

シロドシン (KMD-3213) の安全性に関する研究

武藤信一,* 笠原寛子, 横井亮平, 林 守道, 相馬晋司,
小林一男, 田村 啓, 村上 真, 黒田淳二, 柴田信男

Toxicity Profile of Silodosin (KMD-3213)

Shin-ichi MUTO,* Hiroko KASAHARA, Ryohei YOKOI, Morimichi HAYASHI, Shinji SOUMA,
Kazuo KOBAYASHI, Toru TAMURA, Makoto MURAKAMI, Junji KURODA, and Nobuo SHIBATA
Toxicology Research Laboratory, R&D, Kissei Pharmaceutical Co., Ltd., 2320-1 Maki,
Hotaka, Azumino City 399-8305, Japan

(Received September 29, 2005; Accepted November 24, 2005)

The toxicity profile of silodosin, a selective α_{1A} -adrenoceptor antagonist, was evaluated. The lethal doses were 800 mg/kg in rats and 1500 mg/kg in dogs. Repeated-dose studies revealed fatty degeneration of hepatocytes and an induction of drug-metabolizing enzymes at 15 mg/kg/day or more in male rats, mammary gland hyperplasia at 60 mg/kg/day or more in female rats, and degeneration of the seminiferous tubular epithelium at 25 mg/kg/day or more only in young dogs. Silodosin was negative in all mutagenicity studies, except for a weak positive in a chromosomal aberration assay conducted without metabolic activation. In carcinogenicity studies, mammary gland tumors and pituitary adenomas were increased in female mice given 150 mg/kg/day or more and 400 mg/kg/day respectively, while thyroid follicular cell carcinoma was increased in male rats given 150 mg/kg/day. Reproductive studies in rats revealed a decreased male fertility at 20 mg/kg/day or more and a prolonged estrous cycle at 60 mg/kg/day or more. Silodosin did not exhibit any teratogenic potential in either rats or rabbits, and had no effects on the postnatal development of rat offspring. In safety pharmacology studies, silodosin produced no severe effects on the central nervous, cardiovascular, or respiratory systems. In conclusion, silodosin exhibited adequate safety margins between the clinically recommended dose and those at which toxic effects or safety pharmacological changes were detected. As a new therapeutic drug for the micturition difficulties caused by benign prostatic hyperplasia, silodosin should have few serious side effects in clinical use.

Key words—silodosin (KMD-3213); α_{1A} -adrenoceptor antagonist; toxicity

緒 言

選択的 α_{1A} -アドレナリン受容体 (AR) 遮断薬であるシロドシンは、当社 (キッセイ薬品工業株式会社) が開発した前立腺肥大症に伴う排尿障害治療薬である。今回われわれは、シロドシン (開発コード名: KMD-3213) の臨床適用経路である経口での単回投与毒性試験, 反復投与毒性試験, 生殖発生毒性試験, がん原性試験, 遺伝毒性試験及び安全性薬理試験を実施し, その毒性プロファイルを検討した。

実験材料及び方法

1. 薬物 本実験にはシロドシン (キッセイ薬品工業株式会社) を使用した。

2. 実験方法 単回投与毒性試験, 反復投与毒性試験, 遺伝毒性試験, がん原性試験, 生殖発生毒性試験及び安全性薬理試験は, いずれも「医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準に関する省令 (平成 9 年 3 月 26 日厚生省令第 21 号)」を遵守し, 各種試験法ガイドライン^{1)~11)}に従って実施した。

以下に各試験の目的及び方法の概略を示す。

2-1. 単回投与毒性試験 シロドシンの急性毒性を明らかにするため, ラット (Slc: SD) にはシロドシンを 0.5% メチルセルロース水溶液に懸濁し, イヌ (Beagle) にはシロドシンをゼラチンカプセルに入れ, 単回経口投与した。シロドシン投与後, 一般状態と死亡経過を 14 日間観察した。ラット及びイヌとも概略の致死量を求め, ラットでは Probit 法により LD₅₀ 値も求めた。

各試験における用量群及び 1 群当たりの例数を以

キッセイ薬品工業株式会社開発研究部安全性研究所

*e-mail: shinichi_muto@pharm.kissei.co.jp

下に示す。

1) ラット単回投与試験：400, 800, 1600 mg/kg, 雌雄各 5 例

2) イヌ単回投与試験：1000, 1500 mg/kg, 雄 2 例

2-2. 反復投与毒性試験 シロドシンの反復投与時の毒性を明らかにするため、ラット (Slc : SD) にはシロドシンを 0.5% メチルセルロース水溶液に懸濁し、イヌ (Beagle) にはシロドシンをゼラチンカプセルに入れ、反復経口投与した。ラット及びイヌとも投与期間中の体重の推移を調べ、投与終了時には眼科学的検査、聴覚検査、血液学的検査、血液生化学検査、尿検査、剖検、器官重量測定及び病理組織学的検査を実施した。また、イヌでは直腸温測定、心電図検査、心拍数測定、血圧検査、糞潜血反応検査及び肝・腎機能検査も実施した。加えて、ラット 4 及び 26 週間試験の最高用量では肝薬物代謝酵素測定を実施した。

各試験における用量群及び 1 群当たりの例数を以下に示す。

1) ラット 4 週間投与試験：0, 20, 60, 200, 600 mg/kg/日, 雌雄各 15 例

2) ラット 13 週間投与試験：0, 25, 100, 400 mg/kg/日, 雌雄各 10 例

3) ラット 26 週間投与試験：0, 1, 5, 15, 60, 300 mg/kg/日, 雌雄各 20 例

4) イヌ 4 週間投与試験：0, 25, 100, 400 mg/kg/日, 雌雄各 4 例

5) イヌ 13 週間投与試験：0, 10, 50, 100/200 mg/kg/日 (投与 7 日目より最高用量を 100 mg/kg/日に減量), 雌雄各 3 例

6) イヌ 52 週間投与試験：0, 5, 20, 80 mg/kg/日, 雌雄 4 例

2-3. 遺伝毒性試験 シロドシンの遺伝毒性の有無を調べるため、以下の試験を実施した。細菌を用いる復帰突然変異試験では、シロドシンをジメチルスルホキシドに溶解し、ネズミチフス菌 (TA100, TA98, TA1535, TA1537) 及び大腸菌 (WP2uvrA/pKM101) を用いて代謝活性化系存在下及び非存在下でプレインキュベーション法により実施した。チャイニーズハムスターの培養細胞を用いる染色体異常試験では、シロドシンを 0.5% メチルセルロース水溶液に懸濁し、チャイニーズハムス

ター肺由来細胞株 (CHL) を用いて代謝活性化系存在下及び非存在下の短時間 (6 時間) 処理並びに代謝活性化系非存在下の連続 (24, 48 時間) 処理により実施した。マウスリンフォーマ試験では、シロドシンをジメチルスルホキシドに溶解し、マウスリンフォーマ細胞 (L5178Y) を用いて代謝活性化系存在下及び非存在下の 3 時間処理でマイクロウェル法により実施した。マウスを用いる小核試験では、シロドシンを 0.5% メチルセルロース水溶液に懸濁し、マウス (Crj : CD-1 (ICR)) に単回経口投与し、24 時間後の小核を有する多染色赤血球の出現頻度を解析した。ラットの肝細胞を用いる不定期 DNA 合成 (UDS) 試験では、シロドシンを 0.5% メチルセルロース水溶液に懸濁し、ラット (Hsd/Ora : SD) に単回経口投与し、2 及び 24 時間後の肝細胞における核及び細胞質グレイン数を計測した。

各試験における用量群及び 1 群当たりの例数を以下に示す。

1) 細菌を用いる復帰突然変異試験：0, 46.9—3000 µg/プレート

2) チャイニーズハムスターの培養細胞を用いる染色体異常試験：代謝活性化系存在下の 6 時間処理 0, 87.5—350 µg/ml, 代謝活性化系非存在下の 6 時間処理 0, 37.5—600 µg/ml, 代謝活性化系非存在下の 24・48 時間処理 0, 21.9—87.5 µg/ml

3) マウスリンフォーマ試験：代謝活性化系存在下 0, 60—350 µg/ml, 代謝活性化系非存在下 0, 60—375 µg/ml

4) マウスを用いる小核試験：0, 250, 500, 1000 mg/kg, 雄 6 例

5) ラットの肝細胞を用いる不定期 DNA 合成 (UDS) 試験：0, 600, 2000 mg/kg, 雄 5 例

2-4. がん原性試験 シロドシンのがん誘発能の有無を調べるため、マウス (CrI : CD-1 (ICR)) 及びラット (CrI : CD (SD)) にシロドシンを 104 週間混餌投与し、病理組織学的検査を実施した。

各試験における用量群及び 1 群当たりの例数を以下に示す。

1) マウスがん原性試験：雄 0, 20, 60, 100/200 mg/kg/日 (投与 27 週目より最高用量を 100 mg/kg/日に減量), 雌 0, 60, 150, 400 mg/kg/日, 雌雄各 50 例

2) ラットがん原性試験：雄 0, 15, 50, 150 mg/

kg/日，雌 0, 15, 80, 250 mg/kg/日，雌雄各 60 例

2-5. 生殖発生毒性試験 シロドシンの生殖発生に及ぼす影響を調べるため，シロドシンを 0.5% メチルセルロース水溶液に懸濁し，ラット (Crj: CD (SD)) 又はウサギ (Kbl: NZW) に経口投与し，受胎能及び着床までの初期胚発生，胚・胎児発生，出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に対する影響について検討した。

各試験における用量群，投与期間及び 1 群当たりの例数を以下に示す。

1) ラット受胎能及び着床までの初期胚発生に関する雌雄投与試験：0, 20, 60, 200, 600 mg/kg/日，交配前 64 日(雄)，交配前 15 日—妊娠 7 日(雌)，雌雄各 25 例

2) ラット受胎能及び着床までの初期胚発生に関する雄投与試験：0, 2, 6, 20, 60, 200, 600 mg/kg/日，交配前 29 日(雄)，雄 20 例

3) ラット受胎能及び着床までの初期胚発生に関する雌投与試験：0, 0.6, 2, 6, 20 mg/kg/日，交配前 15 日—妊娠 7 日(雌)，雌 20 例

4) ラット胚・胎児発生に関する試験：0, 30, 80, 240, 700, 1000 mg/kg/日，妊娠 7—17 日(雌)，雌 20 例

5) ウサギ胚・胎児発生に関する試験：0, 20, 60, 200 mg/kg/日，妊娠 6—18 日(雌)，雌 20 例

6) ラット出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験：0, 10, 30, 100, 300 mg/kg/日，妊娠 7 日—分娩 20 日(雌)，雌 20 例

2-6. 安全性薬理試験 シロドシンの中枢神経系，心血管系及び呼吸系機能に及ぼす影響を調べるため，以下の試験を実施した。ラット中枢神経系試験では，シロドシンを 0.5% メチルセルロース水溶液に懸濁し，ラット (Slc: Wistar) に単回経口投与した。投与後経時的に機能観察総合評価法に基づき一般状態（運動性，行動変化，協調性，感覚・運動反射機能）を観察し，自発運動量及び体温を測定した。イヌ呼吸系試験では，シロドシンを 0.5% メチルセルロース水溶液に懸濁し，あらかじめ大腿動脈に血圧測定用あるいは採血用カニューレを埋め込んだイヌ (Beagle) に単回経口投与した。呼吸数は血圧波形の揺らぎから測定し，呼吸深度は動脈血の血液ガスパラメータ（ヘモグロビン酸素飽和度，酸素分圧，二酸化炭素分圧，血液 pH）から評価し

た。イヌ心血管系試験では，シロドシンを 0.5% メチルセルロース水溶液に懸濁し，あらかじめ大腿動脈に血圧測定用カニューレを埋め込んだイヌ (Beagle) に単回経口投与した。投与後経時的に血圧（収縮期，拡張期，平均血圧），心拍数及び心電図（PR 間隔，QRS 時間，QT 間隔，QTc）を測定した。Human embryo kidney (HEK) 293 細胞における human ether a-go-go related gene (HERG) 電流試験では，HERG チャネルを発現させた HEK293 細胞をシロドシンを溶解した灌流液で灌流した。HERG 電流はホールセルクランプ法により測定した。モルモット摘出乳頭筋の活動電位波形試験では，モルモット (Crj: Hartley) から摘出した乳頭筋をシロドシンを溶解した灌流液で灌流した。活動電位波形は微小電極法により静止膜電位 (RMP)，活動電位振幅 (APA)，50% 再分極時活動電位持続時間 (APD₅₀)，90% 再分極時活動電位持続時間 (APD₉₀) 及び最大立ち上がり速度 (V_{max}) を測定した。

各試験における用量群及び 1 群当たりの例数を以下に示す。

1) ラット中枢神経系試験：0, 0.2, 2, 20 mg/kg，雄 10 例

2) イヌ呼吸系試験：0, 0.2, 2, 20 mg/kg，雄 5 例

3) イヌ心血管系試験：0, 0.2, 2, 20 mg/kg，雄 5 例

4) HEK293 細胞における HERG 電流試験： 1×10^{-7} , 3×10^{-7} , 1×10^{-6} , 3×10^{-6} , 1×10^{-5} mol/l, 4 例

5) モルモット摘出乳頭筋の活動電位波形試験： 1×10^{-7} , 1×10^{-6} , 1×10^{-5} mol/l，雄 6 例

2-7. 毒性機序解析試験 ラットがん原性試験における甲状腺濾胞細胞腺腫の発生機序を解明するため，シロドシンを 0.5% メチルセルロース水溶液に懸濁し，雄ラット (Slc: SD) に 4 週間経口投与 (0, 150, 300 mg/kg/日) し，ラットにおける甲状腺刺激ホルモン (TSH) を介した甲状腺腫瘍誘発メカニズムへの関与が知られている肝臓 UDP- グルクロニルトランスフェラーゼ (UDP-GT)^{12,13} の活性をラジオリミノグラフィー法で測定した。また，マウスがん原性試験における乳腺腫瘍及び下垂体腺腫，ラット反復投与毒性試験における雌性生殖器の

変化の発生機序を解明するため、同様の方法でシロドシンをマウス (Slc : ICR) 及びラット (Slc : SD) の雌雄に単回経口投与 (マウス : 0, 6, 20, 60, 200 mg/kg, ラット : 0, 5, 15, 50, 150 mg/kg) し、これらの変化への関与が知られている血中プロラクチン¹⁴⁾をラジオイムノアッセイ法で測定した。

結 果

1. 単回投与毒性試験 ラット単回投与試験 (400, 800, 1600 mg/kg) では、400 mg/kg 以上の雌雄で投与後より流涙、眼瞼下垂、深い呼吸、体位異常、自発運動減少、皮膚冷感、粘液便及び被毛汚染が、投与後 6 時間より散瞳が観察された。死亡例では間代性痙攣、呼吸困難及び開口呼吸も観察され、ほとんどが投与後 8 時間以内に死亡した。観察 2 日目には 400 mg/kg 以上の雌雄で眼瞼下垂が、800 mg/kg 以上の雄で自発運動減少が観察された。観察 3 日目には 800 mg/kg 以上の雄で眼瞼下垂が観察された。死亡率はそれぞれ、400 mg/kg の雌雄でいずれも 0/5, 800 mg/kg の雌雄でいずれも 3/5, 1600 mg/kg の雌雄でいずれも 4/5 であった。雌雄ともに概略の致死量は 800 mg/kg であり、LD₅₀ 値は 878 mg/kg と推定された。

イヌ単回投与試験 (1000, 1500 mg/kg) では、1000 及び 1500 mg/kg で耳介内面発赤、眼瞼下垂、眼球及び眼瞼結膜の充血、瞬膜弛緩、便の異常及び嘔吐が観察された。加えて、1500 mg/kg では肛門し開及び四肢脱力も観察され、1 例は観察 2 日目に死亡した。これらの所見は 1000 mg/kg で観察 3 日目まで、1500 mg/kg では観察 7 日目まで観察され

た。死亡率はそれぞれ、1000 mg/kg で 0/2, 1500 mg/kg で 1/2 であった。概略の致死量は 1500 mg/kg であった。

2. 反復投与毒性試験 ラット 4 週間投与試験 (0, 20, 60, 200, 600 mg/kg/日) では、600 mg/kg/日の雄で体重及び中性脂肪の低値並びにアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST), アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT) 及び肝 P450 含量の高値が認められた。病理組織学的には、溶媒対照群に比して 60 mg/kg/日以上 of 雌雄で肝細胞の脂肪変性が、雄で小葉中心性肝細胞の好酸性化が、200 mg/kg/日以上 of 雌雄で肝細胞の腫大が、雌で膈粘膜上皮細胞の肥大が顕著に認められた。また、600 mg/kg/日の雌雄で胃底腺の萎縮が、雌で乳腺の過形成及び乳汁分泌活性の亢進が、溶媒対照群に比して顕著に認められた (Fig. 1)。

ラット 13 週間投与試験 (0, 25, 100, 400 mg/kg/日) では、400 mg/kg/日の雌雄で中性脂肪の低値が、雄で体重及び遊離脂肪酸の低値が認められた。病理組織学的には、溶媒対照群に比して 100 mg/kg/日以上 of 雄で肝細胞の脂肪変性、小葉中心性肝細胞の腫大及び好酸性化が顕著に認められた。また、400 mg/kg/日の雄で肝臓の結合組織の増生が、雌で小葉中心性肝細胞の腫大、乳腺の過形成、子宮の萎縮及び膈粘膜上皮細胞の肥大が、溶媒対照群に比して顕著に認められた。

ラット 26 週間投与試験 (0, 1, 5, 15, 60, 300 mg/kg/日) では、15 mg/kg/日以上 of 雄で血糖の高値が、300 mg/kg/日の雌雄で中性脂肪の低値及び肝 P450 含量の高値が、雄で体重及び遊離脂肪酸の低

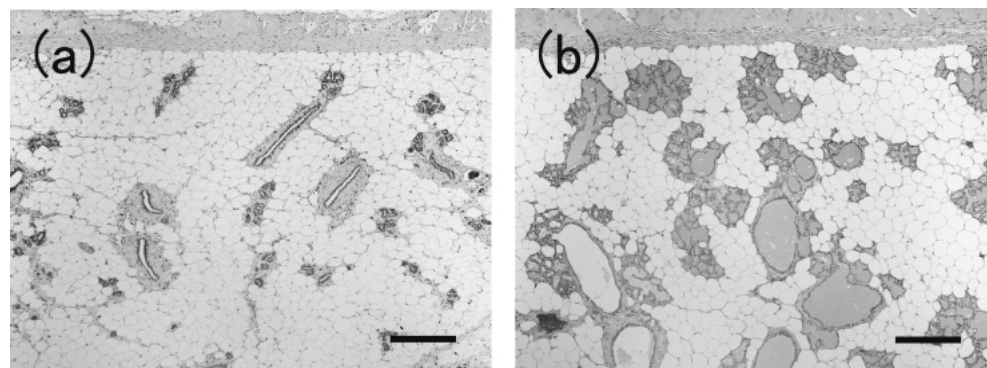


Fig. 1. Mammary Glands of a Control Rat (a) and a Rat Given 600 mg/kg/day of Silodosin (b)
Mammary hyperplasia with increased secretory activity was induced by silodosin treatment. Hematoxylin-Eosin stain. Bars: 0.3 mm.

値が、雌で血糖の高値が認められた。病理組織学的には、溶媒対照群に比して 15 mg/kg/日以上雄及び 300 mg/kg/日の雌で肝細胞の脂肪変性及び小葉中心性肝細胞の腫大が顕著に認められた。また、60 mg/kg/日以上雄及び 300 mg/kg/日の雌で小葉中心性肝細胞の好酸性化が、60 mg/kg/日以上雌で乳腺の過形成及び腺粘膜上皮細胞の肥大が、300 mg/kg/日の雌で乳汁分泌活性の亢進及び子宮の萎縮が、溶媒対照群に比して顕著に認められた。

イヌ 4 週間投与試験 (0, 25, 100, 400 mg/kg/日) では、100 mg/kg/日以上雌雄で総コレステロールの高値が、雄でフィブリノーゲン量の高値が認められた。400 mg/kg/日の雌雄で死亡例及び切迫屠殺例の発現、体重の低値、血圧及び心拍数の低下傾向、洞性徐脈、心電図の P 波、PR 間隔、QRS 波及び QT 間隔の延長、尿素窒素、血小板数及び好中球比の高値傾向が、雌で AST、ALT 及びクレアチニンの高値が認められた。病理組織学的には、溶媒対照群に比して 25 mg/kg/日以上雌雄で肝臓のうっ血が、雄で胸腺の萎縮及び精細管上皮の変性が顕著に認められた。また、100 mg/kg/日以上雌雄で肝細胞の腫大が、400 mg/kg/日雄及び 100 mg/kg/日以上雌で胃粘膜糜爛が、溶媒対照群に比して顕著に認められた。

イヌ 13 週間投与試験 (0, 10, 50, 100/200 mg/kg/日) では、50 mg/kg/日以上雌雄で体重の低値が、雌で中性脂肪の低値が認められた。病理組織学的には、50 mg/kg/日以上雄で生殖器の成熟遅延が、50 mg/kg/日以上雄及び 100 mg/kg/日雌で胸腺の萎縮が、溶媒対照群に比して顕著に認められた。

イヌ 52 週間投与試験 (0, 5, 20, 80 mg/kg/日) では、80 mg/kg/日雌雄で体重及び赤血球数の低値が認められた。病理組織学的には、5 mg/kg/日以上雌雄で肝細胞に消耗性色素沈着が、5 mg/kg/日以上雄及び 20 mg/kg/日以上雌で腎皮質尿管上皮細胞内に消耗性色素沈着が、溶媒対照群に比して顕著に認められた。

3. 遺伝毒性試験 チャイニーズハムスターの培養細胞を用いる染色体異常試験における代謝活性化系非存在下の短時間処理法では、細胞毒性を示す 500 µg/ml 以上の高濃度でのみ陽性反応が認められた。細菌を用いる復帰突然変異試験、マウスリンフ

オーマ試験、マウスを用いる小核試験及びラットの肝細胞を用いる不定期 DNA 合成 (UDS) 試験では陰性であった。

4. がん原性試験 マウスがん原性試験 (雄: 0, 20, 60, 100/200 mg/kg/日, 雌: 0, 60, 150, 400 mg/kg/日) では、150 mg/kg/日以上雌で乳腺腫瘍の、400 mg/kg/日雌で下垂体腺腫の増加が認められた。

ラットがん原性試験 (雄: 0, 15, 50, 150 mg/kg/日, 雌: 0, 15, 80, 250 mg/kg/日) では、150 mg/kg/日雄で甲状腺濾胞細胞腺腫の増加が認められた。

5. 生殖発生毒性試験 ラット受胎能及び着床までの初期胚発生に関する雌雄投与試験 (0, 20, 60, 200, 600 mg/kg/日) では、20 mg/kg/日以上で受胎率の低値が、60 mg/kg/日以上で性周期の延長又は消失が、200 mg/kg/日以上で交尾率の低値が、600 mg/kg/日で体重及び摂餌量の低値が認められた。雄投与試験 (0, 2, 6, 20, 60, 200, 600 mg/kg/日) では、20 mg/kg/日以上で授胎率及び着床率の低値が認められたが、2 週間の休薬期間を設けることで授胎率及び着床率に対する影響は回復した。交尾率については 600 mg/kg/日でも影響は認められなかった。雌投与試験 (0, 0.6, 2, 6, 20 mg/kg/日) では、最高用量の 20 mg/kg/日においても受胎率及び初期胚発生に対する影響は認められなかった。以上より、雌雄投与試験において認められた受胎率及び交尾率の低下について、受胎率の低下は雄での変化に、交尾率の低下は雌での変化に由来するものと考えられた。

ラット胚・胎児発生に関する試験では、催奇形作用は認められなかった。

ウサギ胚・胎児発生に関する試験 (0, 20, 60, 200 mg/kg/日) では、200 mg/kg/日で体重及び摂餌量の低値、流産例の発現、母動物の摂餌量の極度な低下に起因すると考えられる胎児体重及び胎盤重量の低値並びに着床後死亡率の高値が認められた。催奇形作用は認められなかった。

ラット出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験 (0, 10, 30, 100, 300 mg/kg/日) では、100 mg/kg/日以上授乳期間中における母動物に摂餌量の低値が認められた。300 mg/kg/日で妊娠末期における母動物の死亡が認められた。母動物の生殖機能、出生児の生後発育及び発達並びに生殖機

能に対する影響は認められなかった。

ラット及びウサギ胚・胎児発生に関する試験並びにラット出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験において特に問題となる毒性は認められなかった。

6. 安全性薬理試験 シロドシン (0.2, 2, 20 mg/kg) はラットの中枢神経系 (一般状態, 自発運動量, 体温) 及びイヌの呼吸系 (呼吸数, 呼吸深度) に対して問題となるような影響を及ぼさなかった。一方, イヌの心血管系に対しては 0.2 mg/kg 以上で血圧低下作用が認められたが, 20 mg/kg でもその低下は約 20% に留まった。心拍数及び心電図に対しては 20 mg/kg まで影響を及ぼさなかった。HEK293 細胞における HERG 電流は高濃度において抑制され, その IC_{50} 値は 8.91×10^{-6} mol/l であった (Fig. 2)。陽性対照物質である E-4031 (1×10^{-7} mol/l) は HERG 電流を適用前値の 20.4% まで減少させた。また, モルモット摘出乳頭筋の活動電位波形に対しては 1×10^{-5} mol/l で APD_{90} を 17.1% 延長させた (Table 1)。陽性対照物質である sotalol (3×10^{-5} mol/l) は APD_{90} を 19.9% 延長させた。

7. 毒性機序解析試験 雄ラットにシロドシン (0, 150, 300 mg/kg/日) を 4 週間経口投与したところ, 150 mg/kg/日以上でチロキシンを基質とする肝臓 UDP-GT 活性の高値が認められた (Fig. 3)。また, 雌雄のマウス及びラットにシロドシン (マウス: 0, 6, 20, 60, 200 mg/kg, ラット: 0, 5, 15, 50, 150 mg/kg) を単回経口投与したところ, マウスでは 60 mg/kg 以上の雌で, ラットでは 50 mg/kg 以

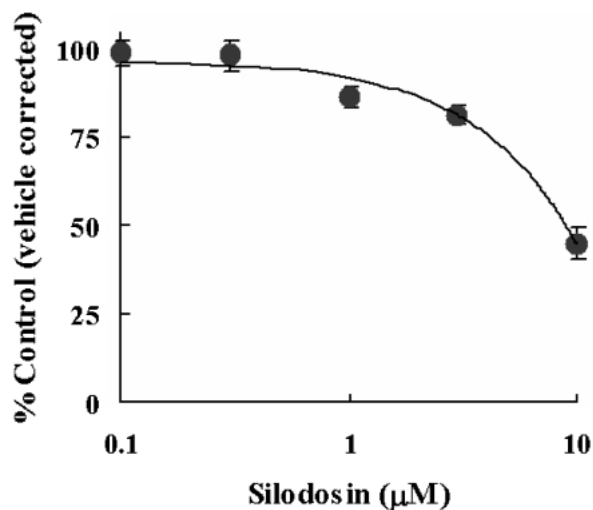


Fig. 2. Concentration-response Relationship for Silodosin on HERG Tail Current

Data are means \pm S.E. of four cells.

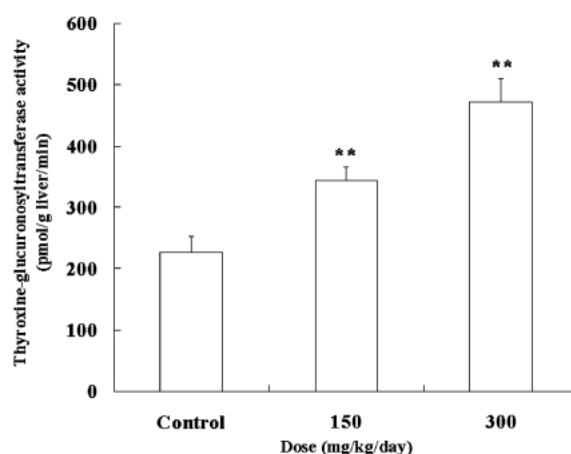


Fig. 3. Hepatic Thyroxine-glucuronosyltransferase Activity in Male Rats Treated with Silodosin for 4 Weeks

Data are means \pm S.D. of ten animals. ** $p < 0.01$ when compared with controls.

Table 1. Effects of Silodosin and Sotalol on the Action Potential Parameters in the Isolated Guinea Pig Papillary Muscle

	Concentration (mol/l)	RMP (%)	APA (%)	APD_{50} (%)	APD_{90} (%)	V_{max} (%)
Vehicle	—	99.8 \pm 0.2	100.1 \pm 0.2	100.0 \pm 0.4	100.1 \pm 0.2	100.1 \pm 2.1
	1×10^{-7}	100.9 \pm 0.6	99.5 \pm 0.3	100.7 \pm 1.2	100.6 \pm 0.8	101.4 \pm 2.2
Silodosin	1×10^{-6}	100.5 \pm 0.6	99.9 \pm 0.2	105.7 \pm 1.3*	106.4 \pm 1.0#	102.0 \pm 1.5
	1×10^{-5}	99.8 \pm 0.3	99.3 \pm 0.3	110.8 \pm 1.4*	117.1 \pm 1.3#	96.6 \pm 1.0
Sotalol	3×10^{-5}	100.6 \pm 0.5	99.5 \pm 0.3	117.8 \pm 1.7 ^s	119.9 \pm 1.7 ^s	101.2 \pm 1.1

RMP: resting membrane potential, APA: action potential amplitude, APD_{50} : action potential duration at 50% repolarization, APD_{90} : action potential duration at 90% repolarization, V_{max} : maximal upstroke velocity, Vehicle: Tyrode's solution containing 0.1% dimethyl sulfoxide. Data are expressed as the percentage of the value 30 minutes after application against that just before application of vehicle, silodosin or sotalol. Each value represents the mean \pm S.E. of 6 preparations. *: significantly different from the vehicle group by parametric Dunnett's test, $p < 0.05$, #: significantly different from the vehicle group by non-parametric Dunnett's test, $p < 0.05$, ^s: significantly different from the vehicle group by Aspin-Welch *t*-test, $p < 0.05$.

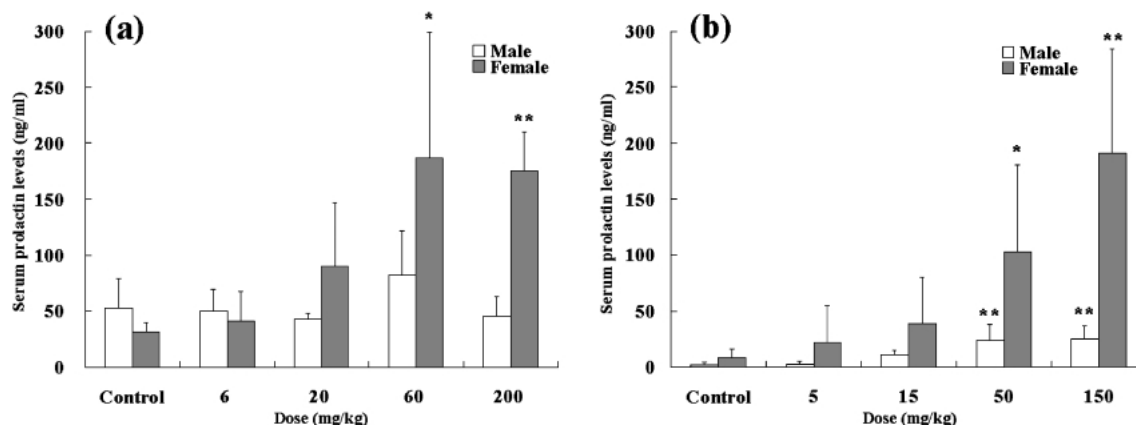


Fig. 4. Serum Levels of Prolactin in Mice (a) and Rats (b) after Single Oral Dosing of Silodosin
Data are means \pm S.D. of five animals. * p <0.05, ** p <0.01 when compared with sex-matched controls.

上の雌雄で血中プロラクチンの高値が認められた (Fig. 4).

考 察

単回投与試験では、ラット及びイヌとも概略の致死量及び LD₅₀ 値は比較的高かったことから、シロドシンは医薬品としては比較的低毒性の化合物であると考えられた。

ラット反復投与試験の肝臓において肝細胞の脂肪変性、小葉中心性肝細胞の好酸性化及び肝細胞の腫大が観察された。肝細胞の脂肪変性は中性脂肪の蓄積であることが多く、遊離脂肪酸の供給量の増加又は肝細胞内での中性脂肪の合成又は放出異常という中性脂肪サイクルのバランスの変化で起こるとされ、¹⁵⁾ α_1 -AR 遮断薬が肝臓からの中性脂肪の放出抑制作用¹⁶⁾により血中の中性脂肪、遊離脂肪酸及びコレステロールを減少させたとの報告がある。¹⁷⁾ シロドシンのラット反復投与試験の高用量においても遊離脂肪酸及び中性脂肪の低値が認められたことから、肝細胞の脂肪変性はシロドシンの薬理作用に関連した変化と推察された。一方、小葉中心性肝細胞の好酸性化及び腫大は、一般的に肝臓での薬物代謝酵素誘導に伴う変化と考えられている。シロドシンについては、ラット 4 及び 26 週間投与試験の高用量で肝臓 P450 の誘導が認められており、また、シロドシンをラットに反復経口投与すると 150 mg/kg/日以上雄でチロキシンを基質とする肝臓 UDP-GT 活性が上昇することが確認された。しかしながら、ラットの肝臓に認められたこれらすべての変化に対していずれも臨床推奨用量である 8 mg/日 (分

2) との間には用量で 31 倍以上の十分な安全域が得られており、また、ラットでの最長の投与試験であるがん原性試験において肝臓に特に問題となる変化が認められていないこと、さらに、イヌ反復投与試験の肝臓に同様な変化は認められていないことから、臨床での安全性に特に問題はないものと考えられる。

ラット反復投与試験の高用量で乳腺の過形成、乳汁分泌活性の亢進、膣粘膜上皮細胞の肥大及び子宮の萎縮など、雌性生殖器の変化が認められた。乳腺の変化は類薬であるウラピジル及び塩酸タムスロシンの毒性試験¹⁸⁻²⁰⁾でも認められており、ホルモンバランスの変動、特にプロラクチンの上昇に起因する変化と推察されている。血中プロラクチンはプロラクチン抑制因子としても知られるドパミン又はカテコールアミンの受容体遮断薬の投与によって上昇し、²¹⁾ 類薬である塩酸プラゾシン及び塩酸タムスロシンでもプロラクチンの分泌亢進が確認されている。^{20,22)} シロドシンは、 α_1 -AR の他、ドパミン D₂ 受容体に対する親和性も認められており、また、シロドシンをラットに単回経口投与すると 50 mg/kg/日以上雌で血中プロラクチンが上昇することが確認された。したがって、乳腺の変化はシロドシンの高用量における副次的薬理作用であるドパミン D₂ 受容体遮断作用に関連したプロラクチン上昇による変化と考えられた。膣粘膜上皮細胞の肥大及び子宮の萎縮については、げっ歯類ではプロラクチンが乳腺に対する作用に加え黄体を刺激してプロゲステロンの産生を亢進させることから、²³⁾ プロラクチン分泌亢進に伴った雌性ホルモンの変動に関連した変化

と考えられた。ラットの雌に認められたこれら一連の変化はげっ歯類に特異的な変化であり、イヌの反復投与試験では全く認められていない。また、シロドシンは男性のみに使用されることから、臨床での安全性には問題ないものと考えられた。

イヌ 4 週間投与試験では、最低用量の 25 mg/kg/日から精細管上皮の変性が認められた。しかし、13 週間投与試験では 50 mg/kg/日以上で雄の生殖器の成熟遅延が観察されたのみで、52 週間投与試験では雄の生殖器に何ら変化は認められなかった。このように精細管上皮の変性は投与期間が長期になるに従って軽減し、消失していた。類葉である塩酸プラゾシンのラット反復投与試験においても、精細管萎縮又は胚上皮の壊死が認められており、血圧低下による虚血性変化と推察されている。²⁴⁾ イヌの反復投与試験では 5—7 ヶ月齢の若齢イヌを使用しており、未成熟な雄の生殖器が虚血の影響を受け易いことが推察されることから、イヌ 4 週間投与試験で認められた精細管上皮の変性は、未成熟動物がシロドシンの薬理作用である α_1 -AR 遮断作用による血圧低下に敏感に反応した変化と推察された。52 週間投与試験では雄の生殖器に何ら変化は認められていないこと、また、臨床推奨用量との間には用量で 500 倍の十分な安全域が得られていることから、臨床での安全性に問題はないものと考えられた。

イヌ 4 週間投与試験の投与後 24 時間の心電図において、死亡が発現している最高用量の 400 mg/kg/日で PR 間隔及び QT 間隔の延長が認められた。しかし、13 及び 52 週間投与試験では最高用量である 100 又は 80 mg/kg/日においても心電図に異常は認められなかった。変動が認められなかった 100 mg/kg/日と臨床推奨用量との間には用量で 625 倍の十分な安全域が得られていることから、臨床での安全性に問題はないものと考えられた。

イヌ 52 週間投与試験では、用量の増加に応じて肝臓及び腎臓に消耗性色素の沈着が認められた。一般に消耗性色素の沈着は正常動物でも加齢に伴って認められ、毒性試験では通常弱い慢性障害の存在を示唆するとされる。¹⁵⁾ しかし、当該試験では消耗性色素の沈着以外に、肝臓及び腎臓に変性・壊死などの障害性変化は伴っておらず、血液生化学検査でも肝及び腎障害を示唆する変化は全く認められなかった。消耗性色素が代謝物の沈着を伴っている可能性

が考えられたことから、シロドシンの 25 mg/kg/日をイヌに 4 週間経口投与し、肝臓及び腎臓へのシロドシン並びにその代謝物の蓄積性を検討した。その結果、シロドシン及びその代謝物の蓄積は認められなかった。以上のことから、肝臓及び腎臓に認められた消耗性色素沈着は、その増加に関わるメカニズムを明らかにすることはできなかったものの、組織形態学的に加齢に伴って自然発生性に認められるものと同一であり、慢性障害を示唆するような組織所見及び血液生化学的变化を伴うものでなかったことから、臨床での安全性を考慮する上で特に問題ないものと考えられた。

染色体異常試験の最高用量においてのみ認められた陽性反応については、近年、直接的な DNA 損傷性を有しない化学物質により誘発される染色体異常は、細胞毒性に関連した二次的なメカニズムにより生じることが報告されている。^{25,26)} このような染色体異常誘発性は、ある特定濃度（閾値）以上においてのみ間接的に誘発される可能性が考えられていることから、^{27,28)} 最高用量においてのみ認められた陽性反応は、DNA 損傷性に起因するのではなく、細胞毒性に関連した染色体異常誘発作用である可能性が推察された。シロドシンの臨床推奨用量におけるシロドシン未変化体の最高血漿中濃度 (C_{max}) 31.5 ng/ml であり、陽性反応を示した 500 μ g/ml はその 15873 倍と極めて高濃度である。さらに、マウスを用いる小核試験では最高用量の 1000 mg/kg（臨床推奨用量の 6250 倍）まで、また、ラットの肝細胞を用いる不定期 DNA 合成 (UDS) 試験では最高用量の 2000 mg/kg（臨床推奨用量の 12500 倍）まで検討した結果、いずれも陰性であった。したがって、シロドシンが生体内において遺伝毒性を示す可能性は少ないものと考えられた。

マウスがん原性試験では、150 mg/kg/日以上雌で乳腺腫瘍の、400 mg/kg/日の雌で下垂体腺腫の増加が認められた。腫瘍増加の発現機序を解析するために、シロドシンをマウスに単回経口投与したところ、60 mg/kg/日以上雌で血中プロラクチンの上昇が認められた。視床下部ドパミンの抑制による下垂体でのプロラクチン産生及び分泌亢進並びに上昇した血中プロラクチンの長期的な過剰刺激によるげっ歯類での下垂体腫瘍及び乳腺腫瘍誘発のメカニズムは既に成書などにも記述されている。¹⁴⁾ ま

た、類薬であるナフトピジルの雌マウスがん原性試験でも同様の結果が得られている。²⁹⁾したがって、乳腺及び下垂体腫瘍の増加は同様のメカニズムによるものと考えられた。ヒトにおいて疫学的に女性では血中プロラクチンの上昇によって乳腺腫瘍のリスクが高まるとされているが、³⁰⁾マウスにおいて乳腺腫瘍の増加が認められなかった 60 mg/kg/日並びに血中プロラクチンの上昇が認められなかった 20 mg/kg/日と臨床推奨用量との間には用量で 125 倍以上の十分な安全域が得られていること、また、シロドシンが男性のみに使用されることから乳腺及び下垂体腫瘍の増加とも臨床での安全性を考慮する上で問題にならないと考えられた。

ラットがん原性試験では、150 mg/kg/日の雄で甲状腺濾胞細胞腺腫の増加が認められた。腫瘍増加の発現機序を解析するために、シロドシンをラットに反復経口投与したところ、150 mg/kg/日以上雄で肝臓 UDP-GT 活性の上昇が認められた。UDP-GT は薬物とともに甲状腺ホルモンの代謝排泄を担い、その活性が上昇することによって、甲状腺ホルモンの代謝が亢進し、フィードバックにより下垂体での甲状腺刺激ホルモン (TSH) の分泌が亢進する。ラットでは、甲状腺ホルモンの輸送蛋白が欠損しており、ほとんどが遊離の甲状腺ホルモンとして存在しているため、その半減期はヒトを含めた他の動物種に比べて非常に短いことが知られている。このことから、甲状腺ホルモンの代謝が亢進すると、容易に血中の甲状腺ホルモンが低下し、TSH の分泌が亢進され易くなる。このメカニズムによる甲状腺腫瘍の誘発は、マウスよりラットで、また、雌より雄で発現し易いことが知られている。一方、このメカニズムによるヒトでの甲状腺腫瘍の発現はないとされている。^{12,13)}したがって、シロドシンのラットがん原性試験における甲状腺の変化は、上述の甲状腺腫瘍発現メカニズムによる雄ラットに発現し易い薬物代謝系の変化に由来するものであり、また、甲状腺濾胞細胞腺腫の増加が認められなかった 50 mg/kg/日と臨床推奨用量との間には、用量で 313 倍の十分な安全域が得られていることから、臨床での安全性において問題ないものと考えられた。

生殖発生毒性試験の雌ラットで認められた変化の発現機序を解析するため、ラットでの経口投与によ

る血中ホルモンに関する検討を実施した。50 mg/kg/日以上を反復投与した雌ラットにおいて、血中プロラクチンの上昇とともに性周期の延長又は消失が確認されたことから、交尾成績及び性周期に認められた影響は、プロラクチンの分泌亢進に起因するものと考えられた。また、雄の変化に由来すると考えられた受胎率の低下については、類薬である塩酸プラゾシン及び塩酸タムスロシンにおいても同様に受胎率及び着床率の低下が認められていることから、シロドシンの薬理作用との関連が推察された。^{31,32)}

安全性薬理試験において、シロドシンは HERG 電流を陽性対照物質に比し高濃度 (IC₅₀ 値: 8.91 × 10⁻⁶ mol/l = 4415 ng/ml) で抑制し、モルモット摘出乳頭筋の活動電位波形に対しては 1 × 10⁻⁵ mol/l で APD₉₀ を 17.1% 延長させた。しかし、HERG 電流に対する IC₅₀ 値 (4415 ng/ml) と臨床推奨用量である 8 mg/日 (分 2) を健康成人男性に 7 日間反復経口投与したときの C_{max} (31.5 ng/ml) とを比較すると約 140 倍の乖離が認められ、さらにこの比較をヒト血漿中でのタンパク結合率 (94.6—95.8%) を考慮した非結合形濃度 (1.3—1.7 ng/ml) で行うと約 3000 倍の乖離が認められた。また、シロドシンはイヌにおける心電図に全く影響を及ぼさなかった。以上より、シロドシンの心臓再分極過程への影響は少ないものと考えられた。

以上、毒性試験において認められた変化についてはいずれも用量及び全身曝露量において臨床推奨用量との間に十分な安全域が得られており、臨床での重篤な副作用発現も予測されないことから、シロドシンのヒトでの安全性に問題はないものと考えられた。

REFERENCES

- 1) Guidelines for toxicity studies on drugs required for applications for approval to manufacture (or import) a drug (PAB Notification No. 24), 1989.
- 2) Guidelines for single-dose and repeated-dose toxicity studies (PAB Notification No. 88), 1993.
- 3) Amendment to a part of guidance for repeated-dose toxicity studies (PMSB Notification No. 655), 1999.

- 4) Detection of toxicity to reproduction for medicinal products (PAB Notification No. 470), 1994.
- 5) Toxicity to male fertility an addendum to the ICH tripartite guideline on detection of toxicity to reproduction for medicinal products (PAB Notification No. 316), 1997.
- 6) Guidelines for genotoxicity testing of drugs (PMSB Notification No. 1604), 1999.
- 7) Genetic toxicology: *In vitro* mammalian cell gene mutation tests (OECD Guidelines for Testing of Chemicals No. 476), 1984.
- 8) Genetic toxicology: DNA damage and repair/unscheduled DNA synthesis in mammalian cells *in vitro* (OECD Guidelines for Testing of Chemicals No. 482), 1986.
- 9) Safety pharmacology studies for human pharmaceuticals (draft) (PMSB Notification No. 711), 2000.
- 10) Safety pharmacology studies for human pharmaceuticals (PMSB Notification No. 902), 2001.
- 11) The nonclinical evaluation of the potential for delayed ventricular repolarization (QT interval prolongation) by human pharmaceuticals (S7B) (draft) (MHLW Communication), 2002.
- 12) Hill R. N., Erdreich L. S., Paynter O. E., Roberts P. A., Rosenthal S. L., Wilkinson C. F., *Fundam. Appl. Toxicol.*, **12**, 629–697 (1989).
- 13) Capen C. C., *Tox. Pathol.*, **25**, 39–48 (1997).
- 14) Klaassen C.D., “Casarett & Doull’s Toxicology, the Basic Science of Poisons,” 5th ed., McGraw-Hill, New York, 1996.
- 15) Takahashi M., “Principles of Toxicological Pathology,” 1st ed., Soft Science, Tokyo, 1987.
- 16) Dall’Aglia E., Chang H., Reaven G. M., *Am. J. Med.*, **27**, 85–88 (1984).
- 17) Rabkin S. W., *J. Clin. Pharmacol.*, **33**, 286–291 (1993).
- 18) Kudo M., Suzuki H., Saga K., Ichino M., Nakamura M., Nakamura T., Maruyama K., Ikai M., Hosaka K., Kojima T., *Pharmacometrics*, **33**, 453–471 (1987).
- 19) Kudo M., Ohkawa T., Nakamura M., Maruyama K., Ikai M., *Pharmacometrics*, **33**, 473–500 (1987).
- 20) Sakai T., Sakai H., *Clin. Rep.*, **24**, 5071–5084 (1990).
- 21) Lawson D. M., Gala R. R., *Endocrinology*, **96**, 313–318 (1975).
- 22) de Castro e Silva E. J., Antunes-Rodrigues J., *Horm. Metab. Res.*, **21**, 179–181 (1989).
- 23) Nasello A. G., Vanzelaer M. L., Madureira E. H., Felicio L. F., *Pharmacol. Biochem. Behav.*, **58**, 1089–1094 (1997).
- 24) Noguchi Y., Sakai T., Nabata H., Tachibana M., Shirasawa H., *Pharmacometrics*, **17**, 39–56 (1979).
- 25) Hillard C. A., Armstrong M. J., Bradt C. I., Hill R. B., Greenwood S. K., Galloway S. M., *Environ. Mol. Mutagen.*, **31**, 316–326 (1998).
- 26) Galloway S. M., *Environ. Mol. Mutagen.*, **35**, 191–201 (2000).
- 27) Kirkland D. J., Müller L., *Mutat. Res.*, **464**, 137–147 (2000).
- 28) Müller L., Kasper P., *Mutat. Res.*, **464**, 19–34 (2000).
- 29) National Institute of Health Sciences: ([http : //www.nihs.go.jp/mhlw/koukai/1998/981225/nahutopiziru.html](http://www.nihs.go.jp/mhlw/koukai/1998/981225/nahutopiziru.html))
- 30) Vonderhaar B. K., *Endocr. Relat. Cancer*, **6**, 389–404 (1999).
- 31) Ratnasooriya W. D., Wadsworth R. M., *Contraception*, **41**, 441–447 (1990).
- 32) Ratnasooriya W. D., Wadsworth R. M., *Andrologia*, **26**, 107–110 (1994).