.3
Saline（control）	4	－	1.8±0.3	1.8±0.3	1.8±0.3	2.1±0.9

平均値±標準誤差
a：遊離の亜鉛イオン又は分子量 1000 未満の低分子物質に結合した亜鉛を示す
B0：アミノ酸の注入開始前
B4：アミノ酸の注入開始後 10 分
B6：アミノ酸の注入開始後 50 分
B8：アミノ酸の注入終了後 30 分
B10：アミノ酸の注入終了後 70 分
*：B0 に対して P<0.05

2.6.5.13.3 尿糞中排泄（ラット経口投与）

＜添付資料 4.2.2.2-4 参＞

2.6.5.3.4 項「塩化亜鉛の吸収率（ラット経口投与）」を参照。

2.6.5.13.4 尿糞中排泄（ラット静脈内投与）

＜添付資料 4.2.2.5-2 参＞

動物種	SD 系雄ラット
給餌	通常亜鉛飼料（40 ppm Zn）
被験物質	$^{65}ZnCl_2$
溶媒／投与形態	生理食塩水／溶液
投与経路	静脈内投与
投与量	トレーサー量（1 μCi/1.25 μg Zn/rat）
放射性核種	^{65}Zn
比放射能	0.8 mCi/mg Zn
定量（対象）物質	放射能
定量法	Well-type gamma-scintillation counter
試験方法	・$^{65}ZnCl_2$ を単回静脈内投与後、代謝ケージに収容し、所定の時間に尿及び糞を採取し、放射能を測定した。
$^{65}ZnCl_2$ を単回静脈内投与後の放射能の尿糞中排泄率	
・投与後 24 時間において、投与放射能の 6.3%が糞中に排泄された。 ・尿中放射能は非常に低く、投与後 2 時間では 0.05%、投与後 24 時間では 0.2%であった。	

2.6.5.13.5 胆汁中排泄、膵液中排泄及び十二指腸分泌（イヌ静脈内投与）

＜添付資料 4.2.2.5-3 参＞

動物種	イヌ
給餌	記載なし
被験物質	$^{65}ZnCl_2$
溶媒／投与形態	記載なし
投与経路	静脈内投与
投与量	試験方法の欄に記載
放射性核種	^{65}Zn
比放射能	記載なし
定量（対象）物質	放射能
定量法	記載なし
試験方法	【イヌの処置及び投与量】 ・Dog No.1：膵管及び胆管カニュレーション（16.3 μg $ZnCl_2$） ・Dog No.3：膵管及び胆管カニュレーション（16.3 μg $ZnCl_2$） ・Dog No.4：膵管カニュレーション（1.63 μg $ZnCl_2$） ・Dog No.6：胆管カニュレーション＋十二指腸ループ（3.26 μg $ZnCl_2$） ・Dog No.8：膵管及び胆管カニュレーション＋十二指腸ループ（37.5 μg $ZnCl_2$） 【十二指腸ループの作成】 ・幽門部及びトライツ靭帯部で十二指腸を切断し、両端を閉じてループを作成した ・十二指腸ループにカテーテルを挿入し、十二指腸分泌液を回収できるようにした ・食物が正常に通過するように胃と空腸を吻合した 【測定】 ・回収した膵液、胆汁及び十二指腸分泌液の放射能を測定した ・十二指腸分泌液は、遠心分離して上清画分と沈殿画分に分けて放射能を測定した

胆汁中排泄率及び十二指腸分泌率（% of dose）

投与後時間		Dog No.6		
		胆汁	十二指腸	
day	h		上清画分	沈殿画分
0	6	0.03	0.05	0.06
0	22	0.05	0.19	0.20
2	0	0.07	0.35	0.35
3	0	0.17	0.67	0.44
4	0	0.21	1.14	0.51
5	0	0.27	1.35	0.60
6	0	0.31	3.20	1.12
7	0	0.35	3.63	1.42
8	0	0.42	4.18	2.17
10	0	－	4.50	2.41
11	0	－	4.72	2.85

－：試料を採取していない

胆汁中排泄率及び十二指腸分泌率（% of dose）				
投与後時間		Dog No. 8		
		胆汁	十二指腸	
day	h		上清画分	沈殿画分
0	12	0.002	0.04	0.04
1	0	－	0.07	0.10
1	12	－	0.17	0.29
2	0	0.011	0.21	0.50
2	12	0.015	0.31	0.65
3	0	0.019	0.38	0.75
3	12	0.026	0.72	1.07
4	12	0.031	0.98	1.62
5	12	0.038	1.15	2.08
6	12	0.047	1.28	2.60
7	12	0.053	1.55	3.10
8	12	0.057	1.99	3.68
9	18	0.061	2.35	4.18
10	18	0.063	2.57	4.63
11	18	0.070	2.81	5.05
12	18	0.074	3.12	5.37
13	18	0.079	－	－
14	18	0.083	3.58	5.95

－：試料を採取していない
Dog No. 1 及び Dog No. 3 については、採取した胆汁試料が少なかったため、放射能を検出できなかった

膵液中排泄率（% of dose）				
投与後時間		Dog No. 1	Dog No. 3	Dog No. 4
day	h			
0	0.5	0.01	*	－
0	0.75	0.02	*	－
0	1	0.04	*	－
0	1.5	0.07	*	－
0	2	0.09	*	－
0	2.5	0.13	*	－
0	3	0.17	*	－
0	3.5	0.21	*	－
0	4	0.23	*	－
0	4.5	0.26	*	－
0	5	0.29	*	－
0	11	0.51	*	0.61
0	21	－	*	1.17
0	23	1.25	*	－
1	10	1.98	*	－
1	13	－	*	1.57
2	0	2.51	*	2.05
3	0	3.71	*	2.70
4	0	4.34	*	3.22
5	0	5.34	*	3.65
6	0	6.01	*	4.18
7	0	6.55	*	4.59
14	*	－	約 11	－

－：試料を採取していない
*：原資料に数値の記載がない
Dog No. 8 は膵管カニュレーションを施しているが原資料にデータの記載がない

2.6.5.14 薬物動態試験：薬物動態学的薬物相互作用

該当する試験を実施していない。

2.6.5.15 薬物動態試験：その他

該当する試験を実施していない。