# 目次

略語・略号一覧 ..... 3
2.6.6 毒性試験の概要文 ..... 4
2.6.6.1 まとめ ..... 6
(1) 毒性試験の一覧表 ..... 6
(2) 単回投与毒性 ..... 7
(3) 反復投与毒性 ..... 8
(4) 亜鉛塩投与後の血中濃度 ..... 9
(5) 遺伝毒性 ..... 10
(6) がん原性 ..... 10
(7) 生殖発生毒性 ..... 11
(8) 局所刺激性 ..... 11
(9) その他の毒性：(膵臓に対する影響) ..... 12
(10) その他の毒性：不純物の毒性 ..... 12
2.6.6.2 単回投与毒性試験 ..... 12
(1) 酢酸亜鉛及び硫酸亜鉛のマウス単回投与毒性試験 ..... 12
(2) 酢酸亜鉛の幼若及び成獣マウス単回投与毒性試験 ..... 13
(3) 酢酸亜鉛及び硫酸亜鉛のラット単回投与毒性試験 ..... 13
2.6.6.3 反復投与毒性試験 ..... 14
(1) 酢酸亜鉛のラット 3 ヵ月経口投与毒性試験 ..... 14
(2) 硫酸亜鉛のマウス 13 週経口投与毒性試験 ..... 14
(3) 硫酸亜鉛のラット 13 週経口投与毒性試験 ..... 17
(4) 硫酸亜鉛のイヌ 70 週投与試験 ..... 18
(5) 亜鉛塩投与後の血中濃度 ..... 19
2.6.6.4 遺伝毒性試験 ..... 20
2.6.6.5 がん原性試験 ..... 21
(1) 硫酸亜鉛のマウス 1 年投与試験 ..... 21
(2) 硫酸亜鉛のラット 21 ヵ月反復投与毒性試験 ..... 21
2.6.6.6 生殖発生毒性試験 ..... 22
(1) 塩化亜鉛のラットの世代試験 ..... 22
(2) 硫酸亜鉛のマウスの器官形成期投与試験 ..... 24
(3) ラットの器官形成期投与試験 ..... 25
(4) 硫酸亜鉛のウサギの器官形成期投与試験 ..... 26
2.6.6.7 局所刺激性試験 ..... 27
2.6.6.8 その他の毒性試験 ..... 27
(1) 硫酸亜鉛のマウス(雌雄)の膵臓に対する影響 ..... 27
(2) 硫酸亜鉛のマウスの膵臓に対する影響 ..... 27
(3) 硫酸亜鉛のマウスの膵臓に対する影響 ..... 28
(4) 酢酸亜鉛のラットの膵臓に対する影響 ..... 29
(5) 酸化亜鉛のネコの膵臓に対する影響 ..... 29
(6) 不純物 ..... 30
2.6.6.9 考察及び結論 ..... 30

2.6.6.10 図表 ..... 35
2.6.6.11 参考文献 ..... 36

## 略語・略号一覧

| 略語･略号 | 内容 |
|---|---|
| ALP | アルカリフォスファターゼ |
| ALT | アラニンアミノトランスフェラーゼ(GPT) |
| Amyl | アミラーゼ |
| AST | アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ(GOT) |
| Ca | カルシウム |
| CHO | チャイニーズ・ハムスター卵巣 |
| Chol | コレステロール |
| Crea | クレアチニン |
| Glu | グルコース |
| Hb | ヘモグロビン |
| Ht | ヘマトクリット |
| Ins | インスリン |
| ip | 腹腔内投与 |
| $LD_{50}$ | 半数致死量 |
| M/E 比 | 骨髄球/赤芽球比 |
| MT | メタロチオネイン |
| po | 経口投与 |
| RBC | 赤血球数 |
| S9 mix | S9 混合液 |
| sc | 皮下投与 |
| TP | 総蛋白 |
| UN | 尿素窒素 |
| Urea | 尿素 |
| WBC | 白血球数 |
| ラ島 | ランゲルハンス島（膵島） |
| ↑ | 増加、上昇 |
| ↓ | 減少、下降 |

## 2.6.6 毒性試験の概要文

アミノ酸亜鉛製剤と酢酸亜鉛、硫酸亜鉛製剤などは主にZrt-, Irt-like protein 4トランスポーター（ZIP4トランスポーター）を介して小腸上皮細胞内へ取り込まれ、消化管上皮細胞の血管側の基底膜に発現する亜鉛トランスポーター1（ZnT1）を介して細胞内から血中に亜鉛イオンとして放出される。以上のことから、ヒスチジン亜鉛水和物（本剤）の毒性試験は、各種亜鉛製剤の試験成績をもとに評価した。

毒性試験の資料については文献検索により収集した論文の中から試験方法、使用された実験動物種、論文掲載年などを考慮し、信頼性に足るものを選定した。被験物質として酢酸亜鉛のほか、硫酸亜鉛、酸化亜鉛、塩化亜鉛も対象とした。各種亜鉛塩での毒性試験成績を利用するにあたって、亜鉛塩の薬物動態に関する文献を調査し、各種亜鉛塩での薬物動態パラメータの比較を行った。亜鉛塩の吸収・排泄の比較を、表 2.6.6-1に示した。各種の亜鉛塩の生体内動態を同一の薬物動態パラメータで比較することは困難であったが、得られた試験成績を見る限り、亜鉛塩の薬物動態には塩の種類による差異は少ないと考えられることから、各種亜鉛塩を用いた試験成績を毒性評価の対象とした。

本毒性試験概要で引用した各種亜鉛塩の毒性試験では亜鉛の薬物動態が検討されていないため、薬物動態パラメータ（AUC及び$C_{max}$）を本剤の臨床試験と比較することはできなかった。本剤の第Ⅰ相試験（NPC-25-2）において、外因性亜鉛の薬物動態を酢酸亜鉛水和物を有効成分とするノベルジン錠と比較した。「本剤 100 mg/日、1日1回投与」は「ノベルジン錠 100 mg/日、1日2回投与」と比較し、反復投与14日の$AUC_{0-24}$は1.53倍、$C_{max}$は2.39倍であった。また、本剤の予定する用量・用法より体重あたりの投与量ということでは、体重 30 kgの小児に150 mgを投与した時に亜鉛の投与用量は最大の5 mg/kgとなる。本毒性試験概要で引用した各種亜鉛塩の毒性試験では亜鉛の薬物動態が検討されているものの、第I相試験（NPC-25-2）において本剤をノベルジン錠と比較した時のAUCと$C_{max}$の増加は毒性評価に影響を与えるほどには大きくなく、また最大亜鉛投与量 5 mg/kgに対しては、ラット及びマウスの反復投与毒性試験の無毒性量（54～107 mg Zn/kg）と比較して十分な安全域が確認されている。

表 2.6.6-1 各種亜鉛塩の吸収・排泄に関する試験成績(経口投与)

| | 亜鉛塩 | 動物 | 投与量 (mg Zn/kg) | 測定 | 吸収率 (%) | 血漿中濃度 (μg/mL) | $t_{max}$ (hr) | $t_{1/2\alpha}$ (min) | $t_{1/2\beta}$ (min) | $AUC_{0-\infty}$ (μg・min/mL) | 文献 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 単回投与 | パントテン酸亜鉛 | ウサギ | 65 | 投与後8時間まで | — | 18.3±5.7[a)] | 4 | 68.9±18.7 | 710.1±390.8 | 6013±2025 | Andermann G, 1982[1)] |
| | 硫酸亜鉛 | | 65 | | | 20.2±3.7[a)] | 4 | 71.9±5.0 | 713.1±458.7 | 6306±1490 | |
| | オロチン酸亜鉛 | | 65 | | | 19.1±5.7[a)] | 6 | 93.6±11.8 | 791.7±396.9 | 6228±2740 | |
| 単回及び反復投与(14日) | 塩基性亜鉛 | ラット | 単回0.87 反復1.3 | 単回投与後投与開始後14日 | 40.0±2.4[b)] | 1.76±0.040[c)] | — | — | — | 6278 | Galvez-Morros M, 1992[2)] |
| | 炭酸亜鉛 | | | | 48.4±3.0[b)] | 1.86±0.034[c)] | | | | | |
| | 塩化亜鉛 | | | | 45.1±2.1[b)] | — | | | | | |
| 反復投与(11日) | 塩化亜鉛 | ラット | 3.83 | 投与開始後11日目 | — | 1.85* | 排泄(%intake) 尿 1.43* | 糞 91.9* | — | — | Seal CJ, 1983[3)] |
| | 硫酸亜鉛 | | 3.83 | | | 1.78* | 1.84* | 98.1* | | | |
| | リン酸亜鉛 | | 3.83 | | | 1.78* | 1.62* | 97.6* | | | |
| | クエン酸亜鉛 | | 3.83 | | | 1.82* | 2.04* | 87.0* | | | |
| 反復投与(1週) | 硫酸亜鉛 | イヌ | 2 | 投与終了後7日 | — | 0.78* | — | — | — | — | Ozpinar H, 2001[4)] |
| | 酢酸亜鉛 | | 2 | | | 0.97* | | | | | |
| | 酸化亜鉛 | | 2 | | | 0.89* | | | | | |
| | 硫酸亜鉛 | | 4 | | — | 1.04* | — | — | — | — | |
| | 酢酸亜鉛 | | 4 | | | 1.16* | | | | | |
| | 酸化亜鉛 | | 4 | | | 1.12* | | | | | |

a) $C_{max}$、b) 単回投与、c) 14日間投与、平均値±SE、*：平均値、—：データなし

## 2.6.6.1 まとめ

(1) 毒性試験の一覧表

評価に用いた試験範囲を表 2.6.6-2 に示した。なお、投与量は亜鉛量に換算(mg Zn/kg)して記載した。

表 2.6.6-2 毒性試験の一覧表

一般毒性

| 試験の種類 | 投与経路・期間 | 動物種等 | 被験物質 | GLP 適否 | 文献掲載年(実施国) |
|---|---|---|---|---|---|
| 単回投与毒性 | po、ip | マウス | 酢酸亜鉛 | 不適合 | 1988(スペイン) |
| | po、ip | ラット | | 不適合 | 1988(スペイン) |
| | ip | マウス幼若及び成獣 | | 不適合 | 1998(アメリカ) |
| | po | マウス | 硫酸亜鉛 | 不適合 | 1988(スペイン) |
| | po | ラット | 硫酸亜鉛 | 不適合 | 1973(アメリカ) |
| 反復投与毒性 | po、3 ヵ月(飲水) | ラット | 酢酸亜鉛 | 不適合 | 1988(スペイン) |
| | po、13 週(混餌) | マウス | 硫酸亜鉛 | 不適合 | 1981(日本) |
| | po、13 週(混餌) | ラット | | 不適合 | 1981(日本) |
| | po、70 週 | イヌ | | 不適合 | 1953(アメリカ) |

遺伝毒性

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| 復帰突然変異 | in vitro、±S9 | ネズミチフス菌 | 酢酸亜鉛 | 不適合 | 1989(アメリカ) |
| マウス リンフォーマ tk | in vitro、±S9 | L5178Ytk+/- | | 不適合 | 1989(アメリカ) |
| 染色体異常 | in vitro、±S9 | CHO 細胞 | | 不適合 | 1989(アメリカ) |
| 染色体異常-1 | in vitro、 -S9 | ヒトリンパ球 | | 不適合 | 2000(インド) |
| 染色体異常-2 | in vitro、 -S9 | ヒトリンパ球 | | 不適合 | 1981(ドイツ) |
| 染色体異常-3 | in vitro、 -S9 | ヒトリンパ球 | | 不適合 | 1978(ロシア) |
| 不定期 DNA 合成 | in vitro、 -S9 | ラット初代培養肝細胞 | | 不適合 | 1989(アメリカ) |
| コメットアッセイ | po、単回 | マウス | 硫酸亜鉛 | 不適合 | 2001(インド) |
| 骨髄染色体異常-1 | po、単回 | ラット | | 不適合 | 1974(アメリカ) |
| 骨髄染色体異常-2 | po、5 日連続 | ラット | | 不適合 | 1974(アメリカ) |
| 骨髄小核 | ip、2 日連続 | マウス | | 不適合 | 1981(ドイツ) |
| 優性致死 | po、単回 | ラット | | 不適合 | 1974(アメリカ) |
| 骨髄染色体異常-1 | ip、単回及び反復 | マウス | 塩化亜鉛 | 不適合 | 1991(インド) |
| 骨髄染色体異常-2 | po (混餌)、1 ヵ月 | マウス | | 不適合 | 1979(ベルギー) |
| 骨髄染色体異常-3 | ip、単回 | マウス | | 不適合 | 1978(ロシア) |
| 骨髄染色体異常-4 | po(飲水)、14 日 | ラット | | 不適合 | 1988(ポーランド) |
| 優性致死 | ip、単回 | マウス | | 不適合 | 1978(ロシア) |
| がん原性 | po(飲水)、1 年 | マウス | 硫酸亜鉛 | 不適合 | 1965(イギリス) |
| | po(混餌)、21 ヵ月 | ラット | | 不適合 | 1953(アメリカ) |

生殖発生毒性

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| 世代試験 | po、雄：交配前77日～交配21日雌：交配前77日～授乳期間 | ラット | 塩化亜鉛 | 不適合 | 2001(アメリカ) |
| 器官形成期投与試験 | po、妊娠 6～15 日 | マウス | 硫酸亜鉛 | 不適合 | 1973(アメリカ) |
| | po、妊娠 6～15 日 | ラット | | 不適合 | 1973(アメリカ) |
| | po、妊娠 6～18 日 | ウサギ | | 不適合 | 1974(アメリカ) |

その他の毒性

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| 膵臓毒性 | po、12 ヵ月 | マウス | 硫酸亜鉛 | 不適合 | 1977(イギリス) |
| | sc、単回 | マウス | | 不適合 | 1998(日本) |
| | sc、単回 | マウス | | 不適合 | 2001(日本) |
| | po、2 ヵ月 | ラット | 酢酸亜鉛 | 不適合 | 1989(アメリカ) |
| | po、3～4 ヵ月 | ネコ | 酸化亜鉛 | 不適合 | 1938(カナダ) |
| 血中濃度試験 | po、7 日 | マウス | 炭酸亜鉛 | 不適合 | 1983(カナダ) |
| | po、7 日 | ラット | | 不適合 | 1983(カナダ) |
| | po、14 日 | ラット | | 不適合 | 1992(スペイン) |
| | po(混餌)、20 日 | ラット | | 不適合 | 1989(アメリカ) |
| | ip、4 週間 | ラット | 塩化亜鉛 | 不適合 | 1991(スペイン) |
| | po、2 週間 | イヌ | 酢酸亜鉛 | 不適合 | 2001(トルコ) |

(2) 単回投与毒性

酢酸亜鉛及び硫酸亜鉛のマウス及びラットの単回投与毒性試験の成績概要を表 2.6.6-3 に示した。イヌについては硫酸亜鉛のイヌ 70 週投与試験成績を参照した。

表 2.6.6-3 単回投与毒性試験の結果

| 動物種等 | 被験物質 | 性、投与経路：$LD_{50}$ (mg Zn/kg) | 特記事項 |
|---|---|---|---|
| マウス | 酢酸亜鉛 | 雄 po:86、ip:32 | 結膜炎、立毛、体重減少、摂餌量・摂水量減少、尾の出血・血腫、衰弱が認められた。 |
| マウス<br>(成獣、幼若) | | (成獣)雄雌 ip:12.5<br>(幼若)雄　ip:29.1<br>雌　ip:29.7 | 腹腔血管の拡張、心臓の拡張期停止が認められた。 |
| ラット | | 雄 po:237、ip:48 | 縮瞳、結膜炎、鼻の紅斑・壊死、眼球突出、体重減少、摂餌量・摂水量減少、尾の出血・血腫・壊死が認められた。 |
| マウス | 硫酸亜鉛 | 雄 po:337 | 結膜炎、立毛、体重減少、摂餌量・摂水量減少、尾の出血・血腫、衰弱が認められた。 |
| ラット | | 雄 po:209 | 胃・小腸の潮紅が認められた。 |
| イヌ* | | 性不明 po:45 以上 | 投与 7 週目に顕著な嘔吐が発現したが、死亡はなかった。 |

*：本項 2.6.6.3(4) 硫酸亜鉛のイヌ 70 週投与試験を参照

酢酸亜鉛及び硫酸亜鉛のラットの経口投与における$LD_{50}$値には大差はなかったが、マウスでは酢酸亜鉛で低値であった。酢酸亜鉛の$LD_{50}$値ではラットよりマウスの方が高感受性であり、また、マウスのipでは成獣が幼若獣より高感受性であったが、両者に性差はなかった。なお、非げっ歯類の単回投与毒性試験は実施されていないが、硫酸亜鉛のイヌ70週投与試験成績では45 mg Zn/kgまで経口投与しても死亡がみられないことから、致死量は45 mg Zn/kg以上と推定される。

(3) 反復投与毒性

酢酸亜鉛又は硫酸亜鉛のラット、マウス及びイヌの反復投与毒性試験の成績概要を表2.6.6-4に示した。

表 2.6.6-4 反復経口投与毒性試験における毒性所見のまとめ

| 動物種 | ラット 3ヵ月 | マウス 13週 | ラット 13週 | イヌ 70週 |
|---|---|---|---|---|
| 被験物質 | 酢酸亜鉛 | 硫酸亜鉛 | 硫酸亜鉛 | 硫酸亜鉛 |
| 投与量 (mg Zn/kg) | 48、95、190 | 10、107、1115 | 5.4、54、569 | 45～11に漸減 |
| 死亡用量 | 190 | 1115 | - | 45～11 |
| 体重・症状 | 190*:体重抑制 | 1115:体重抑制 | 569:体重抑制 | 嘔気、嘔吐 |
| 血液学的検査 | 190:Hb、Ht減少傾向 | 1115:RBC、Hb、Ht減少 | 569:Hb、Ht、WBC減少 | Hb減少傾向 |
| 血液生化学的検査 | 190:UN、Crea増加 | 1115:TP、Glu、Chol減少、ALP、UN増加 | 569:Ca、TP、Chol減少 | (未実施) |
| 病理組織学的検査 | 190:糸球体ボーマン嚢上皮細胞の扁平化、近位尿細管上皮の核濃縮 | 1115:膵腺房細胞減少・壊死・化生<br>1115:前胃の潰瘍、小腸粘膜カタール<br>1115:脾臓の髄外造血 | 569:膵腺房細胞減少・壊死・化生 | 骨髄細胞の過形成 |
| 無毒性量** (mg Zn/kg) | 95 | 107 | 54 | 11未満 |

*：所見が認められた投与量　　**：毒性所見が認められなかった投与量

上表のごとく、マウス及びラットの試験において毒性所見はそれぞれの高用量群にのみ認められ、中及び低用量群では認められなかった。

1) 酢酸亜鉛

ラット3ヵ月経口投与では、190 mg Zn/kgで死亡が発現し、貧血及び腎臓への影響がみとめられたが、95 mg Zn/kg以下では異常はなかった。

2) 硫酸亜鉛

マウス13週経口投与では、1115 mg Zn/kgで死亡例が観察され、貧血のほか、TP、Glu及びCholの減少、ALP及びUNの増加がみられた。また、膵臓の腺房細胞の減少、壊死及び化生、小腸粘膜カタール、前胃の潰瘍、脾臓の髄外造血像が観察された。107 mg Zn/kg以下では異常はなかった。

ラット13週経口投与では、569 mg Zn/kgで、貧血、WBC及び血漿Caの減少が見られたほか、TP及びCholの減少がみられた。マウスと同様、膵臓の腺房細胞の減少、壊死及び化生等が観察された。54 mg Zn/kg以下では異常はなかった。

イヌ70週経口投与では、45 mg Zn/kgで顕著な嘔吐が継続し、11 mg Zn/kgまで減量して70週間投与した。途中1例症状悪化で屠殺した以外、症状等の異常はなかった。投与終了時ではHbの減少傾向及び骨髄細胞の過形成像がみられた。

以上、亜鉛の毒性所見は、胃腸管に対する刺激性、貧血、及び膵臓の器質的変化が主要な変化であり、これら毒性所見が認められない投与量は、マウスで100 mg Zn/kg、ラットで50 mg Zn/kg付近であると考えられた。また、イヌでは嘔吐が11 mg Zn/kgにおいても発現した。

トキシコキネティクス試験が実施されていないため、曝露量ベースでの安全域は算出できなかった。投与量ベースで判断すると、胃腸管障害に対する無毒性量は把握できず、安全域は狭いものと思われる。その他の毒性所見では臨床投与量（体重30 kgの小児に150 mg 投与した時の最大亜鉛用量5 mg/kg）に対し約10～20倍の安全域が認められた。

(4) 亜鉛塩投与後の血中濃度

酢酸亜鉛及び炭酸亜鉛をマウス、ラット、イヌに反復経口(混餌)投与、塩化亜鉛をラットに反復腹腔内投与した後の血中濃度を図 2.6.6-1 に示した。

酢酸亜鉛、炭酸亜鉛を経口投与した場合の亜鉛の血中濃度は、塩化亜鉛のラット腹腔内投与に比べ低値であった。経口投与では、マウス、ラット及びイヌとも投与量に対しほぼ同程度の血中亜鉛濃度を示し、0.45～50 mg Zn/kg の投与量の範囲における血中濃度は、0.67～1.86μg/mL と、用量増加に比較して血中濃度は低値であった。

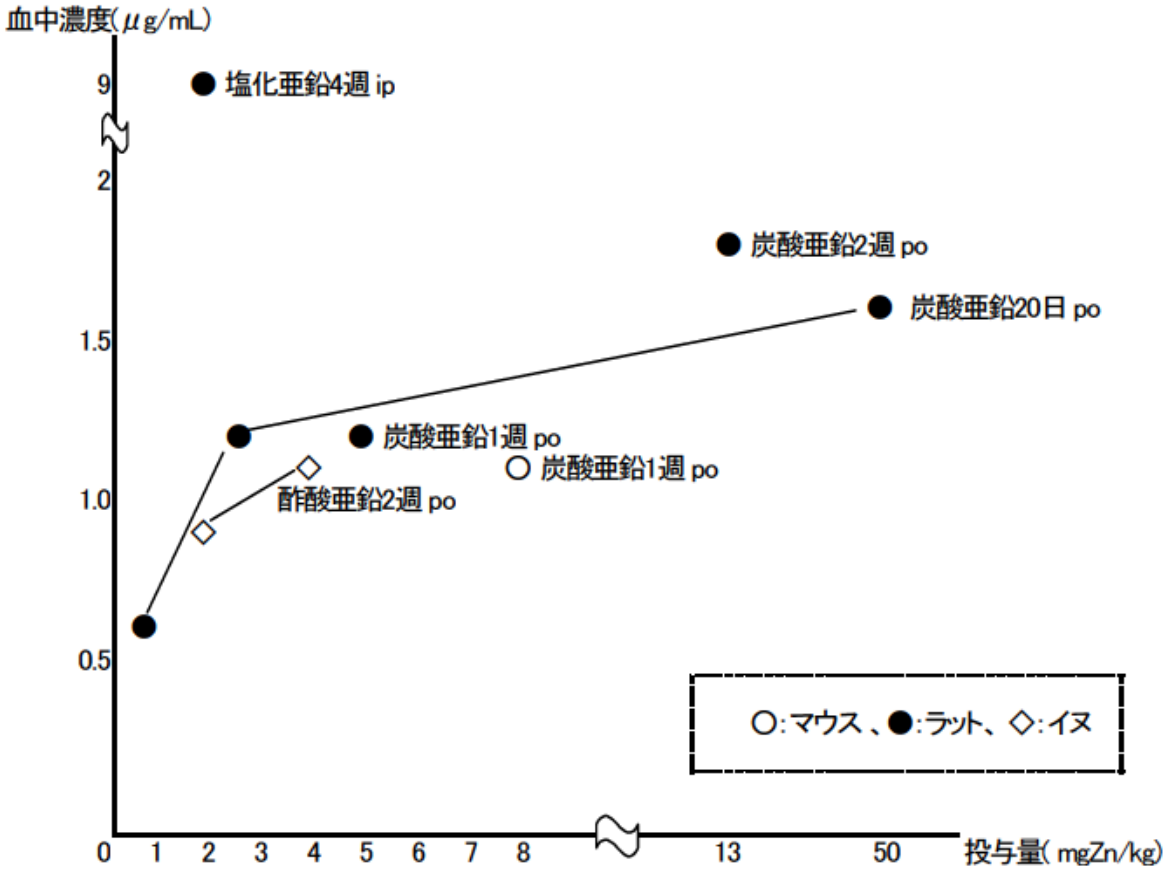



図 2.6.6-1 マウス、ラット、イヌにおける亜鉛塩投与後の血中濃度

(5) 遺伝毒性

酢酸亜鉛の in vitro 試験及び硫酸亜鉛・塩化亜鉛の in vivo 試験の成績概要を表 2.6.6-5 に示した。

表 2.6.6-5 酢酸亜鉛(in vitro)及び硫酸亜鉛・塩化亜鉛(in vivo)の遺伝毒性試験成績

| 亜鉛塩 | 試験系 | 方法 | 投与量 | 結果 |
|---|---|---|---|---|
| in vitro 酢酸亜鉛 | ネズミチフス菌復帰変異 | ﾌﾟﾚｰﾄ法：±S9 | 15～2146μg Zn/plate | － |
| | マウスリンフォーマ(tk) | S9 -/+ | 0.39～3.9/ 1.25～12.52 μg Zn/mL | +/+ |
| | CHO 細胞染色体異常 | S9 -/+ | 7.45～13.41/13.41～23.84 μg Zn/mL | +/+ |
| | ヒトリンパ球染色体異常 | -S9:2 / 3 / 24、48、72時間処理 | 2.1、6.0/0.007～65.41 /2.0～98.1μg Zn/mL | +/－/+ |
| | ラット不定期DNA合成(UDS) | 肝初代培養細胞 | 2.98～298μg Zn/mL | － |
| in vivo 硫酸亜鉛 | マウスコメットアッセイ | po、単回：1、2、3、4、7日 | 1.3～4.5 mg Zn/kg | + |
| | ラット骨髄染色体異常 | po、単回：6～48時間<br>po、5日反復：6時間 | 0.6～62.4 mg Zn/kg<br>0.6～62.4 mg Zn/kg | －<br>－ |
| | マウス骨髄小核 | ip、2日反復：6時間 | 6.5～19.6 mg Zn/kg | － |
| | ラット優性致死 | po、単回 | 0.6～62.4 mg Zn/kg | － |
| in vivo 塩化亜鉛 | ラット骨髄染色体異常 | po、14日：24時間 | 11.5 mg Zn/kg | + |
| | マウス骨髄染色体異常 | ip、単回：24時間<br>ip、反復：8、16、24日<br>混餌、反復：1ヵ月<br>ip、単回：20時間 | 3.6～7.2 mg Zn/kg<br>0.96、1.44 mg Zn/kg<br>825 mg Zn/kg<br>7.2 mg Zn/kg | +<br>+<br>－<br>－ |
| | マウス優性致死 | ip、単回 | 7.2 mg Zn/kg | － |

＋：陽性、－：陰性

酢酸亜鉛の in vitro 試験のうち、ネズミチフス菌を用いる復帰変異試験では陰性の結果が得られているが、マウスリンフォーマ(tk)試験及びチャイニーズ・ハムスター培養細胞(CHO)を用いる染色体異常試験では陽性であった。ヒト培養リンパ球の染色体異常試験では陽性と陰性の両方の結果が得られた。一方、ラット肝初代培養細胞を用いる不定期 DNA 合成(UDS)試験は陰性であった。

in vivo 試験については、硫酸亜鉛はマウスコメットアッセイで陽性であったが、ラット骨髄染色体異常試験の経口単回投与及び経口 5 日連続投与のいずれにおいても陰性であり、マウス小核試験の腹腔内投与で陰性であり、ラット優性致死試験においても陰性であった。一方、塩化亜鉛のラット骨髄染色体異常試験では陽性、マウス骨髄染色体異常試験では陽性と陰性の両結果が報告され、マウス優性致死試験では陰性の結果が得られた。

(6) がん原性

試験方法に不備はあるが(投与期間が短い、投与量及び動物数が少ない等)、がん原性試験及びこれに相当する長期投与の毒性試験として以下の報告がある。

マウスに硫酸亜鉛 165、825 mg Zn/kg を 1 年間経口投与(飲水)した試験の病理組織学的所見では、対照群と比べて腫瘍発生の頻度に差は認められなかった。

ラットに硫酸亜鉛 2.3、11.3、22.7 mg Zn/kg を 21 ヵ月経口投与(混餌)した場合でも、11.3、22.7 mg Zn/kg 群で腎臓の腫大及び腎表面の粗造化がみられ、加齢性腎炎の程度が増強した以外に特記すべき異常は報告されていない。このように硫酸亜鉛をマウス及びラット

に長期間経口投与した試験において、腫瘍の誘発は観察されなかった。

(7) 生殖発生毒性

塩化亜鉛によるラットの世代試験(交配 77 日前～授乳期間投与)及び硫酸亜鉛によるマウス、ラット及びウサギでの器官形成期投与試験の成績概要を表 2.6.6-6 に示した。

表 2.6.6-6 生殖発生毒性試験における試験成績

| 動物種 | ラット<br>世代試験 | マウス<br>器官形成期投与 | ラット<br>器官形成期投与 | ウサギ<br>器官形成期投与 |
|---|---|---|---|---|
| 被験物質 | 塩化亜鉛 | 硫酸亜鉛 | 硫酸亜鉛 | 硫酸亜鉛 |
| 投与量<br>(mg Zn/kg) | 3.6、7.2、14.4 | 0.07、0.3、<br>1.5、6.8 | 0.1、0.5、<br>2.1、9.7 | 0.14、0.6、<br>3.0、13.6 |
| 親動物 | 3.6*～:雄の体重低下<br>7.2～:雌の産後体重低下<br>7.2～:雌雄の胸腺萎縮、脾臓リンパ濾胞の抑制、ヘモジデリン沈着等 | 異常なし | 異常なし | 異常なし |
| 無毒性量**<br>(mg Zn/kg) | 3.6 未満 | 6.8 | 9.7 | 13.6 |
| 胎児 | | 異常なし | 異常なし | 異常なし |
| 出生児 | 7.2～:生後 21 日の体重低下 | | | |
| 無毒性量**<br>(mg Zn/kg) | 3.6 | 6.8 | 9.7 | 13.6 |

*：所見が認められる投与量、**：毒性所見が認められない投与量

ラットの世代試験では $F_0$ の雄の体重増加量が亜鉛投与群すべてで低下した。また、雌では 7.2、14.4 mg Zn/kg 群で産後体重が低下した。病理組織学的所見では 7.2、14.4 mg Zn/kg 群の雌雄の少数例に胸腺萎縮、脾臓のリンパ濾胞の抑制、ヘモジデリン沈着及び前立腺腺房萎縮が認められたがいずれも軽度であった。妊娠率の低下傾向及び 0 日生存児数の低下が亜鉛投与群すべてにみられたが、授乳期間中の生存率には差はなかった。その他、新生児の生後 21 日の体重値が 7.2、14.4 mg Zn/kg 群で低下した。したがって、毒性所見が認められない投与量は親動物の一般毒性及び生殖能では 3.6 mg Zn/kg 未満、$F_1$ 児では 3.6 mg Zn/kg と推定される。

器官形成期投与試験ではマウス、ラット及びウサギとも着床数、生存胎児数、胎児体重、性比に異常はなく、催奇形性は認められなかった。親動物及び胎児に対して毒性所見が認められない投与量は、マウスで 6.8 mg Zn/kg、ラットで 9.6 mg Zn/kg、ウサギで 13.6 mg Zn/kg と推定される。

(8) 局所刺激性

該当なし。

(9) その他の毒性：(膵臓に対する影響)

マウス、ラット及びネコの膵臓に対する亜鉛投与の影響を表 2.6.6-7 に示した。

表 2.6.6-7 マウス、ラット及びネコの膵臓に対する亜鉛投与の影響

| 動物種 | 被験物質 | 投与経路<br>投与期間 | 投与量<br>(mg Zn/kg) | 試験結果 |
|---|---|---|---|---|
| マウス<br>(雌雄) | 硫酸亜鉛 | po(飲水)<br>5～12 ヵ月 | 30 | ラ島の肥大及び空胞化、血漿中Glu及びInsに異常なし |
| マウス<br>(雄) | 硫酸亜鉛 | sc<br>1 回 | 50、300 | 50 mg Zn/kg以上で血漿Amyl増加、膵臓腺房細胞の変性・壊死、間質の細胞浸潤 |
| マウス<br>(雄) | 硫酸亜鉛 | sc<br>1 回 | 0.1、0.5、1、5、12.5、25、50 | 25 mg Zn/kg以上で血漿Amyl増加、50 mg Zn/kgで膵臓腺房細胞のチモーゲン顆粒減少、空胞化、線維化、壊死、ラ島に異常なし。 |
| ラット<br>(雄) | 酢酸亜鉛 | po<br>2 ヵ月 | 5.7、28.5、57.1 | 銅を補給したラットでは、57.1 mg Zn/kgまで膵臓障害の増強なし |
| ネコ (雄) | 酸化亜鉛 | po(混餌)<br>3～4 ヵ月 | 62～75 | 膵臓の腺房細胞の変性、細胞浸潤及び結節性線維化、ラ島に異常なし |

先に示したマウス、ラットの 13 週反復経口投与試験で認められた膵臓の腺房細胞に対する障害性変化は、マウスの単回皮下投与あるいはネコの経口投与においても認められた。このことから、亜鉛の投与量が高い場合には急性変化としても発現し、また動物種差も少ないことが窺える。腺房細胞の変化に随伴して血漿アミラーゼの上昇も認められており，腺房細胞の障害に起因した逸脱酵素とみることができる。また、ラットに銅を補給しながら亜鉛を投与した場合には膵臓障害の増強がないことから、生体内銅濃度の低下も腺房細胞の障害に関係している可能性が高い。一方、ラ島に対する影響あるいは血糖及びインシュリン量は、ほとんどの試験で異常を認めなかった。マウスの長期投与において、ラ島細胞の肥大、空胞化が観察されたが、この試験では腺房細胞に対する障害が認められておらず、ラ島の変化が亜鉛による膵臓障害であるかは明らかでなかった。

(10) その他の毒性：不純物の毒性

本剤の原薬及び製剤に構造決定が必要な閾値を超える不純物及び類縁物質は認められなかったことから、安全性評価は実施していない。

## 2.6.6.2 単回投与毒性試験

(1) 酢酸亜鉛及び硫酸亜鉛のマウス単回投与毒性試験

＜添付資料 4.2.3.1-1 参＞

マウスに酢酸亜鉛及び硫酸亜鉛を経口又は腹腔内投与して14日間観察した試験の成績概要を表 2.6.6-8に示した。

表 2.6.6-8 酢酸亜鉛及び硫酸亜鉛のマウス単回投与毒性試験成績

| 動物種<br>系統、性 | 被験物質 | 投与経路 | 結果 | |
|---|---|---|---|---|
| | | | $LD_{50}$(mg Zn/kg) | 一般状態 |
| マウス<br>Swiss系雄 | 酢酸亜鉛 | po | 86 | 投与24時間内に死亡<br>結膜炎、立毛、体重減少、摂餌量・摂水量の減少、尾の出血・血腫、衰弱 |
| | | ip | 32 | |
| | 硫酸亜鉛 | po | 337 | |

酢酸亜鉛の投与 14 日後の $LD_{50}$ 値は経口投与で 86 mg Zn/kg、腹腔内投与で 32 mg Zn/kg であった。硫酸亜鉛の経口投与では、337 mg Zn/kg であった。死亡は両被験物質とも投与後 24 時間内に発現し、毒性所見として結膜炎、立毛、体重減少、摂餌量及び摂水量の減少、尾の出血、血腫及び衰弱(経口投与のみ)が観察された。

(2) 酢酸亜鉛の幼若及び成獣マウス単回投与毒性試験

＜添付資料 4.2.3.1-2 参＞

幼若及び成獣マウスに酢酸亜鉛を腹腔内投与して 14 日間観察した試験の成績概要を表 2.6.6-9 に示した。

表 2.6.6-9 酢酸亜鉛の幼若及び成獣マウス単回投与毒性試験成績

| 動物種<br>性 | 被験物質 | 投与経路 | 結果 | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | $LD_{50}$ (mg Zn/kg) | 一般状態 | 剖検所見 |
| マウス<br>雌雄 | 酢酸亜鉛 | ip | 幼若：雄 29.1 雌 29.7<br>成獣：雄雌 12.5 | 投与 1～14 日にわたり死亡発現 | 腹部血管の拡張、心臓の拡張期停止 |

投与 14 日後の $LD_{50}$ 値は成獣マウスの雌雄で 12.5 mg Zn/kg、幼若マウスの雄で 29.1 mg Zn/kg、雌で 29.7 mg Zn/kg と性差はなかったが、幼若獣より成獣の感受性が高かった。死亡は投与 1 日より 14 日まで観察され、死亡例の剖検所見では腹部血管の拡張及び心臓の拡張期停止が観察された。

(3) 酢酸亜鉛及び硫酸亜鉛のラット単回投与毒性試験

＜添付資料 4.2.3.1-1 参、4.2.3.1-3 参＞

ラットに酢酸亜鉛及び硫酸亜鉛を経口又は腹腔内投与し14日間観察した試験の成績概要を表 2.6.6-10に示した。

表 2.6.6-10 酢酸亜鉛及び硫酸亜鉛のラット単回投与毒性試験成績

| 動物種<br>性 | 被験物質 | 投与経路 | 結果 | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | $LD_{50}$ mg Zn/kg | 一般状態 | 剖検所見 |
| ラット<br>SD 系雄 | 酢酸亜鉛 | po | 237 | 大部分は投与 24 時間内に死亡<br>縮瞳、結膜炎、鼻の紅斑・壊死、眼球突出(腹腔内投与のみ)、体重減少、摂餌量及び摂水量の減少、尾の出血・血腫及び壊死(経口投与のみ) | 未実施 |
| | | ip | 48 | | |
| ラット<br>雄 | 硫酸亜鉛 | po | 209 | 1～3 日にわたり死亡 | 胃及び小腸粘膜の潮紅 |

酢酸亜鉛の $LD_{50}$ 値は経口投与で 237 mg Zn/kg、腹腔内投与で 48 mg Zn/kg であった。両投与経路とも大部分の死亡は投与後 24 時間内に発現し、縮瞳、結膜炎、鼻の紅斑・壊死、

眼球突出(腹腔内投与のみ)、体重減少、摂餌量及び摂水量の減少、尾の出血・血腫及び壊死(経口投与のみ)が観察された。

硫酸亜鉛の経口投与では$LD_{50}$値は 209 mg Zn/kg で、死亡は投与後 1～3 日に発現し、剖検の結果、胃及び小腸粘膜の潮紅が観察された。

### 2.6.6.3 反復投与毒性試験

(1) 酢酸亜鉛のラット3ヵ月経口投与毒性試験

＜添付資料 4.2.3.2-1 参＞

SD系雌ラットを用いた酢酸亜鉛(48、95、190 mg Zn/kg)の3ヵ月経口投与(飲水)試験の成績概要を表 2.6.6-11に示した。

190 mg Zn/kgで体重増加抑制傾向、摂水量の減少、尿量の減少、自発運動の低下を呈し、2/10例が死亡した。また、同群でUrea及びCreaの増加が観察された。病理組織学的検査ではボーマン嚢上皮細胞の扁平化、近位尿細管上皮細胞の剥離及び核濃縮が認められた。95 mg Zn/kg以下では異常はないことから、毒性所見が認められない投与量は95 mg Zn/kgであった。

表 2.6.6-11 酢酸亜鉛の雌ラット 3 ヵ月反復投与毒性試験成績

| 動物種、系統性、体重 | SD 系ラット、雌、70～90 g | | | |
|---|---|---|---|---|
| 投与経路(投与方法) | 酢酸亜鉛を所定の投与量となるよう砂糖加飲料水に添加し、自由に摂取させた。対照群には酢酸亜鉛無添加の砂糖加飲料水を自由に摂取させた。 | | | |
| 被験物質 | 対照(砂糖加飲料水) | 酢酸亜鉛(mg Zn/kg) | | |
| | | 48 | 95 | 190 |
| 動物数 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| 死亡動物数 | 0 | 0 | 0 | 2 |
| 一般状態 | — | — | — | 自発運動の低下 |
| 体重推移 | ／ | — | — | 増加抑制傾向 |
| 摂餌量 | ／ | — | — | — |
| 摂水量 | ／ | — | — | ↓ |
| 糞量 | ／ | — | — | — |
| 尿量 | ／ | — | — | ↓ |
| 血液学的検査 | ／ | — | — | Ht 及び Hb の減少傾向 |
| 血液生化学的検査 | ／ | — | — | Urea↑、Crea↑ |
| 臓器重量 | ／ | — | — | — |
| 剖検 | — | — | — | — |
| 病理組織学的検査 | — | — | — | ボーマン嚢上皮細胞の扁平化、近位尿細管上皮の核濃縮及び剥離 |
| 主な標的臓器 | 造血器、腎臓 | | | |
| 無毒性量 | 95 mg Zn/kg | | | |

—：特記すべき所見なし　／：有意差検定の対照

(2) 硫酸亜鉛のマウス 13 週経口投与毒性試験

＜添付資料 4.2.3.2-2 参＞

ICR 系マウス(雌雄)を用いた硫酸亜鉛(10.1、107、1115 mg Zn/kg)の 13 週経口投与(混餌)試験の成績概要を表 2.6.6-12 に示した。

1115 mg Zn/kg で自発運動の低下、体重の増加抑制、被毛の乱れを呈し、雄で 4/12 例、雌

で 1/12 例死亡した。また、同群で雌雄共通に貧血(RBC、Hb、Ht の減少)が観察されたほか、総蛋白量、グルコース及び Chol の減少、ALP 及び UN の増加がみられた。重量・相対重量ともに増加した臓器は雄の甲状腺、雌の腎臓であったが、剖検で両者に貧血性退色が認められた以外、病理組織学的所見で著変はなかった。病理組織学的検査では膵腺房細胞数の減少、腺房細胞の壊死及び化生、上部小腸粘膜カタール、前胃の潰瘍、脾臓の髄外造血像が雌雄で観察された。107 mg Zn/kg 以下では異常がないことから、毒性所見が認められない投与量は 107 mg Zn/kg(雄:104 mg Zn/kg、雌:109 mg Zn/kg)であった。

表 2.6.6-12 硫酸亜鉛の雌雄マウス 13 週反復投与毒性試験成績

| 動物種、系統<br>週齢、性 | ICR マウス、5 週齢、雌雄 | | | |
|---|---|---|---|---|
| 投与方法 | 所定量の硫酸亜鉛を混入した飼料を自由に摂取させ、週2回測定した摂餌量より被験物質の摂取量を算定した。動物が過剰に排除した飼料は乾燥後重量を測定して正確な摂取量になるよう補正した。対照群には無添加の飼料を同様に与えた。 | | | |
| 被験物質 | 対照 | 硫酸亜鉛(mg Zn/kg)* | | |
| | | 10.1 | 107 | 1115 |
| 平均被験物質摂取量<br>(mg Zn/kg) | 雄:0<br>雌:0 | 雄:9.7<br>雌:10.6 | 雄:104<br>雌:109 | 雄:1121<br>雌:1109 |
| 動物数 | 雄 12　雌 12 | 雄 12　雌 12 | 雄 12　雌 12 | 雄 12　雌 12 |
| 死亡動物数 | 雄 0　雌 0 | 雄 0　雌 0 | 雄 0　雌 0 | 雄 4　雌 1 |
| 一般状態 | — | — | — | 体重増加抑制、死亡・切迫屠殺動物では自発運動↓及び被毛の乱れ |
| 摂餌量(g/day/mouse) | — | — | — | 雌雄とも第 1 週は↓、その後は回復傾向 |
| 飼料効率 | — | — | — | 雌雄とも第 1 週に著しく↓、総平均でも↓ |
| 摂水量<br>(mL/day/mouse) | — | — | — | 雌雄とも第 1 週は↓ |
| 血液学的検査 | ／ | — | — | 雌雄とも Ht↓Hb↓RBC↓、雄は WBC↓ |
| 血液生化学的検査 | ／ | — | — | 雌雄とも TP↓ALP↑Glu↓UN↑Chol↓、雄 AST↑、雌 ALT↓Ca↑ |
| 臓器重量 | ／ | — | — | 重量及び相対重量ともに増加した臓器は雄の甲状腺、雌の腎臓であった。 |
| 剖検 | — | — | — | 衰弱、腎臓及び甲状腺の貧血性退色、膵臓の萎縮、上部小腸の浮腫性肥厚、軽微な脾腫が認められた。 |
| 病理組織学的検査 | — | — | — | 膵臓の腺房細胞数の減少、腺房細胞の壊死及び化生、上部小腸の粘膜カタール、前胃の潰瘍、脾臓の髄外造血像 |
| 主な標的臓器 | 造血器、膵臓外分泌部、上部消化管(胃、上部小腸)、腎臓 | | | |
| 無毒性量(mg Zn/kg) | 107 | | | |

—：特記すべき所見なし　／：有意差検定の対照　＊：雌雄の被験物質摂取量の平均　↑：対照群に比し高値
↓：対照群に比し低値

(3) 硫酸亜鉛のラット 13 週経口投与毒性試験

＜添付資料 4.2.3.2-2 参＞

Wistar 系ラット(雌雄)を用いた硫酸亜鉛(5.4、54、569 mg Zn/kg)の 13 週経口投与(混餌)試験の成績概要を表 2.6.6-13 に示した。

ラットでは 569 mg Zn/kg で雄に体重増加抑制がみられたが、薬物投与に起因する死亡はなかった。569 mg Zn/kg の雌雄で WBC 及び血漿 Ca の減少がみられたほか、雄で Hb、Ht、TP 及び Chol の減少がみられた。重量・相対重量とも減少した臓器は雄の肝臓及び脾臓であったが、病理組織学的所見に異常はなかった。病理組織検査では腺房細胞の壊死及び変性、腺房中心細胞の淡明化、腺房間質の線維化が観察された。54 mg Zn/kg 以下では異常がないことから、毒性所見が認められない投与量は 54 mg Zn/kg (雄: 53 mg Zn/kg、雌: 55 mg Zn/kg) であった。

表 2.6.6-13 硫酸亜鉛の雌雄ラット 13 週反復投与毒性試験成績

| 動物種、系統<br>週齢、性 | Wistar 系ラット、5 週齢、雌雄 | | | |
|---|---|---|---|---|
| 投与方法 | 所定量の硫酸亜鉛を混入した飼料を自由に摂取させ、週 2 回測定した摂餌量より被験物質の摂取量を算定した。動物が過剰に排除した飼料は乾燥後重量を測定して正確な摂取量になるよう補正した。対照群には無添加の飼料を同様に与えた。 | | | |
| 被験物質 | 対照<br>(無添加飼料) | 硫酸亜鉛(mg Zn/kg)* | | |
| | | 5.4 | 54 | 569 |
| 平均被験物質摂取量<br>(mg Zn/kg) | 雄: 0<br>雌: 0 | 雄: 5.3<br>雌: 5.6 | 雄: 53<br>雌: 55 | 雄: 572<br>雌: 565 |
| 動物数 | 雄 12　雌 12 | 雄 12　雌 12 | 雄 12　雌 12 | 雄 12　雌 12 |
| 死亡動物数 | 雄 0　雌 1[1)] | 雄 0　雌 0 | 雄 0　雌 1[1)] | 雄 0　雌 0 |
| 一般状態 | — | — | — | 雌雄とも餌の排出行動 |
| 摂餌量(g/day/rat) | — | — | — | 雄は 3 週より↓、雌は 1～6 週に↓ |
| 飼料効率 | — | — | — | 雄は総平均で↓、雌は− |
| 摂水量(mL/day/rat) | — | — | — | 雄は軽度↓、雌は− |
| 血液学的検査 | ／ | — | — | 雄は軽度の Ht↓Hb↓、雌雄とも WBC↓ |
| 血液生化学的検査 | ／ | — | — | 雄は TP↓ALT↓Chol↓Ca↓、雌は Ca↓ |
| 臓器重量 | ／ | — | — | 重量及び相対重量とも減少した臓器は雄の肝臓及び脾臓であった。 |
| 剖検 | — | — | — | — |
| 病理組織学的検査 | — | — | — | 膵臓腺房細胞の変性及び壊死、腺房中心細胞の淡明化、腺房間質の線維化 |
| 主な標的臓器 | 造血器、膵臓外分泌部 | | | |
| 無毒性量(mg Zn/kg) | 54 | | | |

1):切迫屠殺(化膿性腎盂炎)、—：特記すべき所見なし、／：有意差検定の対照　↓：対照群に比し低下
＊：雌雄の被験物質摂取量の平均

(4) 硫酸亜鉛のイヌ 70 週投与試験

＜添付資料 4.2.3.2-3 参＞

ダルメシアン系のイヌ(性別不明)を用いた硫酸亜鉛(45 から 11 mg Zn/kg まで投与量を漸減)の 70 週間経口投与試験の成績概要を表 2.6.6-14 に示した。

試験開始時の投与量は 45 mg Zn/kg であったが、7 週目に顕著な嘔吐が発現し、23 mg Zn/kg に減量した。減量後もさらに嘔吐が継続したため 1 例(No.5)は 11 週目に、残り 3 例(No.3、4、6)は 40 週目に 11 mg Zn/kg まで減量して 70 週まで投与した。しかし、減量後 1 週間目に 1 例(No.6)が体重減少、身体症状悪化を呈したため屠殺した。残り 3 例には食欲、体重増加に異常はなかった。

その結果、亜鉛投与群に RBC、WBC、白血球百分比及び M/E 比の異常はなかったが、Hb の減少傾向及び骨髄細胞の過形成像がみられた。従って、毒性所見が認められない投与量は 11 mg Zn/kg 未満と推察される。

表 2.6.6-14 硫酸亜鉛のイヌ 70 週毒性試験成績

| 動物種、系統<br>年齢、性 | ダルメシアン系イヌ、年齢、性不明（一腹の子犬） | | | |
|---|---|---|---|---|
| 投与方法 | 所定量の硫酸亜鉛をカプセルに詰め、強制経口投与した。 | | | |
| 動物数 | 2(No.1、2) | 4(No.3、4、5、6) | | |
| 被験物質 | 対照 | 硫酸亜鉛 | | |
| 投与期間・<br>投与量(mg Zn/kg) | 0 | 1 例(No.5):45(0～7 週)→23(8～10 週)→11(11～70 週)<br>3 例(No.3、4、6):45(0～7 週)→23(8～39 週)→11(40～70 週) | | |
| 投与量(mg Zn/kg) | | 45 | 23 | 11 |
| 一般状態（死亡）<br>体重 | — | ほぼ全例で顕著な嘔吐<br>(投与8週より23 mg Zn/kg に減量) | 減量後3週に1例、32週に3例の嘔吐発現<br>(11 mg Zn/kg に減量) | 減量後 1 週間目に 1 例が体重減少、身体症状悪化のため屠殺(No.6)<br>残り 3 例は食欲、体重増加に異常なし |
| 血液検査 | — | Hb の減少傾向が見られたが、赤血球数、白血球数、白血球百分比は異常なし、骨髄球/赤芽球比に変化なし | | |
| 病理組織学的検査 | — | 骨髄細胞の軽度過形成が観察された以外に異常なし | | |
| 主な標的臓器 | 消化管 | | | |
| 無毒性量 | 11 mg Zn/kg 未満 | | | |

—：異常なし

(5) 亜鉛塩投与後の血中濃度

酢酸亜鉛あるいは炭酸亜鉛をマウス、ラット及びイヌに反復経口(混餌)投与、塩化亜鉛をラットに反復腹腔内投与した後の血中濃度の測定結果を表 2.6.6-15に示した。

妊娠ラットを用いた炭酸亜鉛の20日間経口投与では、投与量増加に相関した血中濃度の増加がみられたが、増加の程度は軽微であった。各種動物の経口投与時の血中濃度は、0.45～50 mg Zn/kgの用量範囲において0.66～1.86 μg/mLの範囲にあり、投与量増加による血中濃度の増加は各種動物とも抑制的であった。一方、腹腔内投与では経口投与に比較し、約7～9倍高い血中濃度が得られた。

表 2.6.6-15 マウス、ラット、イヌにおける亜鉛塩投与後の血中濃度

| 試験の種類 | | 被験物質 | 投与方法 | 投与量 (mg Zn/kg) | 血中濃度 (μg/mL) | GLP 運用 | CTDにおける記載箇所 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| マウス | 7日投与試験 (雌) | 炭酸亜鉛 | po(混餌) | 8* | 1.09±0.11 | 不適合 | 4.2.3.7.7-6 |
| ラット | 7日投与試験 (雄) | 炭酸亜鉛 | po(混餌) | 4.8** | 1.22±0.10 | 不適合 | 4.2.3.7.7-6 |
| | 14日投与試験 (雄) | 炭酸亜鉛 | po(混餌) | 25 | 1.86± 0.034 | 不適合 | 4.2.3.7.7-8 |
| | 20日投与試験 (雌) | 炭酸亜鉛 | po(混餌) | 0.45** | 0.66±0.11 | 不適合 | 4.2.3.7.7-9 |
| | | | | 2.45** | 1.21±0.09 | | |
| | | | | 50.0** | 1.61±0.07 | | |
| | 4週間投与試験 (雄) | 塩化亜鉛 | ip | 2 | 9.1±1.0 | 不適合 | 4.2.3.7.7-7 |
| イヌ | 1週間投与試験 (雄) | 酢酸亜鉛 | po(混餌) | 2 | 0.97±0.02 | 不適合 | 4.2.3.7.7-10 |
| | | | | 4 | 1.16±0.02 | | |

*：マウスの摂餌量を 165 g/kg 体重として換算　**：ラットの摂餌量を 100 g/kg 体重として換算

## 2.6.6.4 遺伝毒性試験

酢酸亜鉛のin vitro試験及び硫酸亜鉛及び塩化亜鉛のin vivo試験の成績概要を表 2.6.6-16に示した。なお、酢酸亜鉛のin vivo試験の報告を見出せなかったため、硫酸亜鉛及び塩化亜鉛のin vivo試験の成績を採用した。

表 2.6.6-16 遺伝毒性試験のまとめ

| 亜鉛塩 | 試験系 | 方法 | 結果 | 投与量 | CTD記載箇所 |
|---|---|---|---|---|---|
| In vitro試験 | | | | | |
| 酢酸亜鉛 | ネズミチフス菌復帰変異 | ﾌﾟﾚｰﾄ法：±S9 | － | 15～2146μg Zn/plate | 4.2.3.3.1-1 |
| | マウスリンフォーマ(TK) | ±S9 | ＋ | 0.39～3.9/ 1.25～12.52μg Zn/mL | |
| | CHO 細胞染色体異常 | ±S9 | ＋ | 7.45～13.41/13.41～23.84μg Zn/mL | |
| | ヒトリンパ球染色体異常 | -S9:24、48、72時間処理 | ＋ | 2.0～98.1μg Zn/mL | 4.2.3.3.1-2 |
| | ヒトリンパ球染色体異常 | -S9:3時間処理 | － | 0.007～65.41μg Zn/mL | 4.2.3.3.1-3 |
| | ヒトリンパ球染色体異常 | -S9:2時間処理 | ＋ | 2.1、6.0μg Zn/mL | 4.2.3.3.1-4 |
| | ラット不定期DNA合成(UDS) | 肝初代培養細胞 | － | 2.98～298μg Zn/mL | 4.2.3.3.1-1 |
| In vivo試験 | | | | | |
| 硫酸亜鉛 | マウスコメットアッセイ | 経口単回：1、2、3、4、7日 | ＋ | 1.3～4.5 mg Zn/kg | 4.2.3.3.2-1 |
| | ラット骨髄染色体異常 | 経口単回：6、24、48時間 | － | 0.6～62.4 mg Zn/kg | 4.2.3.3.1-6 |
| | ラット骨髄染色体異常 | 経口5日連続：6時間 | － | 0.6～62.4 mg Zn/kg | |
| | マウス骨髄小核 | 腹腔内2日連続：6時間 | － | 6.5～19.6 mg Zn/kg | 4.2.3.3.1-5 |
| | ラット優性致死 | 経口単回 | － | 0.6～62.4 mg Zn/kg | 4.2.3.3.1-6 |
| 塩化亜鉛 | マウス骨髄染色体異常 | 腹腔内単回：24時間 | ＋ | 3.6～7.2 mg Zn/kg | 4.2.3.3.2-2 |
| | | 腹腔内隔日：8、16、24日 | ＋ | 0.96、1.44 mg Zn/kg | |
| | マウス骨髄染色体異常 | 混餌1ヵ月 | － | 825 mg Zn/kg | 4.2.3.3.2-3 |
| | マウス骨髄染色体異常 | 腹腔内単回：20時間 | － | 7.2 mg Zn/kg | 4.2.3.3.2-4 |
| | ラット骨髄染色体異常 | 経口：14日：24時間 | ＋ | 11.5 mg Zn/kg | 4.2.3.3.2-5 |
| | マウス優性致死 | 腹腔内単回 | － | 7.2 mg Zn/kg | 4.2.3.3.2-4 |

酢酸亜鉛の遺伝毒性についてはin vitro試験が行われており、ネズミチフス菌を用いる復帰変異試験では陰性であったが、マウスリンフォーマ(TK)試験及びチャイニーズ・ハムスター培養細胞(CHO)を用いる染色体異常試験では陽性であった。ヒト培養リンパ球の染色体異常試験では陽性と陰性の両方の結果が得られた。一方、ラット肝初代培養細胞を用いる不定期DNA合成(UDS)試験は陰性であった。

酢酸亜鉛についてはin vivo試験成績が見出されなかったので、硫酸亜鉛及び塩化亜鉛の成績を参照した。硫酸亜鉛はマウスコメットアッセイでは陽性であったが、ラット骨髄染色体異常試験の経口単回投与及び経口5日連続投与ではいずれも陰性で、また、マウス小核試験の腹腔内投与及びラット優性致死試験においても陰性であった。一方、塩化亜鉛のラット骨髄染色体異常試験では陽性、マウス骨髄染色体異常試験では陽性と陰性、マウス優性致死試験では陰性の結果が得られた。

## 2.6.6.5 がん原性試験

以下の試験成績は、試験方法に不備はあるが(投与期間が短い、投与量及び動物数が少ない等)、長期間投与した数少ない知見である。亜鉛の腫瘍発生に関しては、局所投与等の特殊な方法で曝露した報告はあるが、長期間、経口投与した例としては貴重な試験成績であることから採択した。

(1) 硫酸亜鉛のマウス 1 年投与試験

＜添付資料 4.2.3.4.2-1 参＞

Chester Beatty系マウス(雌雄)を用いた硫酸亜鉛(165、825 mg Zn/kg)の1年間経口投与(飲水)による試験成績を表 2.6.6-17に示した。

病理組織学的検査では、165、825 mg Zn/kgとも、肝細胞癌、悪性リンパ腫、肺腺腫及び前胃粘膜上皮の過形成の発生率には対照群との差異は観察されなかった。

表 2.6.6-17 硫酸亜鉛のマウス 1 年間経口投与試験成績

| 動物種、系統、週齢、性 | Chester Beatty 系マウス、新生児、雌雄 | | |
|---|---|---|---|
| 投与方法 | 硫酸亜鉛の所定量を蒸留水に溶解して自由に摂取させた。哺乳中は母獣に摂取させた。対照群には飲料水を同様に与えた。 | | |
| 投与量(mg Zn/kg) | 0 (対照) | 165 | 825 |
| 有効屠殺数(45～53 週) | 24 | 28 | 22 |
| 肝細胞癌 | 3 | 3 | 3 |
| 悪性リンパ腫 | 3 | 4 | 2 |
| 肺腺腫 | 10 | 9 | 5 |
| 前胃粘膜上皮の過形成 | / | 対照と差なし | 対照と差なし |
| がん原性が認められない量 | 825 mg Zn/kg | | |

注) 数値は匹数

(2) 硫酸亜鉛のラット 21 ヵ月反復投与毒性試験

＜添付資料 4.2.3.4.2-2 参＞

Osborn Mendel 系ラット(雌雄)を用いた硫酸亜鉛(2.3、11.3、22.7 mg Zn/kg)の 21 ヵ月経口投与(混餌)試験の成績概要を表 2.6.6-18 に示した。

雌雄とも一般状態に異常はみられなかったが、亜鉛投与群で多染性あるいは高血色素性小赤血球症及び骨髄において M/E 比の低下(骨髄球減少・赤芽球増加)がみられたが、RBC、WBC、Hb、白血球百分率には異常はみられなかった。また、11.3、22.7 mg Zn/kg 群で腎臓の腫大及び腎表面の粗造化がみられ、病理組織検査で加齢性腎炎の程度が増強した。

表 2.6.6-18 硫酸亜鉛のラット 21 ヵ月反復投与毒性試験成績

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| 動物種、系統、週齢、性 | | Osborn Mendel 系ラット、離乳時、雌雄 | | | |
| 投与方法 | | 硫酸亜鉛の所定量を飼料に添加し、自由に摂取させた。対照群には無添加の飼料を同様に摂取させた。 | | | |
| 被験物質 | | 対照 | 硫酸亜鉛 | | |
| 投与量（mg Zn/kg） | | 0 | 2.3 | 11.3 | 22.7 |
| 投与期間 | | 21 ヵ月 | | | |
| 動物数 | 雄 | 4 | 4 | 4 | 4 |
| | 雌 | 4 | 4 | 4 | 4 |
| 一般状態（死亡） | | — | — | — | — |
| 体重、摂餌量 | | — | — | — | — |
| 血液塗末検査 | | — | 多染性あるいは高血色素性小赤血球症 | | |
| RBC | | — | — | — | — |
| WBC | | — | — | — | — |
| Hb | | — | — | — | — |
| 白血球百分比 | | — | — | — | — |
| 骨髄検査（M/E 比） | | 2.14 | 1.35 | 1.16 | 1.17 |
| 剖検 | | — | — | 腎臓の腫大及び腎表面の粗造化 | |
| 病理組織検査<br>0、13.6 mg Zn/kg：全臓器<br>1.4、6.8 mg Zn/kg：肝臓、腎臓、精巣のみ | | 加齢性腎炎(+) | | 加齢性腎炎(++～+++) | |
| がん原性が認められない量 | | 22.7 mg Zn/kg | | | |

—：異常なし、+：軽度異常、++：中程度異常、+++：重度異常

## 2.6.6.6 生殖発生毒性試験

(1) 塩化亜鉛のラットの世代試験

＜添付資料 4.2.3.5.1-1 参＞

SD 系ラット(雌雄)を用いた塩化亜鉛による世代試験の成績概要を表 2.6.6-19 に示した。投与は雄で交配前 77 日から交配 21 日間、雌で交配前 77 日から交配期間、妊娠期間及び授乳期間に渡り 3.6、7.2、14.4 mg Zn/kg の用量を投与した。

$F_0$ の雄の体重増加量が亜鉛投与群すべてで低下した。また、雌では 7.2、14.4 mg Zn/kg 群で産後の体重が低下した。病理組織学的検査では 7.2、14.4 mg Zn/kg 群の雌雄の少数例に胸腺萎縮、脾臓のリンパ組織の抑制、ヘモジデリン沈着及び前立腺腺房萎縮が認められたがいずれも軽度であった。

妊娠率の低下傾向が亜鉛投与群すべてにみられ、7.2、14.4 mg Zn/kg 群で 0 日生存児数が低下したが、授乳期間中の生存率には差はなかった。新生児の体重増加は生後 21 日の体重値が 7.2、14.4 mg Zn/kg 群で低下した。離乳率及び性比には影響がなかった。従って、毒性変化が認められない投与量は、親動物の一般毒性及び生殖能について 3.6 mg Zn/kg 未満、$F_1$ 児について 3.6 mg Zn/kg と推定される。

表 2.6.6-19 塩化亜鉛のラット世代試験成績

| 動物種、系統、週齢、性 | SD 系ラット、6～7 週齢、雌雄 | | | |
|---|---|---|---|---|
| 投与方法 | 所定量の塩化亜鉛を精製水に溶解し胃ゾンデを用いて毎日強制経口投与した。雄には交配前の 77 日及び交配期間中の 21 日間、雌には交配前の 77 日、交配期間中の 21 日、妊娠中の 21 日及び授乳中の 21 日間、それぞれ毎日 1 回投与した。 | | | |
| 投与量 (mg Zn/kg) | 0(対照) | 3.6 | 7.2 | 14.4 |
| 【$F_0$雄】 | | | | |
| 動物数 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| 生存率 | 10/10 | 9/10 | 7/10 | 9/10 |
| 体重増加量(g) | ／ | ↓ | ↓ | ↓ |
| 摂餌量(g) | ／ | — | — | — |
| 飼料効率(%) | ／ | — | — | — |
| 一般状態 | | | | |
| 攻撃/過敏 | — | + | + | + |
| 耳介後部の脱毛 | — | + | + | + |
| 血液学的検査 | ／ | Ht↓の傾向 (a) | | |
| 血漿生化学的検査 | ／ | — | Amyl↑、ALP↑、Glu↑の傾向 (a) | |
| 臓器重量 | ／ | — | — | 前立腺↓、精嚢↓ |
| 剖検 | — | — | — | 前立腺及び精嚢の縮小 |
| 病理組織学的検査 | | | | |
| 胃炎 | + | + | + | + |
| 脾臓リンパ濾胞抑制 | — | — | + | + |
| 脾臓ヘモジデリン沈着 | — | — | + | + |
| 胸腺萎縮 | — | + | + | + |
| 前立腺腺房萎縮 | — | — | + | + |
| 前立腺炎 | — | — | — | + |
| 【$F_0$雌】 | | | | |
| 動物数 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| 生存率 | 10/10 | 8/10 | 7/10 | 9/10 |
| 産後体重(g) | ／ | — | ↓ | ↓ |
| 摂餌量(g) | ／ | — | — | — |
| 飼料効率(%) | ／ | — | — | — |
| 一般状態 | | | | |
| 攻撃/過敏 | — | + | + | + |
| 性器悪露 | — | + | — | + |
| 血液学的検査 | | Ht↓の傾向(a) | | |
| 血漿生化学的検査 | ／ | ALP↑、Glu↑の傾向 (a) | | |
| | | — | Amyl↑の傾向 (a) | |
| 剖検： 胃炎 | + | + | + | + |
| 病理組織学的検査 | | | | |
| 胃炎 | + | + | + | + |
| 脾臓リンパ濾胞抑制 | — | — | + | + |
| 脾臓ヘモジデリン沈着 | + | — | + | + |
| 胸腺萎縮 | — | + | + | + |
| 生殖能 | | | | |
| 妊娠率(%) | ／ | ↓傾向(a) | ↓傾向(a) | ↓傾向(a) |
| 産児数/腹 | ／ | ↓傾向(a) | ↓傾向(a) | ↓傾向(a) |
| 0 日生児数/腹 | ／ | — | ↓ | ↓ |

表 2.6.6-19 塩化亜鉛のラット世代試験成績（続き）

| 投与量（mg Zn/kg） | | 0(対照) | 3.6 | 7.2 | 14.4 |
|---|---|---|---|---|---|
| 【$F_1$雌雄】<br>外表観察 | | — | — | — | — |
| 生存率（0、4、21 日） | | ／ | — | — | — |
| 体重 | 生後 0、4、7、14 日 | ／ | — | — | — |
| | 生後 21 日 | ／ | — | 増加抑制 | 増加抑制 |
| 無毒性量(mg Zn/kg) | | 親動物の一般毒性及び生殖能：3.6 未満、$F_1$児：3.6 | | | |

／：有意差検定の対照、—：特記すべき所見なし、＋：当該所見あり、(a):有意差なし　↑：対照群に比し高値、↓：対照群に比し低値

(2) 硫酸亜鉛のマウスの器官形成期投与試験

＜添付資料 4.2.3.5.2-1 参＞

(本試験は母動物の毒性用量が含まれていないが、胎児観察が詳細になされており採択した)

CD-1 マウスを用いた硫酸亜鉛(0.07、0.3、1.5、6.8 mg Zn/kg)の器官形成期(妊娠 6～15 日)投与試験の成績概要を表 2.6.6-20 に示した。

いずれの亜鉛投与群も着床数、生存胎児数、胎児体重、性比などに異常はなく、催奇形性などは認められなかった。親動物及び胎児に対して毒性所見が認められない投与量は 6.8 mg Zn/kg であった。

表 2.6.6-20 硫酸亜鉛のマウス器官形成期投与試験成績

| 動物種、系統、週齢、性 | CD-1 マウス、成獣、雌 | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| 投与方法 | 所定量の硫酸亜鉛を 10 mL/kg となるよう水に溶解して、妊娠 6～15 日の間、毎日胃ゾンデを用いて強制経口投与した。 | | | | |
| 投与量(mg Zn/kg) | 0(対照) | 0.07 | 0.3 | 1.5 | 6.8 |
| 【母動物】母動物数 | 21 | 23 | 21 | 22 | 22 |
| 妊娠末期生存率(%) | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| 体重(0、6、11、15、17 日) | ／ | — | — | — | — |
| 平均黄体数(/母体) | ／ | — | — | — | — |
| 平均着床数(/母体) | ／ | — | — | — | — |
| 吸収胚数 | ／ | — | — | — | — |
| 【末期胎児】生存児数 | ／ | — | — | — | — |
| 死産児数 | ／ | — | — | — | — |
| 性比(雄／雌) | ／ | — | — | — | — |
| 体重 | ／ | — | — | — | — |
| 外表異常又は変異 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 軟部組織異常又は変異 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 骨格異常又は変異 | 各群の化骨の進行度に差はなかった。数種の変異及び異常は認められたが、その型及び頻度に関し、対照群と亜鉛投与群の間に特記すべき相違はなかった。 | | | | |
| 無毒性量(mg Zn/kg) | 母動物：一般毒性＝6.8、生殖毒性＝6.8、胎児：6.8 | | | | |

／：有意差検定の対照　　—：特記すべき所見なし

(3) ラットの器官形成期投与試験

＜添付資料 4.2.3.5.2-1 参＞

(本試験は母動物の毒性用量が含まれていないが、胎児観察が詳細になされており採択した)

Wistar 系ラットを用いた硫酸亜鉛(0.1、0.5、2.1、9.7 mg Zn/kg)の器官形成期（妊娠 6～15 日）投与試験の成績概要を表 2.6.6-21 に示した。

いずれの亜鉛投与群も着床数、生存胎児数、胎児体重、性比などに異常はなく、催奇形性などは認められなかった。親動物及び胎児に対して毒性所見が認められない投与量は 42.5 mg/kg であった。

表 2.6.6-21 硫酸亜鉛のラット器官形成期投与試験成績

| 動物種、系統、週齢、性 | Wistar 系ラット、成獣、雌 | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| 投与方法 | 所定量の硫酸亜鉛を 1 mL/kg となるよう水に溶解して、妊娠 6～15 日の間、毎日胃ゾンデを用いて強制経口投与した。 | | | | |
| 投与量 (mg Zn/kg) | 0 (対照) | 0.1 | 0.5 | 2.1 | 9.7 |
| 【母動物】母動物数 | 20 | 22 | 22 | 23 | 25 |
| 妊娠末期生存率(%) | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| 体重 | データは示されていない。 | | | | |
| 平均黄体数(/母体) | ／ | — | — | — | — |
| 平均着床数(/母体) | ／ | — | — | — | — |
| 吸収胚数 | ／ | — | — | — | — |
| 【末期胎児】生存児数 | ／ | — | — | — | — |
| 死産児数 | ／ | — | — | — | — |
| 性比(雄／雌) | ／ | — | — | — | — |
| 体重 | ／ | — | — | — | — |
| 外表異常又は変異 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 軟部組織異常又は変異 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 骨格異常又は変異 | 各群の化骨の進行度に差はなかった。変異及び異常が少数に認められたが、その型及び頻度に関し、対照群と亜鉛投与群の間に特記すべき相違はなかった。 | | | | |
| 無毒性量 (mg Zn/kg) | 母動物：一般毒性＝9.7、生殖毒性＝9.7、胎児：9.7 | | | | |

／：有意差検定の対照　　—：特記すべき所見なし

(4) 硫酸亜鉛のウサギの器官形成期投与試験

＜添付資料 4.2.3.5.2-2 参＞

(本試験は母動物の毒性用量が含まれていないが、胎児観察が詳細になされており採択した)

Dutch-belted 系ウサギを用いて硫酸亜鉛(0.14、0.6、3.0、13.6 mg Zn/kg)の器官形成期(妊娠 6～18 日)投与試験の成績概要を表 2.6.6-22 に示した。

いずれの亜鉛投与群も着床数、生存胎児数、胎児体重、性比などに異常はなく、催奇形性などは認められなかった。親動物及び胎児に対して毒性所見が認められない投与量は 13.6 mg Zn/kg であった。

表 2.6.6-22 硫酸亜鉛のウサギ器官形成期投与試験成績

| 動物種、系統、週齢、性 | Dutch-belted 系ウサギ、成獣、雌 | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| 投与方法 | 所定量の硫酸亜鉛を 1mL/kg となるよう溶解して、妊娠 6～18 日の間、毎日胃ゾンデを用いて強制経口投与した。 | | | | |
| 投与量(mg Zn/kg) | 0 (対照) | 0.14 | 0.6 | 3.0 | 13.6 |
| 【母動物】<br>妊娠動物数<br>死亡又は流産動物数<br>組入動物数(母動物数) | <br>11<br>0<br>11 | <br>11<br>1<br>10 | <br>14<br>2<br>12 | <br>10<br>0<br>10 | <br>12<br>1<br>11 |
| 体重(0、6、12、18、29 日) | ／ | — | — | — | — |
| 平均黄体数(/母体) | ／ | — | — | — | — |
| 平均着床数(/母体) | ／ | — | — | — | — |
| 吸収胚数 | ／ | — | — | — | — |
| 【末期胎児】<br>生存児数 | ／ | — | — | — | — |
| 死産児数 | ／ | — | — | — | — |
| 性比(雄／雌) | ／ | — | — | — | — |
| 体重 | ／ | — | — | — | — |
| 外表異常又は変異 | 軟部組織と併合 | | | | |
| 軟部組織異常又は変異 | 5 例の異常を認めたが、被験物質投与との相関性はなかった。 | | | | |
| 骨格異常又は変異 | 各群の化骨の進行度に差はなかった。変異及び異常が少数に認められたが、その型及び頻度に関し、対照群と亜鉛投与群の間に特記すべき相違はなかった。 | | | | |
| 無毒性量 (mg Zn/kg) | 母動物：一般毒性＝13.6、生殖毒性＝13.6、胎児：13.6 | | | | |

／：有意差検定の対照　　—：特記すべき所見なし

## 2.6.6.7 局所刺激性試験

実施していない。

## 2.6.6.8 その他の毒性試験

(1) 硫酸亜鉛のマウス(雌雄)の膵臓に対する影響

＜添付資料 4.2.3.7.7-1 参＞

C3H 系マウスに 0.05%の濃度となるよう硫酸亜鉛を蒸留水に溶解し、飲料水として 1 年間自由に摂取させ(18.8 mg Zn/kg)、内分泌器官に対する影響を検討した。試験成績の概要を表 2.6.6-23 に示した。

亜鉛の血中濃度は投与開始 3 日後に投与前の約 2 倍に達し、その後漸減したが 1 ヵ月後でも約 1.5 倍の濃度を保っていた。肝臓、脾臓、皮膚の亜鉛濃度は対照群と差はなかった(投与 5 ヵ月)。病理組織学的検査では、ラ島の肥大、特にβ細胞の肥大がみられたがα細胞に異常はなく(投与 9～12 ヵ月)、血液中 Glu 及び Ins の値にも異常はなかった(投与 6 ヵ月)。

表 2.6.6-23 硫酸亜鉛のマウスの膵臓に対する影響

| 動物種、系統、週齢、性 | C3H マウス、6 週～2 ヵ月齢、雌雄 | |
|---|---|---|
| 投与方法 | 0.05%の濃度となるよう硫酸亜鉛を蒸留水に溶解し、飲料水として 1 年間自由に摂取させ(18.8 mg Zn/kg)。対照群には硫酸亜鉛を添加しない蒸留水を同様に摂取させた。 | |
| 投与群 | 0 (対照) | 硫酸亜鉛 18.8 mg Zn/kg |
| 血漿生化学的検査(投与 6 ヵ月)<br>Ins<br>Glu | <br>／<br>／ | <br>—<br>— |
| 病理組織学的検査<br>光顕所見 | — | 膵臓：ラ島の肥大、ラ島細胞内空胞、細胞は拡張血管で分離(投与 9～12 ヵ月) |
| 電顕所見 | — | 膵臓：β細胞肥大、ミトコンドリアの肥大、α細胞に異常なし |
| 血漿中亜鉛濃度 (0～34 日)<br>(μg/mL) | 1.02 | 1.45～2.1 (3 日後 peak 値) |
| 臓器内亜鉛濃度 (投与 5 ヵ月)<br>肝臓<br>脾臓<br>皮膚 | <br>雄／　雌／<br>雄／　雌／<br>雄／　雌／ | <br>雄—　雌—<br>雄—　雌—<br>雄—　雌— |

／：有意差検定の対照　　—：特記すべき所見なし

(2) 硫酸亜鉛のマウスの膵臓に対する影響

＜添付資料 4.2.3.7.7-2 参＞

ddYマウス(雄)に硫酸亜鉛(50、300 mg Zn/kg)を1回皮下投与し、24時間後に屠殺して膵臓に対する影響を検討した。試験成績の概要を表 2.6.6-24に示した。

この結果、300 mg Zn/kg で膵臓重量が有意に増加し、血清Amy1活性は50及び300 mg Zn/kgでそれぞれ対照群の8.3及び15倍に増加した。病理組織学的検査では50 mg Zn/kgで1/5例に腺房細胞の変性・壊死、間質の炎症性細胞浸潤及び軽度水腫がみられた。300 mg Zn/kgでは3/5例に顕著な腺房細胞の変性・壊死に加え、間質の炎症性細胞浸潤及び水腫がみられた。

表 2.6.6-24 硫酸亜鉛のマウスの膵臓に対する影響

| 動物種、系統、週齢、性 | ddY 系マウス、33-39g、雄 | | |
|---|---|---|---|
| 投与方法 | 硫酸亜鉛の所定量を 10 mL/kg の蒸留水に溶解し、単回皮下投与した。 | | |
| 被験物質 | 0（対照） | 硫酸亜鉛(mg Zn/kg) | |
| | | 50 | 300 |
| 動物数 | 7 | 7 | 7 |
| 血清生化学的検査(Amyl) | ／ | ↑* | ↑** |
| 臓器重量(膵臓) | ／ | — | ↑* |
| 病理組織学的検査(膵臓)[1)] | — | 1 例に中等度の腺房細胞の変性・壊死及び間質の細胞浸潤が認められ、軽度水腫が認められた。他の 4 例では軽微な腺房細胞の変性がみられた。 | 3 例に中等度～重度の腺房細胞の変性・壊死が認められ、間質の炎症性細胞浸潤と水腫を伴っていた。他の 2 例にも腺房細胞の変性・壊死が認められた。 |
| 主な標的臓器 | 膵臓 | | |
| 無毒性量 | 50 mg Zn/kg 未満 | | |

／：有意差検定の対照　　—：特記すべき所見なし　　1)：各群 5 例を検査
*：p<0.05、 **：p<0.01 (Student's t test)

(3) 硫酸亜鉛のマウスの膵臓に対する影響

＜添付資料 4.2.3.7.7-3 参＞

ddY 系マウス(雄)に硫酸亜鉛(0.1、0.5、1、5、12.5、25、50 mg Zn/kg)を 1 回皮下投与し、膵臓に対する影響を検討した。試験成績の概要を表 2.6.6-25 に示した。

投与 24 時間後において、1 mg Zn/kg 以上で膵臓の亜鉛及び MT 含量が増加し、25 mg Zn/kg 以上で血漿αAmyl が上昇した。50 mg Zn/kg では膵臓のαAmyl が低下し、腺房細胞のチモーゲン顆粒減少、空胞化、線維化などがみられたが、ラ島に異常はなかった。

表 2.6.6-25 硫酸亜鉛のマウスの膵臓に対する影響

| 動物種、系統<br>週齢、性 | ddY 系マウス、7 週齢、雄 | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 投与方法 | 硫酸亜鉛の所定量を生理食塩液に溶解し、単回皮下投与した。<br>対照群には生理食塩液を同様に投与した。 | | | | | | | |
| 投与量(mg Zn/kg) | 0<br>(対照) | 0.1 | 0.5 | 1 | 5 | 12.5 | 25 | 50 |
| 動物数 | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 |
| 膵臓亜鉛含量 | ／ | — | — | — | ↑↑ | ↑ | ↑↑ | — |
| 膵臓 MT 含量 | ／ | — | — | ↑ | ↑↑ | ↑↑ | ↑↑ | ↑ |
| 血漿αAmyl | ／ | — | — | — | — | — | ↑ | ↑ |
| 膵臓αAmyl | ／ | — | — | — | — | — | — | ↓ |
| 血漿 Glu | ／ | — | — | — | — | — | — | ↓↓ |
| 病理組織学的所見 | 記載なし | | | | | | | 腺房細胞のチモーゲン顆粒減少、空胞化、線維化、壊死。<br>ラ島は異常なし |

／：有意差検定の対照　　—：異常なし
↑(↓)、↑↑(↓↓)：投与 24 時間後において p<0.05、p<0.01 で有意差あり

(4) 酢酸亜鉛のラットの膵臓に対する影響

＜添付資料 4.2.3.7.7-4 参＞

SD 系ラット（雄）に亜鉛投与 2 週間前より銅添加飼料（100 ppm）を摂取させ、酢酸亜鉛(5.7、28.5、57.1 mg Zn/kg)を 2 ヵ月（2 回/日）強制経口投与し、膵臓の炎症性変化を検討した。試験成績の概要を表 2.6.6-26 に示した。

膵臓の炎症性変化は、対照群の銅添加と比較して 5.7 mg Zn/kg では減少し、28.5 及び 57.1 mg Zn/kg では差がなかった。

表 2.6.6-26 酢酸亜鉛のラットの膵臓に対する影響

| 動物種、系統、週齢、性 | SD 系ラット、雄 | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| 投与方法 | 投与 2 週間前より試験終了時まで銅添加飼料を給与。<br>酢酸亜鉛を 1 日 2 回、2 ヵ月間、強制経口投与。 | | | | |
| 飼料中銅添加量(ppm) | 0（対照） | 100 | | | |
| 酢酸亜鉛投与量(mg Zn/kg) | 0 | | 5.7 | 28.5 | 57.1 |
| 動物数 | 6 | 6 | 9 | 9 | 10 |
| 死亡動物数 | 1* | — | 2* | — | — |
| 膵臓の炎症性変化 1) | 1/5 | 4/6 | 0/7 | 4/9 | 4/10 |

—：異常なし　＊：マイコプラズマ感染　1）膵管あるいは血管周囲にリンパ球及びマクロファージの浸潤を伴う微小な炎症病巣

(5) 酸化亜鉛のネコの膵臓に対する影響

＜添付資料 4.2.3.7.7-5 参＞

ネコ(雄)に酸化亜鉛を 3～4 ヵ月経口（混餌）投与し(62～75 mg Zn/kg)、膵臓及び肝臓の亜鉛含量及び膵臓の病理組織学的変化を検討した。試験成績の概要を表 2.6.6-27 に示した。

亜鉛投与によって肝臓重量に変化はなかったが、膵臓重量は減少した。肝臓及び膵臓の亜鉛含量は亜鉛投与群でいずれも増加した。血糖値及び膵臓の Ins 含量には差がなかった。病理組織学的所見では腺房細胞の変性、細胞浸潤、偽小葉状結節性線維化が観察されたが、ラ島組織には異常なかった。

表 2.6.6-27 酸化亜鉛のネコの膵臓に対する影響

| 動物種、系統、週齢、性 | ネコ、成獣、雄 | |
|---|---|---|
| 投与方法 | 酸化亜鉛の所定量を、飼料（5 日間はウシ心臓缶詰 100 g/day、他の 2 日間はサケ缶詰 100 g/day）に添加して給与した。対照群には酸化亜鉛無添加の飼料を同様に与えた。 | |
| 投与量(g/cat/day) | 0（対照） | 0.5(当初)→0.25(1 ヵ月)→0.4(数日)→0.3(2～3 ヵ月)、(Zn 量として 62～75 mg Zn/kg) |
| 動物数 | 15 | 15 |
| 死亡動物数 | 0 | 2 |
| 体重推移 | ↑ | ↓ |
| 臓器重量: 肝臓 | ／ | — |
| 膵臓 | ／ | ↓ |
| 血液中 Glu | ／ | — |
| 膵臓中 Ins: U/whole organ | ／ | — |
| U/g wet weight | ／ | ↑ |
| 膵臓の病理組織学的所見 | — | 腺房細胞の変性、細胞浸潤、偽小葉状結節性線維化。ラ島に異常なし |
| 膵臓中亜鉛含量: mg/whole organ | 0.53 | 2.07 |
| mg/g wet weight | 0.072 | 0.48 |
| 肝臓中亜鉛含量: mg/whole organ | 4.49 | 70.72 |
| mg/g wet weight | 0.058 | 0.90 |

／：比較対照、—：特記すべき所見なし、亜鉛含量の数値は平均値　　↑：対照群に比し高値、↓：対照群に比し低値

(6) 不純物

本剤の原薬及び製剤に構造決定が必要な閾値を超える不純物及び類縁物質は認められなかったことから、安全性評価は実施していない。

## 2.6.6.9 考察及び結論

酢酸亜鉛の単回投与毒性試験における経口投与での死亡発現は、大部分が投与24時間以内で、$LD_{50}$値はマウス(86 mg Zn/kg)がラット(237 mg Zn/kg)より低値であった。腹腔内投与の$LD_{50}$値はマウス(32 mg Zn/kg)とラット(48 mg Zn/kg)に大きな差異はなかったが、経口投与に比べ両動物とも低値で、投与経路による差が認められた。剖検所見ではマウスの腹腔内投与で、腹腔血管の拡張、心臓の拡張期停止が認められ、被験物質による刺激性が疑われた。

硫酸亜鉛の経口投与での$LD_{50}$値は、マウス(337 mg Zn/kg)とラット(209 mg Zn/kg)で大差はなかった。なお、ラットの経口投与では胃、小腸粘膜の潮紅が認められた。

反復投与毒性試験の結果をまとめて表 2.6.6-28に示した。酢酸亜鉛及び硫酸亜鉛を反復経口投与したマウス、ラット及びイヌの試験において、貧血が共通的に観察された他、消化管、膵臓、腎臓が主な標的臓器と考えられた。

表 2.6.6-28 反復経口投与毒性試験における毒性所見のまとめ

| 動物種 | | ラット 3ヵ月 | マウス 13週 | ラット 13週 | イヌ 70週 |
|---|---|---|---|---|---|
| 被験物質 | | 酢酸亜鉛 | 硫酸亜鉛 | 硫酸亜鉛 | 硫酸亜鉛 |
| 投与量(mg Zn/kg) | | 48、95、190 | 10、107、1115 | 5.4、54、569 | 45～11に漸減 |
| 投与方法 | | 経口(飲水) | 経口(混餌) | 経口(混餌) | 経口(カプセル) |
| 死亡（用量） | | 190 | 1115 | なし | 45～11 |
| 貧血 | | 190* ：Hb、Ht 減少傾向 | 1115:RBC、Hb、Ht減少、脾臓の髄外造血 | 569：Hb、Ht 減少 | 11：Hb減少傾向、骨髄細胞の過形成 |
| 病理検査 | 消化管 | 異常なし | 1115：前胃の潰瘍、小腸粘膜カタール | 異常なし | 45～23：嘔吐 |
| | 膵臓 | — | 1115：膵腺房細胞減少・壊死・化生 | 569:膵腺房細胞減少・壊死・化生、腺房間質の線維化 | 異常なし |
| | 腎臓 | 190:糸球体ボーマン嚢上皮細胞の扁平化、近位尿細管上皮の核濃縮 | 異常なし | 異常なし | 異常なし |
| 摂餌・飲水の減少の影響 | | 190：UN、Crea 増加 | 1115:TP、Glu、Chol 減少、ALP、UN 増加 | 569:Ca、TP、Chol 減少 | — |
| 無毒性量**(mg Zn/kg) | | 95 | 107 | 54 | 11 未満 |

*：毒性所見が認められた投与量　—：検査未実施　**：毒性所見が認められない投与量

亜鉛の標的臓器に対する作用は以下のように考えられる。

(1) 貧血

マウス及びラットでは致死用量付近でRBC、Hb及びHtの減少が、イヌではHbの減少傾向がみられた。亜鉛の生体内鉄含量への影響に関しては、ラットの亜鉛投与で血中鉄濃度の低下、赤血球寿命の短縮及び鉄の糞中排泄の増加が報告されている[5,6,7,8,9]。亜鉛投与により鉄も銅と同様にメタロチオネイン(MT)による吸収阻害を受け、過量投与では貧血を惹起するものと考えられる。

(2) 胃腸管

ラットの経口単回投与で、胃及び小腸粘膜の潮紅が、マウス(13週投与)では、前胃の潰瘍、小腸粘膜カタールが、イヌでは嘔吐が観察された。胃腸管に対する障害は動物種共通の作用で、薬剤の刺激性によるものと考えられる。特にイヌで嘔吐作用が強く、反復投与期間中に投与量を減量した。

(3) 膵臓

マウス(13週投与)及びラット(13週投与)の病理組織学的所見では、膵臓の腺房細胞に対する障害が観察された。腺房細胞の減少、壊死及び化生、腺房間質の線維化が主な変化で、ラ島組織には異常がなかった。その他、マウスの単回皮下投与、ネコ3～4ヵ月経口(混餌)投与でも同様の所見が認められた。また、マウスに硫酸亜鉛を1年間飲水投与した場合では、ラ島の肥大、ラ島細胞の空胞化がみられた。マウス皮下投与の用量段階ごとの所見では、5 mg Zn/kg以上で膵臓の亜鉛濃度及びMTの増加、25 mg Zn/kg以上で血漿Amy1の増加、さらに50 mg Zn/kgで上記の腺房細胞の変化が観察された。血漿Amy1の増加は腺房細胞の変化より低用量で

検出されることから、本障害の予知的指標とも考えられる。ラットに銅添加飼料を摂取させながら酢酸亜鉛を投与した場合、亜鉛非投与群とほぼ同様の膵臓所見が見られたことから、亜鉛投与による膵臓への影響は、銅の欠乏が要因の一部と推察された。他に、銅欠乏食を与えてラットの血漿及び肝臓の銅含量を低下させた場合、腺房細胞の減少、腺構造の破壊、チモーゲン顆粒の消失、細胞質の空胞化、間質の線維化など、亜鉛過剰投与と同様の変化が観察されている[10]。

また、亜鉛投与による臓器分布に関しては、肝臓、腎臓とともに膵臓にも高い分布率がみられていることから（CTD 2.6.4.4.1全身ARG及び組織中放射能濃度）、亜鉛の臓器刺激による腺房細胞への障害も否定できない。膵臓障害の発現用量は、いずれの報告においても致死量に近い高用量であった。マウス、ラットの13週反復投与試験で、膵臓障害の認められない投与量はマウスで100 mg Zn/kg、ラットで50 mg Zn/kg付近であり、臨床投与量との間で安全域はあると考えられる。

(4) 腎臓

ラット(3ヵ月投与のみ)の病理組織学的所見で、ボーマン嚢の上皮細胞の扁平化、近位尿細管の上皮細胞の剥離及び核濃縮が認められたが、間質の反応(細胞浸潤及び線維化)がみられないことから慢性的な変化とは考え難い。むしろ飲水投与による嗜好性の悪化に起因する摂水の不足により腎外性の乏尿から、UN及びCreaの上昇及び腎臓の病理組織学的変化を招来した可能性が考えられる。

同様に、マウス(13週投与)及びラット(3ヵ月投与)でUNの増加等の腎障害を疑わせる所見が観察された。マウスでは、混餌投与による嗜好性の悪化に起因する摂餌の減少により、生体が慢性的な異化亢進に傾き、UNの上昇(付随的変化としてTP、Glu及びCholの減少)を招いた可能性が考えられる。

腎臓の病理組織学的変化については、亜鉛による腎臓への直接作用の可能性も否定できないが、マウス及びラットの13週投与では腎臓の病理組織学的所見がないことから、その可能性は低いものと考えられる。

酢酸亜鉛の復帰変異試験及び不定期DNA合成試験の結果は陰性であったが、マウスリンフォーマ試験及びCHO細胞染色体異常試験は陽性であった。ヒト培養リンパ球の染色体異常試験では陽性と陰性の両方の結果が得られた。in vivo試験では、硫酸亜鉛のラット骨髄染色体異常試験(経口単回及び5日反復投与)、マウス小核試験(腹腔内投与)、ラット優性致死試験及び塩化亜鉛のマウス優性致死試験は陰性であった。しかし、硫酸亜鉛のマウスコメットアッセイで陽性、塩化亜鉛のマウス骨髄染色体異常試験では陽性、陰性と両方の結果が得られた。

化学物質の遺伝毒性発現機序については不明な部分が多く、特に金属類についての研究成果はほとんど得られていない状況にある。一般的には、DNA損傷が誘発され、その損傷を修復する過程において誤修復が生じることによるものと考えられている。金属類は通常、アルブミンあるいはその他のタンパク質、アミノ酸、血清等の生体成分と結合することが知られていることから、DNAとの結合の可能性もあり得るが、酢酸亜鉛の復帰変異試験で陰性の結果が得られていることから、DNAに直接作用する可能性は低いと考えられる。このことは、不定期DNA合成試験での陰性結果によっても支持される。染色体異常に関しては、DNA直接作用の他に、DNA合成に関する酵素(例えばトポイソメラーゼ等)の阻害作用によっても誘発されることが知られており、DNA以外の生体成分への影響により染色体異常が誘発される可能性も推測できる。

染色体異常試験に関しては，陽性及び陰性の結果が得られ、曝露量に関して適切なin vivo試験

の成績を引用することが困難であった。CHO細胞を用いた染色体異常試験（添付資料番号：4.2.3.3.1-1）での細胞あたりの異常数は、低濃度(7.45 μg Zn/mL)で0.0、中濃度(10.13 μg Zn/mL)で0.42、高濃度(13.41 μg Zn/mL)で1.74(100細胞中に174個の異常)と、用量関係が明瞭で、7.45μg Zn/mL以下では染色体異常の誘発がないことが示された。この濃度を基準にすると、ヒト臨床最大投与量(150 mg Zn×1回/日：NPC-25-1試験)における内因性＋外因性の血中亜鉛濃度($C_{max}$)345.50 μg/dL (3.45 μg/mL) は1/2程度であり、安全域は確保されると考えられる。

マウスへの硫酸亜鉛の1年経口投与では、腫瘍発生の頻度に対照群と差はなく、ラットへの硫酸亜鉛の21ヵ月経口投与でも、加齢性腎炎の程度が増強した以外に特記すべき異常は報告されていない。また、マウス、ラットの13週投与でも、肝臓などへの増殖性変化は見られていない。
がん原性試験として十分評価に耐える試験成績は見出せなかったが、亜鉛の細胞増殖に関する知見としては他に以下の報告がある。

ニワトリ精巣内への塩化亜鉛の反復投与により精巣腫瘍[11]、トリ及びげっ歯類動物への硫酸亜鉛及び塩化亜鉛の精巣内投与により、精巣腫瘍が確認されている[12,13,14,15,16,17,18]。また、大量の亜鉛の存在が腫瘍の成長を促進させる可能性もある[19]。これらの現象は、亜鉛がDNA合成あるいは細胞増殖に必須であることに関係するとの説明もできる。

このように亜鉛は腫瘍の成長を維持する作用を持つが、ヒトにおいて、亜鉛の職業曝露が腫瘍発生を増加させたとの報告はない。亜鉛サプリメントの疫学的研究として、46,974人のアメリカ人男性を参加者とする14年間にわたる前立腺癌の調査があり[20]、100 mg Zn/日以上の使用者、あるいは10年以上の使用者では前立腺癌発症リスクを増加させると報告している。しかし、本研究の問題点として、亜鉛サプリメントへのカドミウム混入の可能性、統計処理法の不適切性、サンプルサイズが小さい等が指摘されており[21,22]、本件に関する結論は得られていない。

EHC221(WHO 2001)[23]においては、「過剰の亜鉛は高濃度で細胞毒性を示すが、ヒトにがん原性を有するという十分な証拠はない」としている。また、IARC発がん性リスク一覧に、亜鉛の記載はない。長期投与試験を含めて、がん原性の評価は不十分ではあるが、上述の知見を踏まえると亜鉛ががん原性を有する可能性は低いと考えられる。

ラットの世代試験では主に7.2 mg Zn/kg以上で$F_0$の雌雄に体重抑制、脾臓リンパ濾胞の抑制、ヘモジデリン沈着、胸腺萎縮が認められた。$F_1$新生児にも軽微な体重増加の抑制が認められたが、出生児の生後発達には異常はなかった。また、マウス、ラット及びウサギの器官形成期投与試験では6.8～13.6 mg Zn/kgの用量範囲において親動物、着床数、生存胎児数、胎児体重などに異常はなく、催奇形性も認められなかった。

しかし、これら器官形成期投与試験では、用量段階は設定されているが、高用量群で母動物に対する毒性徴候が観察されていないため、評価資料としては必ずしも十分でない。本剤の毒性用量での影響を推定するにあたり、キレート剤による作用を参考にした。ペニシラミン、塩酸トリエンチンにおいて、妊娠ラットの肝臓、血漿及び胎児中の銅含量を低下させる用量を投与した場合、催奇形性が認められている。また、ラットに銅補充食を与えながら塩酸トリエンチンを投与すると、奇形の発症が抑制されることから、その機序として銅欠乏の可能性が指摘されている[24,25,26]。ペニシラミン及び塩酸トリエンチンは、服用後血中遊離銅濃度を急速に低下させるのに対し、本剤の場合はその作用機序から銅濃度の低下は緩徐と考えられるため相対的に安全であると考えられるが、本剤の使用に際しては銅の欠乏に注意を払う必要がある。

亜鉛の非臨床試験成績は限定的であるため、ヒトにおける亜鉛過量投与時の有害影響についても調査した。酢酸亜鉛あるいは他の亜鉛塩を過量摂取した場合の影響として、以下の知見が亜鉛の有害影響として報告されている[23,27,28]。

(1) 胃腸管への直接作用による嘔気、嘔吐、胃痛等の他、膵臓への刺激と考えられる膵酵素(血清アミラーゼ・リパーゼ)の増加に関する事例。

(2) 腸管での銅及び鉄の吸収阻害によると考えられる鉄赤芽球性貧血、低色素性小赤血球性貧血、鉄結合蛋白の減少、白血球減少症及び銅含有酵素(スーパーオキシドジスムターゼ等)の活性低下に関する事例。

(3) 銅の欠乏症によると考えられるリンパ球反応(化学走性及び貪食能)の抑制等免疫能の低下、HDLコレステロールの減少等の血清脂質の変動に関する事例。その他、保健薬用量付近(20～100 mg/日)ではあるが、妊娠女性に摂取させた場合での、妊娠の維持及び胎児発生への有害作用はなかった。

亜鉛の毒性は、臓器、組織への刺激性に基づく作用の他、銅及び鉄の腸管からの吸収阻害によると考えられる銅及び鉄の欠乏に起因する変化が主たるものと考えられた。

結論

酢酸亜鉛を含む亜鉛塩類の非臨床試験成績については、比較的古い報告が多く、現状の評価レベルに照らすと十分な試験成績ではないが、毒性の多くは本剤の主薬効である金属元素と親和性の強いMTの誘導・生成による銅及び鉄の欠乏、及び本剤の臓器、組織への刺激性に基づく変化と推察された。

がん原性を含めた長期投与による毒性の評価は不十分ではあるが、生体内の亜鉛濃度の恒常性機能を考えると、吸収・排泄の恒常性に著しい影響を与えるような多量の摂取でない限り毒性は現れ難いと考えられる。また、ヒトに対する発がんのリスクは低いものと判断された。

毒性所見の認められない投与量は、動物及び試験種によって異なるが、およそ10～100 mg Zn/kg付近にあり、ヒトでの安全域は確保される。

## 2.6.6.10 図表

図表は本文中に掲載した。

## 2.6.6.11 参考文献


1) Andermann G, Dietz M. The bioavailability and pharmacokinetics of three zinc salts: zinc pantothenate, zinc sulfate and zinc orotate. Eur J Drug Metab Pharmacokinet 1982;7(3):233-9.
2) Galvez-Morros M, Garcia-Martinez O, Wright A.J.A, Southon S. Bioavailability in the rat of zinc and iron from the basic salts $Zn_5(OH)_8Cl_2H_2O$, $Fe(OH)SO_4$ and $Fe_4(OH)_{11}NO_32H_2O$. Food Chemistry. 1992;43:377-81.
3) Seal CJ, Heaton FW. Chemical factors affecting the intestinal absorption of zinc in vitro and in vivo. Br J Nutr. 1983;50(2):317-24.
4) Ozpinar H, Abas I, Bilal T, Demirel G. Investigation of excretion and absorption of different zinc salts in puppies. Lab Anim. 2001;35(3):282-7.
5) Cox DH, Harris DL. Effect of excess dietary zinc on iron and copper in the rat. J Nutr.1960;70:514-20.
6) Cox DH, Harris DL. Reduction of liver xanthine oxidase activity and iron storage proteins in rats fed excess zinc. J Nutr.1962;78:415-8.
7) Cox DH, Schlicker SA, Chu RC. Excess dietary zinc for the maternal rat, and zinc, iron, copper, calcium, and magnesium content and enzyme activity in maternal and fetal tissues. J Nutr.1969;98:459-66.
8) Magee AC, Matrone G. Studies on growth, copper metabolism and iron metabolism of rats fed high levels of zinc. J Nutr. 1960;72:233-42.
9) Settlemire CT, Matrone G. In vivo effect of zinc on iron turnover in rats and life span of the erythrocyte. J Nutr.1967;92:159-64.
10) Fell BF, King TP, Davies NT. Pancreatic atrophy in copper-deficient rats: histochemical and ultrastructural evidence of a selective effect on acinar cells. Histochem J 1982; 14:665-80.
11) Michalowsky I. Die experimentelle erzeugung einer teratoiden neubildung der hoden beim hahn. Zentralbl Allg Pathol. 1926;38:585-7.
12) Bagg HJ. Experimental production of teratoma testis in the fowl. Am J Cancer. 1936;26:69-84.
13) Carleton RL, Friedman NB, Bomze EJ. Experimental teratomas of the testis. Cancer. 1953;6 (3):464-73.
14) Falin LI. Experimental teratoma testis in the fowl. Am J Cancer. 1940;38:199-211.
15) Guthrie J. Observations on the zinc induced testicular teratomas of fowl. Br J Cancer. 1964;18:130-42.
16) Guthrie J. Specificity of the metallic ion in the experimental induction of teratomas in fowl. Br J Cancer. 1967;21:619-22.
17) Smith AG, Powell L. Genesis of teratomas of the testis: A study of normal and zinc-injected testes of roosters. Am J Pathol. 1957;33(4):653-69.
18) Willis RA. An experimental study of the possible influence of injury in the genesis of tumours of the gonads. Br J Exp Pathol.1934;15:234-6
19) Nordberg GF, Andersen O. Metal interactions in carcinogenesis: Enhancement, inhibition. Environ Health Perspect. 1981;40:65-81.
20) Leitzmann MF, Stampfer MJ, Wu K, Colditz GA, Willett WC, Giovannucci EL. Zinc supplement use and risk of prostate cancer. J Natl Cancer Inst. 2003;95(13):1004-7.
21) Costello LC, Franklin RB, Feng P, Tan M. Re: Zinc supplement use and risk of prostate cancer. J Natl Cancer Inst. 2004;96(3):239-40; author reply 240-1.
22) Krone CA, Harms LC. Re: Zinc supplement use and risk of prostate cancer. J Natl Cancer Inst. 2003;95(20):1556; author reply 1556-7.

23) World health organization. Environmental health criteria 221(for Zinc), 2001; 1-336: Geneva
24) Cohen NL, Keen CL, Lönnerdal B, Hurley LS. The effect of copper supplementation on the teratogenic effects of triethylenetetramine in rats. Drug Nut Inter. 1983;2:203-10.
25) Keen CL, Cohen NL, Lonnerdal B, Hurley LS. Teratogenesis and low copper status resulting from triethylenetetramine in rats. Proc Soc Exp Biol Med. 1983;173(4):598-605.
26) Keen CL, Mark-Savage P, Lönnerdal B, Hurley LS. Teratogenic effects of D-Penicillamine in rats: relation to copper deficiency. Drug Nut Inter. 1983;2:17-34.
27) 田中久. 微量必須金属としての亜鉛の有用性と安全性. 薬局 1997;48(8):1297-305
28) 和田攻、柳沢裕之. 微量元素、特に亜鉛の有用性と安全性. 医薬ジャーナル 1997;33(12):3004-12.

目次

略語・略号一覧 ..... 2
2.6.7 毒性試験概要表 ..... 3
2.6.7.1 毒性試験 ..... 3
2.6.7.2 トキシコキネティクス ..... 8
2.6.7.3 毒性試験 ..... 9
2.6.7.4 単回投与毒性試験 ..... 11
2.6.7.5 反復投与毒性試験 ..... 13
2.6.7.6 反復投与毒性試験 ..... 14
2.6.7.7 In Vitro 遺伝毒性試験 ..... 27
2.6.7.8 In Vivo 遺伝毒性試験 ..... 35
2.6.7.9 がん原性試験 ..... 47
2.6.7.10 生殖発生毒性試験 ..... 50
2.6.7.11 生殖発生毒性試験 ..... 51
2.6.7.12 生殖発生毒性試験 ..... 57
2.6.7.13 生殖発生毒性試験 ..... 63
2.6.7.14 新生児を用いた試験 ..... 64
2.6.7.15 局所刺激性試験 ..... 65
2.6.7.16 その他の毒性試験 （膵臓に対する影響） ..... 66
2.6.7.17 その他 （各種亜鉛塩の血中濃度） ..... 76

# 略語・略号一覧

| 略語･略号 | 内容 |
|---|---|
| ACTH | 副腎皮質刺激ホルモン |
| ALT | アラニンアミノトランスフェラーゼ(GPT) |
| ALP | アルカリフォスファターゼ |
| Amyl | アミラーゼ |
| AST | アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ(GOT) |
| Ca | カルシウム |
| CHO | チャイニーズ・ハムスター卵巣 |
| Chol | コレステロール |
| Crea | クレアチニン |
| Eosino | 好酸球 |
| Glu | グルコース |
| Hb | ヘモグロビン |
| HGC | ヒト絨毛性性腺刺激ホルモン |
| Ht | ヘマトクリット |
| Ins | インスリン |
| $LD_{50}$ | 50%致死量 |
| Lymp | リンパ球 |
| M/E 比 | 骨髄球/赤芽球比 |
| Mono | 単球 |
| MT | メタロチオネイン |
| MTD | 最大耐量 |
| Na | ナトリウム |
| Neutro-Seg | 分葉核好中球 |
| Neutro-Stab | 桿状核好中球 |
| PHA | フォトヘマグルチオン |
| RBC | 赤血球数 |
| TP | 総たん白 |
| UN | 尿素窒素 |
| WBC | 白血球数 |
| Zn | 亜鉛 |
| ラ島 | ランゲルハンス島 (膵島) |
| ↑ | 増加、上昇又は延長 |
| ↓ | 減少、下降又は短縮 |

## 2.6.7 毒性試験概要表

### 2.6.7.1 毒性試験

一覧表

| 試験の種類 | 被験物質 | 動物種/系統 | 投与方法 | 投与期間 | 投与量 (mg Zn/kg[a]) | GLP適用 | 著者所属機関(国) | 記載箇所 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 単回投与毒性試験 | 酢酸亜鉛 | Swiss マウス | 強制経口、腹腔内 | 1回 | 記載なし | 不適合 | University of Barcelona (スペイン) | 4.2.3.1-1 |
| | | ICR マウス | 腹腔内 | 1回 | 幼若:24、29、34、41<br>成獣:10、13、15、18 | 不適合 | East Texas State University (アメリカ) | 4.2.3.1-2 |
| | | SD ラット | 強制経口、腹腔内 | 1回 | 記載なし | 不適合 | University of Barcelona (スペイン) | 4.2.3.1-1 |
| | 硫酸亜鉛 | Swiss マウス | 強制経口 | 1回 | 記載なし | 不適合 | University of Barcelona (スペイン) | 4.2.3.1-1 |
| | | SD ラット | 強制経口 | 1回 | 記載なし | 不適合 | Litton Bionetics, Inc (アメリカ) | 4.2.3.1-3 |
| 反復投与毒性試験 | 酢酸亜鉛 | SD ラット | 飲水 | 3ヵ月間 | 48、95、190 | 不適合 | University of Barcelona (スペイン) | 4.2.3.2-1 |
| | 硫酸亜鉛 | ICR マウス[b] | 混餌 | 13週間 | 10.1 (300 ppm)、107 (3000 ppm)、1115 (30000 ppm) | 不適合 | Institute of Environmental Toxicolgy (日本) | 4.2.3.2-2 |
| | | Wister ラット[b] | 混餌 | 13週間 | 5.4 (300 ppm)、54 (3000 ppm)、569 (30000 ppm) | | | 4.2.3.2-2 |
| | | イヌ | 強制経口 | 70週間 | 45~11 に漸減 | 不適合 | Division of Pharmacology, FDA (アメリカ) | 4.2.3.2-3 |

a: 反復投与毒性試験の投与量の下線は、無毒性量 (NOAEL) を示す.
b: 雌雄の被験物質摂取量の平均をもとに算出

## 2.6.7.1 毒性試験

一覧表　(続き)

| 試験の種類 | 被験物質 | 動物種/系統 | 投与方法 | 投与期間 | 投与量 mg Zn/kg | GLP適用 | 著者所属機関(国) | 記載箇所 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 遺伝毒性試験 | 酢酸亜鉛 | ネズミチフス菌<br>復帰変異 | in vitro | － | 15~2146 µg Zn/plate | 不適合 | Procter and Gamble Company, Miami Valley Laboratories (アメリカ) | 4.2.3.3.1-1 |
| | | マウスリンフォーマ TK | in vitro | － | -S9:0.39~3.9 µg Zn/mL<br>+S9:1.25~12.52 µg Zn/mL | 不適合 | | 4.2.3.3.1-1 |
| | | CHO 細胞<br>染色体異常 | in vitro | － | -S9:7.45~13.41µg Zn/mL<br>+S9:13.41~23.84 µg Zn/mL | 不適合 | | 4.2.3.3.1-1 |
| | | ラット肝培養細胞不定期 DNA 合成(UDS) | in vitro | － | -S9:2.98~298 µg Zn/mL | 不適合 | | 4.2.3.3.1-1 |
| | | ヒトリンパ球<br>染色体異常-1 | in vitro | － | -S9:2.0、19.6、98.1 µg Zn/mL | 不適合 | Vivekananda institute of Medical Sciences (インド) | 4.2.3.3.1-2 |
| | | ヒトリンパ球<br>染色体異常-2 | in vitro | － | -S9:0.007~65.41 µg Zn/mL | 不適合 | Division of Radiobiology, GSF (ドイツ) | 4.2.3.3.1-3 |
| | | ヒトリンパ球<br>染色体異常-3 | in vitro | － | -S9:2.1、6.0 µg Zn/mL | 不適合 | －<br>(ロシア) | 4.2.3.3.1-4 |
| | 硫酸亜鉛 | マウスコメットアッセイ | 強制経口 | 単回 | 1.3~4.5 | 不適合 | Indian Institute of Chemical Technology (インド) | 4.2.3.3.2-1 |
| | | マウス骨髄小核 | 腹腔内 | 2 日間 | 6.5~19.6 | 不適合 | －<br>(ドイツ) | 4.2.3.3.1-5 |
| | | ラット骨髄<br>染色体異常-1 | 強制経口 | 単回 | 0.6~62.4 | 不適合 | Litton Bionetics, Inc. (アメリカ) | 4.2.3.3.1-6 |

－: 非該当

## 2.6.7.1 毒性試験

一覧表 (続き)

| 試験の種類 | 被験物質 | 動物種/系統 | 投与方法 | 投与期間 | 投与量 (mg Zn/kg) | GLP 適用 | 著者所属機関 (国) | CTD における記載箇所 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 遺伝毒性試験 | 硫酸亜鉛 | ラット骨髄 染色体異常-2 | 強制経口 | 5 日間 | 0.6~62.4 | 不適合 | Litton Bionetics, Inc. (アメリカ) | 4.2.3.3.1-6 |
| | | ラット 優性致死 | 強制経口 | 単回 | 0.6~62.4 | 不適合 | | 4.2.3.3.1-6 |
| | 塩化亜鉛 | マウス骨髄 染色体異常-1 | 腹腔内 | 単回、 隔日 8、16、24 日 | 単回: 3.6~7.2 隔日: 0.96、1.44 | 不適合 | University of calcutta (インド) | 4.2.3.3.2-2 |
| | | マウス骨髄 染色体異常-2 | 混餌 | 1 ヵ月間 | 825 | 不適合 | Mammalian Genetics Laboratory (ベルギー) | 4.2.3.3.2-3 |
| | | マウス骨髄 染色体異常-3 | 腹腔内 | 単回 | 7.2 | 不適合 | Academy of Sciences of the USSR (ロシア) | 4.2.3.3.2-4 |
| | | ラット骨髄 染色体異常 | 飲水 | 14 日間 | 11.5 | 不適合 | Bialystok Branch of Warsaw University (ポーランド) | 4.2.3.3.2-5 |
| | | マウス 優性致死 | 腹腔内 | 単回 | 7.2 | 不適合 | Academy of Sciences of the USSR (ロシア) | 4.2.3.3.2-4 |
| がん原性試験 | 硫酸亜鉛 | Chester beatty マウス | 飲水 | 1 年間 | 165、825 | 不適合 | Institute of Cancer Research (イギリス) | 4.2.3.4.2-1 |
| | | Osborne Mendel ラット | 混餌 | 21 ヵ月間 | 2.3、11.3、22.7 | 不適合 | Division of Pharmacology, FDA(アメリカ) | 4.2.3.4.2-2 |

## 2.6.7.1 毒性試験

一覧表 (続き)

| 試験の種類 | 被験物質 | 動物種/系統 | 投与方法 | 投与期間 | 投与量 (mg Zn/kg) | GLP 適用 | 著者所属機関 (国) | CTD における記載箇所 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 生殖発生毒性試験 | 塩化亜鉛 | SD ラット | 強制経口 | 雄:交配前 77 日~交配 21 日、<br>雌: 交配前 77 日~授乳期間 | 3.6、7.2、14.4 | 不適合 | Tuskegee University (アメリカ) | 4.2.3.5.1-1 |
| | 硫酸亜鉛 | CD-1 マウス | 強制経口 | 妊娠 6 日~15 日 | 0.07、0.3、1.5、6.8 | 不適合 | Food and Drug Research Laboratories, Inc. (アメリカ) | 4.2.3.5.2-1 |
| | | Wistar ラット | 強制経口 | 妊娠 6 日~15 日 | 0.1、0.5、2.1、9.7 | 不適合 | Food and Drug Research Laboratories, Inc. (アメリカ) | 4.2.3.5.2-1 |
| | | Dutch-belted ウサギ | 強制経口 | 妊娠 6 日~18 日 | 0.14、0.6、3.0、13.6 | 不適合 | Food and Drug Research Laboratories, Inc. (アメリカ) | 4.2.3.5.2-2 |
| その他の毒性試験<br>膵臓毒性 | 硫酸亜鉛 | C3H マウス | 飲水 | 5~12 ヵ月間 | 18.8 | 不適合 | University of Glasgow Veterinary School (イギリス) | 4.2.3.7.7-1 |
| | | ddY マウス | 皮下 | 1 回 | 50、300 | 不適合 | 神戸学院大学 (日本) | 4.2.3.7.7-2 |
| | | ddY マウス | 皮下 | 1 回 | 0.1、0.5、1、5、12.5、25、50 | 不適合 | Kinki University (日本) | 4.2.3.7.7-3 |

## 2.6.7.1 毒性試験

一覧表 (続き)

| 試験の種類 | 被験物質 | 動物種/系統 | 投与方法 | 投与期間 | 投与量 (mg Zn/kg) | GLP 適用 | 著者所属機関 (国) | CTD における記載箇所 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| その他<br>血中濃度試験 | 炭酸亜鉛 | Swiss White マウス | 混餌 | 7 日間 | 8 | 不適合 | University Hospital (カナダ) | 4.2.3.7.7-6 |
| | | Wistar ラット | 混餌 | 7 日間 | 4.9 | 不適合 | University Hospital (カナダ) | 4.2.3.7.7-6 |
| | | Wistar ラット | 混餌 | 14 日間 | 13 | 不適合 | Universidad Complutense (スペイン) | 4.2.3.7.7-8 |
| | | SD ラット | 混餌 | 20 日間 | 0.45、2.45、50.0 | 不適合 | University of California (アメリカ) | 4.2.3.7.7-9 |
| | 塩化亜鉛 | Wistar ラット | 腹腔内 | 4 週間 | 2 | 不適合 | Universidad Complutense (スペイン) | 4.2.3.7.7-7 |
| | 酢酸亜鉛 | SD ラット | 強制経口 | 2 ヵ月間 | 5.7、28.5、57.1 | 不適合 | University of Michigan (アメリカ) | 4.2.3.7.7-4 |
| | | ビーグルイヌ | 混餌 | 2 週間 | 2、4 | 不適合 | University Istanbul (トルコ) | 4.2.3.7.7-10 |
| | 酸化亜鉛 | ネコ | 混餌 | 3~4 ヵ月間 | 62~75 | 不適合 | University of Toronto (カナダ) | 4.2.3.7.7-5 |

### 2.6.7.2 トキシコキネティクス

実施していない。

## 2.6.7.3 毒性試験

被験物質(バッチごと)一覧

| 被験物質 | ロット番号 | 純度 (%) | 製造元 | CTD における記載箇所 | 試験の種類 |
|---|---|---|---|---|---|
| 酢酸亜鉛 | ― | ― | F.Merck | 4.2.3.1-1 | マウス単回投与試験 |
| | ― | ― | F.Merck | 4.2.3.1-1 | ラット単回投与試験 |
| | ― | ― | ― | 4.2.3.1-2 | 幼若/成獣マウス単回投与試験 |
| | ― | ― | ― | 4.2.3.2-1 | ラット 3 ヵ月投与毒性試験 |
| | ― | ― | Fischer Scientific | 4.2.3.3.1-1 | ネズミチフス菌復帰変異 |
| | ― | ― | Fischer Scient ific | 4.2.3.3.1-1 | マウスリンフォーマ |
| | ― | ― | Fischer Scientific | 4.2.3.3.1-1 | CHO 細胞染色体異常 |
| | ― | ― | Fischer Scientific | 4.2.3.3.1-1 | ラット肝培養細胞 不定期 DNA 合成(UDS) |
| | ― | ― | ― | 4.2.3.3.1-2 | ヒトリンパ球染色体異常-1 |
| | ― | ― | ― | 4.2.3.3.1-3 | ヒトリンパ球染色体異常-2 |
| | ― | ― | ― | 4.2.3.3.1-4 | ヒトリンパ球染色体異常-3 |
| | ― | ― | ― | 4.2.3.7.7-4 | ラット膵臓に対する影響 |
| 硫酸亜鉛 | ― | ― | ― | 4.2.3.1-1 | マウス単回投与試験 |
| | ― | ― | ― | 4.2.3.1-3 | ラット単回投与試験 |
| | ― | 99.9 | ― | 4.2.3.2-2 | マウス 13 週投与毒性試験 |
| | ― | 99.9 | ― | 4.2.3.2-2 | ラット 13 週投与毒性試験 |
| | ― | ― | ― | 4.2.3.2-3 | イヌ 70 週投与毒性試験 |
| | ― | ― | ― | 4.2.3.3.2-1 | マウスコメットアッセイ |
| | ― | ― | Merck Co. | 4.2.3.3.1-5 | マウス骨髄小核 |
| | 2132R1 | ― | FDA | 4.2.3.3.1-6 | ラット骨髄染色体異常-1 |
| | 2132R1 | ― | FDA | 4.2.3.3.1-6 | ラット骨髄染色体異常-2 |
| | 2132R1 | ― | FDA | 4.2.3.3.1-6 | ラット優性致死 |
| | ― | ― | British Drug Houses | 4.2.3.4.2-1 | マウス 1 年投与試験 |
| | ― | ― | ― | 4.2.3.4.2-2 | ラット 21 ヵ月投与試験 |

―: 不明

### 2.6.7.3 毒性試験

被験物質(バッチごと)一覧 (続き)

| 被験物質 | ロット番号 | 純度 (%) | 製造元 | CTD における記載箇所 | 試験の種類 |
|---|---|---|---|---|---|
| 硫酸亜鉛 | ― | ― | ― | 4.2.3.5.2-1 | マウス器官形成期投与試験 |
| | ― | ― | ― | 4.2.3.5.2-1 | ラット器官形成期投与試験 |
| | ― | ― | ― | 4.2.3.5.2-2 | ウサギ器官形成期投与試験 |
| | ― | ― | ― | 4.2.3.7.7-1 | マウス膵臓に対する影響 |
| | ― | ― | ― | 4.2.3.7.7-2 | マウス急性膵炎 |
| | ― | ― | Wako Pure Chemicals | 4.2.3.7.7-3 | マウス膵臓に対する影響 |
| 酸化亜鉛 | ― | ― | ― | 4.2.3.7.7-5 | ネコ膵臓に対する影響 |
| 塩化亜鉛 | ― | ― | Sarabhai M Chemicals | 4.2.3.3.2-2 | マウス骨髄染色体異常-1 |
| | ― | ― | ― | 4.2.3.3.2-3 | マウス骨髄染色体異常-2 |
| | ― | ― | ― | 4.2.3.3.2-4 | マウス骨髄染色体異常-3 |
| | ― | ― | ― | 4.2.3.3.2-5 | ラット骨髄染色体異常 |
| | ― | ― | ― | 4.2.3.3.2-4 | マウス優性致死 |
| | ― | ― | ― | 4.2.3.5.1-1 | ラット世代試験 |

―: 不明

## 2.6.7.4 単回投与毒性試験

被験物質: 酢酸亜鉛

| 動物種/系統 | 投与方法<br>(溶媒/投与形態) | 投与量<br>mg/kg<br>(mg Zn/kg) | 性別及び<br>一群の動物数 | 最大非致死量<br>mg/kg<br>(mg Zn/kg) | 概略の致死量 [a]<br>mg/kg<br>(mg Zn/kg) | 特記すべき所見 | CTD<br>における<br>記載箇所 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Swiss マウス | 強制経口、<br>腹腔内<br>(水/水溶液) | ー | 10M | ー | 経口：287(86)<br>腹腔内：<br>108(32) | 投与後 24 時間以内に死亡<br>結膜炎、立毛、体重減少、摂餌量・摂水量の減少、尾の出血・血腫、衰弱(経口投与のみ) | 4.2.3.1-1 |
| ICR マウス | 腹腔内<br>(水/水溶液) | 138(41)<br>115(34)<br>96(29)<br>80(24)<br>60(18)<br>50(15)<br>42(13)<br>35(10) | 幼若<br>10M、10F<br><br><br>成獣<br>10M、10F | MF: 80(24)<br><br><br><br>M: <35(10)<br>F: 35(10) | M：97.8(29.1)<br>F：99.6(29.7)<br><br><br>M：42.0(12.5)<br>F：42.0(12.5) | 殆どの動物は投与後 7 日までに死亡したが、死亡は 14 日間にわたり観察された。腹腔内の充血や壊死は観察されなかったが、腹部血管の拡張及び心臓の拡張期停止が認められた。 | 4.2.3.1-2 |
| SD ラット | 強制経口、<br>腹腔内<br>(水/水溶液) | ー | 10M | ー | 経口：794(237)<br>腹腔内：<br>162(48) | 大部分は投与 24 時間内に死亡<br>縮瞳、結膜炎、鼻の紅斑・壊死、眼球突出(腹腔内投与のみ)、体重減少、摂餌量及び摂水量の減少、尾の出血・血腫及び壊死(経口投与のみ) | 4.2.3.1-1 |

ー: 不明、　M: 雄、　F: 雌
a: $LD_{50}$ 値