

食品安全委員会農薬専門調査会

総合評価第二部会第3回会合議事録

1. 日時 平成18年8月28日(月) 14:43～18:08

2. 場所 委員会中会議室

3. 議事

(1) 農薬(アミスルブロム、~~オキサジアルギル~~)の食品健康影響評価について

※オキサジアルギルについては次回以降に審議することとされた。

(2) その他

4. 出席者

(専門委員)

小澤座長、石井専門委員、太田専門委員、津田(修)専門委員、出川専門委員、
吉田専門委員

(他部会からの専門委員)

鈴木調査会座長

(食品安全委員会委員)

長尾委員、見上委員

(事務局)

齊藤事務局長、日野事務局次長、國枝評価課長、中山評価調整官、都築課長補佐、
宇木専門官

5. 配布資料

資料1 農薬専門調査会での審議状況一覧

資料2 アミスルブロム安全性評価資料(非公表)

~~資料3 オキサジアルギル安全性評価資料(非公表)~~

6. 議事内容

○都築課長補佐 お待たせをいたしました。定刻を既に過ぎておりますが、ただいまから第3回「食品安全委員会農薬専門調査会総合評価第二部会」を開催させていただきます。

本日は、総合評価第二部会の専門委員には6名御出席をいただいております。また、農薬専門調査会の鈴木調査会座長にも御出席をいただいております。

それでは、以下の進行を座長にお願いいたします。

○小澤座長 それでは、本日の議事を始めたいと思います。本日の議題は、アミスルブロム並びにオキサジアルギルでございます。

開催通知で御連絡いたしましたように、本日の会議は非公開で行いますのでよろしくお願い申し上げます。

まず、資料確認を事務局からお願いしたいと思います。

○都築課長補佐 確認させていただきます。

お手元に、議事次第、農薬専門調査会総合評価第二部会専門委員名簿、座席表の他、資料1「農薬専門調査会での審議状況一覧（H18年8月25日現在）」。

資料2、アミスルブロム評価書のたたき台。

資料3、オキサジアルギル評価書のたたき台を配付させていただきます。

本日の会議には食品安全委員会の委員が2名出席しており、また関係省庁からオブザーバーとして厚生労働省、農林水産省、環境省の担当の方も出席をいただいておりますので、あらかじめ御報告申し上げます。

○小澤座長 ありがとうございます。それでは、審議に入りたいと思います。

まず、農薬アミスルブロムの食品健康影響評価について開始いたします。経緯を含め、事務局より御説明を願えますでしょうか。

○都築課長補佐 アミスルブロムにつきましては、農薬取締法に基づく農薬登録が新規に申請されております。

平成18年2月27日付けで、厚生労働大臣より意見聴取されたものです。適用の作物は、バレイショ、大豆等です。

評価資料につきましては、事前に先生方に送付しておりまして、各担当分野ごとに御確認をいただいていることと存じます。

農薬評価書のたたき台につきましては、各専門委員からさまざまな御意見を事前にいただいておりますので、これを見え消しにして作成しております。

また、予備の生データのフルセットをそちらのテーブルに並べておりますので、必要なファイルがございましたらお申し付けください。

以上です。

○小澤座長 それでは、遅れておりますし、早速審議を始めたいと思います。

まず、動物代謝です。出川先生、よろしくお願いたします。

○出川専門委員 それでは、早速説明させていただきます。

まず、資料の 6 ページの構造式を見ていただきたいと思います。アミスルブロムの化学構造式であります。

体内動態につきましては、フェニル環、ベンゼン環のところに ^{14}C で標識した化合物、あるいはトリアゾール、5 員環のところを ^{14}C でラベルした化合物、2 種のラベル体を使って、以下、体内運命試験等々が行われております。

それでは、7 ページの方をお願いいたします。「1.動物体内運命試験」についてであります。

今、申し上げました 2 種類の標識化合物をそれぞれ低用量 10 mg/kg 体重、それから高用量 1000 mg/kg 体重で単回経口投与いたしまして、それぞれの体内動態を検討しております。血漿中の放射能推移は、この表 1 のようございまして、低用量の場合は投与 2 ～6 時間後に最高血漿中濃度に達して、 $T_{1/2}$ が 18～35 時間。高用量の場合には、6 ～12 時間後に血漿中の最高濃度に達するというので、 $T_{1/2}$ は 8 ～13 時間であったということでございます。

表に書かれました数値等々は、これに間違いはないかと思います。

ここで、解釈がわからないところがありましたのは、 $T_{1/2}$ が高用量のときの方が早いです。これはどういうことかというのは、オーバーフローしたといいますか、どういうふうに解釈するのかわからないんですけれども、ちょっと難しいところがあるなど、いずれにしても、測定した値自身はこういうことだったと思いますので、 $T_{1/2}$ については解釈を考えなければいけないかもしれません。

それから、血液中放射能推移についても、この表 2 に示されたとおりでありまして、この場合も、やはり高用量投与のときの $T_{1/2}$ が低用量のときに比べて早くなっているということがございます。この辺は、下にばらつきがあるとは書いてあるんですが、かなり違うので、どういうふうに解釈したらいいのかというところがございます。

申し遅れましたけれども、この実験は両方とも Wistar ラットを使って行われております。次いで、8 ページの 5 行目からの「(2) 排泄」に行きたいと思います。

今、申し上げました値、薬物動態の投与等々に準じて排泄試験が行われております。

投与後 120 時間までの尿及び糞中排泄率が、表 3 にまとめられております。これを要

約したものが文章になっておりますが、2つの標識体を10 mg/kg体重投与したときの120時間までの尿及び糞中への排泄は、それぞれここに書いた数値でのパーセントで出てくるということです。

文章は省かせていただきますが、低用量、高用量、いずれにおいても、このものは尿には低用量で10%TAR前後、高用量になりますと1%TARとか2%TARとかそういう値になってしまいますけれども、糞中に80%TAR以上、ほとんどのものが出てくるということです。

ここの数値のところ、表あるいは文章の高用量投与1000 mg/kg体重の雄の尿のところ、今、3.8%TARという数値になっておりますが、これは2.8%TARではないかと思っておりますので、事務局の方で一度確認をしていただければと思います。

その他は、数値等々はよろしいのではないかと思います。

○小澤座長 先生、今の点ですが、11～12行目の「尿及び糞中への排泄はそれぞれ0.94～3.80%TAR」の「3」を直すということですね。

○出川専門委員 そうです。これも2.8%TARだと思います。

それから、表の中の、今、申し上げました1000 mg/kg体重の高用量の雄の尿のところ、3.80%TARになっておりますけれども、これも2.8%TARではないかと思っております。

次に「(3)胆汁排泄」に移らせていただきたいと思います。

標識化合物の投与は、今まで申し上げましたようなものと同じような投与方法で、これは胆管にカニューレション処理をして、投与48時間後までの胆汁を集めて、以下、分析したということでございます。

尿と糞中の排泄率が、次のページの表4にまとめられております。この場合も、まず低用量でやると、胆汁中の排泄率は雌雄ともに約40%が胆汁中に排泄されるということがあります。残りの放射能は、9ページの2行目に書いてございますけれども、糞中に大体44%排泄されたということでもあります。

高用量の投与になりますと、尿中の排泄率は雌雄ともに非常に低くなって、1～3%程度になってしまって、ほとんどが糞中に排泄されるということでございます。これが表4にまとめられておりまして、全く吸収されない部分もありますし、この後、また御説明いたしますけれども、胆汁に排泄されて糞から出るというような両方のルートがあるわけですが、何にしろ、この化合物は尿ではなくて糞にたくさん出るということでございます。次に「(4)体内分布(単回投与)」の結果を御説明させていただきたいと思います。ここでは、私、よく言うことがあるんですけども、どうしてラットの種類を、

前の実験は Wistar で、どうして今度は SD でやるのか、この辺の整合性が私はわかりませんが、ここでは SD ラットを使って、低用量と高用量、先ほどと同じような形で実験が行われております。

ここで組織分布、体内分布を見ているわけでありましてけれども、ここに書いてある文章自身は、数値が一部変えられている部分が 17 行目とかにあると思いますが、基本的にこれでよろしいかと思えます。

表 5 で、どういう臓器に集まりやすいかを見ていただいた方が多分よろしいのではないかと思います。低用量で与えたときになかなか吸収されないということもあって、 T_{max} の付近ですと消化管とか何かに非常によく残っている。これは高用量でも同じです。

これは、テーブル 5 の右側の方、120 時間後の最終試料採取時間で見ますと、臓器では肝臓、腎臓に割合長時間残るといった特徴があります。それでも、そんなにべらぼうに多い残り方ではないんですが、あえて言えば、肝臓とか腎臓とかそういった臓器に残存しやすいということでございます。

次に、10 ページの「(5) 代謝物同定・定量」に移らせていただきたいと思えます。

ここも、文章自身はここに書かれたようなことで、表を見ながら説明した方がよろしいかと思います。それで、11 ページ、12 ページにまとめられた表を見ていただきたいと思えますが、その前に抄録の IX-27 ページを見ていただければと思います。

ここでは、単回投与の代謝物等々の分析と同時に、反復投与でありますとか、その後、肝灌流との関係での代謝物の同定等々がいろいろ行われております。この抄録 IX-27 ページに主な代謝のルートが書かれております。

一番左の A というものが原体であるわけですがけれども、上のルート、ずっと右の一番上の列は主に糞から出てくる代謝物です。途中、胆汁等々からも出て、胆汁からはほとんど抱合体になって出てくるわけですがけれども、上の列は、今、言いましたように、糞とか、胆汁とか、そういったところから検出されるものであるというふうに御理解していただきたいと思えます。

次の 2 段目のところとか、化合物の括弧の番号で言いますと、D とか、E とかがありますね。そこも糞に出てまいります。

その他に、肝臓での代謝物。肝臓中からもこういったものが見えてきます。それから、血液からも見えてきます。

この真ん中のルートのもは、肝臓、糞、血液等々に代謝物として検出されるものでございます。それぞれ最終のところ、化学構造式は書いてございませんが、抱合体と書か

れている部分、W とか、V とか、Y は全部、胆汁から見つかるものであります。

それから、尿中の代謝物として見つかったものは、3 段目、ちょうど図の真ん中辺に IT-12 (J) というものがございませう。この J が尿中の主な代謝物です。

もう一つ、一番下の IT-10 (H) と書いてありますけれども、これも尿中の代謝物であります。

こういった代謝物が、今、申し上げましたように糞中とか、胆汁中とか、血液とか、尿から見つかる。そういうことを御理解いただいて、そのまとめられたテーブルが 11 ページ、12 ページの中で示されているものでございませう。

表 6 については、今、申し上げましたように、低用量、高用量ともに、記号で書かれておりますけれども、胆汁、尿、糞、肝臓及び血漿中からはそれぞれ、今、申し上げました化合物が括弧内の %TAR で見つかったということございませう。

この数値で、ほとんどこれでよろしいかと思いますが、細かなところで、11 ページの 10 mg/kg 体重の雌の血漿、一番下の欄で「その他」というところがあります。ここが、今、12.4%TAR となっておりますが、これはひょっとすると 10.1%TAR ではないか。この辺も、大きな問題ではないのかもしれませんが、数値が違っている可能性があるのでは、事務局の方でもう一度御確認いただきたいと思ひます。

もう一回、抄録 IX-27 ページを見ていただきたいと思ひますけれども、この代謝ルートを総括して、11 ページの 6 行目からこの代謝の反応の説明がございませう。こういう代謝パターンを踏まえ、この文章では「以上より、ラットにおけるアミスルブロムの代謝反応は、主にトリアゾール環側鎖の開裂 (D)、インドール環側鎖の水酸化 (B)、これらの両反応 (E)、インドール環の酸化 (I) / 水酸化 (C 及び F) 及びグルクロン酸抱合化 (X 及び V) であった。また、インドール環の開裂 (H、M 及び T)、トリアゾール環の転位 (J) 等の反応も確認された」ということございませう。代謝のまとめが、こういう言葉になっているということございませう。

12 ページでございませうけれども、反復経口投与の実験を、今度は Wistar ラットを使ってやられております。これは低用量の非標識の化合物で 13 日間反復強制経口投与をして、14 日目にトリアゾール環のラベルをした化合物を投与してあります。

どうしてトリアゾール環のラベルを投与したかというのが、6 行目、括弧内で説明されています。「投与 120 時間後の血液中放射能濃度は ind-¹⁴C-アミスルブロムよりも tri-¹⁴C-アミスルブロムの方が高かった。トリアゾール環のみを有する代謝物の血液への残留性を明らかにすることも考慮し、本試験では tri-¹⁴C-アミスルブロムを使用した」というこ

とでございます。

排泄、分布、代謝について、ここに書かれている文章はこのままで結構かと思えます。

このまとめられたものが 13 ページにございまして、表 7、表 8、表 9 という形でまとめられております。これも先ほどの単回投与のときのデータと非常に似ておりまして、こういう反復投与をしても主な代謝物は糞中に出るということでもあります。これは単回投与と反復投与と変わらないということでございます。

主要組織で、残存する組織でございますけれども、これも大きなところはございませんで、単回のときに比べると血球にかなりの部分が残るということがありますけれども、反復投与したときに肝臓とか腎臓に多く残る。これも基本的には単回投与の場合と変わらないということになるかと思えます。

代謝物についてで、これは表 9 にございましてけれども、先ほど抄録 IX-27 ページのところで説明させていただきましたけれども、これも基本的には単回投与のときと同じような代謝物が検出されるということでございます。

次に「(7) 腸肝循環 (ラット)」というところに移らせていただきたいと思えます。

この腸肝循環の実験をやるに当たりまして胆管カニュレーション処置を施した Wistar ラットを使っておりますが、それに原体のフェニル環の方をラベルした原剤を経口投与して、まず胆汁酸を採取します。この胆汁酸を採取して、そこには代謝物が入っているわけですが、それを十二指腸内に入れてどういった形に組織分布するかを見た実験であります。

ここの文章に書かれていることは、このままで結構かと思えますので、結果等々の表 10 の方を見ながら説明していきたくと思えます。

そういった形で処理しますと、胆汁中に 0 ~ 24 時間で 34%TAR、糞中に 14.2%TAR、消化管に 39.0%TAR という形で、これは投与 24 時間後までの結果でございますけれども、表 10 にまとめられたような形で分布するということでございます。

表 11 の方について説明したいかと思えますけれども、その前に 12 行目からの文章を読まさせていただきます。

「投与後 24 時間までの胆汁に投与放射能の 34%TAR が排泄され、尿及び糞中にはそれぞれ 9.5%TAR 及び 14%TAR が排泄された。肝、消化管及び屍体中の残存率はそれぞれ 0.9%TAR、39.0%TAR 及び 3.6%TAR であり、全体で投与放射能の 100%TAR が回収された。胆汁中排泄、尿中排泄、肝中残存及び屍体中残存の合計より、消化管からの胆汁の再吸収率は 48%TAR と計算された。

胆汁、尿及び糞中代謝物は表 11 に示されている。

¹⁴C-投与後の胆汁中に確認された代謝物は、I、V、X 及び Y であった」。これは、先ほどの抄録 IX-27 ページを御参照いただいたらと思います。

酵素処理というのは、β-グルクロニダーゼとかそういった処理を行ったという意味でありますけれども、「また、酵素処理によりアグリコンとして B、C、D、E、F 及び I が検出された」。逆に言いますと、こういうもののグルクロナイド等々が出てきたということでございます。

「これらの代謝物の組成は、ind-¹⁴C-アミスルブロム投与後の胆汁とほぼ同様であった。糞では B、C、D、E 及び F が、尿では F 及び H が検出された」ということで、これに間違いのないデータだと思えます。

次のページに行きまして「ラットに投与されたアミスルブロムは吸収後代謝を受け、主に胆汁中に B、C、D 及び E の抱合体として排泄されるが、その約半分が消化管より再吸収された後、再び主に胆汁中に排泄された」。これも、そのとおりだと思います。

「再吸収後の胆汁中代謝物は概ねアミスルブロム投与後の胆汁中代謝物と類似していたが、C、E 及び F の抱合体比率が増加しており」、これはどういうことかといいますが、表 11 の代謝物 C の酵素処理のところを見ていただきたいと思いますが、0.8 です。これは再吸収後胆汁のところは 2.4 になっています。

それから、同じようにして見ていきますと、代謝物 E、D、F のところ、みんな再吸収後の胆汁の云々は増えております。そういったことを意味しているわけでありまして。「再吸収によりさらに代謝を受けるものと考えられた」ということでもあります。

この(7)の C、E、F というところで、本当は D もそうではないかと思うんですが、あえてここに C、E、F としているのは、表 11 を見ていただきたいんですが、B の抱合体の量が 1.3 から 0.7 に減っています。

この B というものは、抄録 IX-27 ページを見ていただきたいんですが、代謝ルートの原因から一番上に、すぐ右に行った最初の IT-2 が B というふうに相応するんですが、このものが減って、C とか、E とか、F から派生する代謝物です。それが増えているということなんです。

だから、こういった、この先の新たに代謝が促進されたということ、この文章は言いたいわけで、この 15 ページの 7 行目の、今、申し上げました「C、E 及び F の抱合体比率が増加しており」という文章の前に「B の抱合体が減少して」という言葉を入れていただくとわかりやすいのではないかと思います。だから、B が更に C とか、E とか、F

に代謝され、腸管からの再吸収後、B が C とか、E とか、F に、また肝臓で代謝されて、それが抱合体になって出てくるということを意味しているのだと思います。そこを加えていただいた方が、文章が読みやすいのではないかと思います。

以上でございます。

○小澤座長 どうもありがとうございました。

事務局から、幾つか問い合わせがありますけれども、そこはいかがでございましょうか。例えば 12 ページの表 6 の下、表 14 中の「 \leq 」についてはどうでしょうか。

○出川専門委員 これは、このデータの意味合いを問い合わせ、きちっと意味合いを説明していただいて、フットノートか何かに入れていただければいいのではないかと思います。

○小澤座長 私も、そのように思います。よろしくお願いします。

○都築課長補佐 わかりました。

○小澤座長 もう一つ、15 ページの動物代謝の一番最後の部分にある Y のことですが、これはどうでしょうか。

○出川専門委員 これも、事務局が調べるより問い合わせたらよろしいかと思います。

○小澤座長 それでは、これも併せてよろしく願いいたします。

○都築課長補佐 わかりました。

○小澤座長 どうもありがとうございました。

今の御説明に対しまして、何か御質問等がございましたらお願いいたします。

どうぞ。

○吉田専門委員 すみません、直接、今、御説明を受けたこととは別に、毒性で、今回、投与期間とともにラットで肝細胞の肥大とかの他に、胆道系と思われる GGT の値とかが増えてくるのですけれども、胆管への直接の影響を示唆するような代謝というものはありますか。

○出川専門委員 多分、本当の答えはわからないというのが正直なところで、胆汁から出る代謝物は、皆、抱合体になって出ているので、抱合体自身が何か悪さをするというのは非常に考えにくいと思います。だから、そういう意味ではわかりません。

○小澤座長 私も、その点に関しては同様に思います。

その他にも、事務局からのお問い合わせがありましたので、申し訳ありません、ちょっと戻らせていただきますと、10 ページのところに、私から「臓器によって検出限界が変わることがありうる」ということを申し上げました。例えば表 5 の 10 mg/kg 体重の雄、一

番上のところですが。これは直す前ですと「その他 0.02 未満」ということになっているんですけども、それにしても、それにしても「消化管 (0.010)」があるのではないかとというような意見が出てくるのではないかと思います。

これは、恐らく臓器のごく一部を取ってアイソトープをはかるので、かける係数にもよるといふことなんですけれども、当然、臓器の重量によって検出限界が変わってくるということはあるので「その他検出せず」ということで私はよろしいかと思います。ですから、そういうことでよろしく願いいたします。

他には、何かありましたか。

それから、幾つかの数値のことで出川先生から御指摘いただいたのは、そのとおりでございます。

1 点だけ、私が気がついたのが 11 ページの表 6 でございますけれども、出川先生が御指摘くださった 10 mg/kg 体重の雄の血漿のその他が 10.1 ではないかというところなんですけれども、その前の H が 4.0 が 1.1 ではないかという気がするのですが、そこを併せて御確認いただければと思います。よろしく願いいたします。

私からは、以上でございます。

それでよろしければ「2.植物体内運命試験」に移らせていただきたいと思います。石井先生、よろしくお願ひします。

○石井専門委員 それでは、植物の代謝を説明いたします。

植物は、ブドウとバレイショ、トマトの 3 種類で試験が行われております。ブドウの場合は、野外の木を使いまして、20% の製剤をラベル化合物と非ラベル化合物で作りまして、それを実際に散布するような形で薬剤を投与しております。ブドウの果実と葉っぱ、両方を収穫しまして、その推移を観察しております。

抄録には、フロアブルと書いてあります。俗に、業界ではこういう製剤のことをフロアブルと言っておるんですけども、いわゆるサスペンション・コンセントレートというもので、水に溶けにくいものを水を基材として製剤をつくるというものです。要するに、懸濁している状態の農薬です。

これをブドウに散布しますと、ラベル位置によって違うなどということは普通ないんですけども、これはばらつきだと思っただいて、散布直後は 0.5 ～ 1 ppm 程度の残留で、それが 2 週間経ちますと半分ぐらいずつに減るという状態で、この剤そのものはほとんどが表面にくっついていて、洗浄液でほとんど取れてしまいます。

この剤のもともとの特性が、水に 0.1 ppm ぐらいしか溶けないのと、それから、オク

タノール/水分配係数が 4.4 というような状態で、そういうものは大体、表面にとどまっておりまして、中に浸透するようなことが少ないということが一般論で言えると思います。

そういうものですから、これはアセトニトリルで洗浄しますので、有機溶媒で表面をふき取ったような感じになるんですが、洗浄液でほとんどの放射能が取れてしまいます。事務局で書いていただいたことが間違っているわけではないんですけれども、その辺、細かく書いておられるところを少しはしょって書いたものですから、いちいちやっているとどこへ何を入れたかがわからなくなってしまうものですから、全面的に書き直したような形になっていますけれども、同じことを言っております。

そういう状態ですので、代謝というものをほとんど受けません。ほとんどが表面に残っていて、その表面のほとんどが親化合物であるという状態です。その辺が、この 19 行目から標識化合物の一方のもので書かれております。インドール環標識がそういう状態で、トリアゾール標識の場合も、多少数値が違いますけれども、状況としては同じことが言えます。

代謝物としましては、細かい代謝物がたくさん出てまいります。残留物の 9 割ぐらいが親そのものなので、代謝はほとんど受けておりません。わずかに少量のものが、私、自分では原本の名前を付けて、後で B とか、C とか、D とか入れてみたんですけれども、これは全体を統一するように B とか、C とかに直していただければと思います。

ただ、IT と付いているものはインドールとトリアゾールとがくっついているという意味ですので、わかりはいいんですけれども、ABC で書かれると余計わからなくなってしまうんですけれども、そういう意味で、I というのはインドール環、T というのはトリアゾール環のものということで、見ただけでわかりやすいんですけれども、これは全体を合わせていただくということです。

そういう状態で、葉っぱでは果実よりももっと高い数 ppm の濃度で残っておるんですけれども、この場合も表面に半分以上が残っておりまして、残渣は多少多くなるんですけれども、やはり主たる残留物は親化合物そのものであるということが言えると思います。

この中で、トリアゾール環で標識した方が放射能としては多少は残りやすいので、特に葉っぱの抽出液などでそれを調べておるんですけれども、何がどうなっているということがわかったわけではありませんけれども、どうもトリアゾール環というものは生体的なじみといいますか、同化されやすいような性質がありまして、トリアゾール環を持っている殺菌剤というものは実は他にもあります。

その中では、トリアゾール環だけがいわゆる可食部に移行して、そこにある程度残るよ

うなものもありましたものですから、多分、そういうことを承知した上でトリアゾール環のことをインドール環よりは調べているんですけども、特に何か多く残っているというわけではなくて、実はトリアゾール環はトリアゾールアラニンとかトリアゾール酢酸というものができるとは思いますが、そのものは既に FAO/WHO でも安全性の評価がされておりまして、特に問題になるような化合物ではありませんが、そういうものがこれでもできるのではないかとということで調べてあります。特に、そういうものがブドウでは見つかったということではありません。

同じように、散布したときに、1つだけ被覆をしてそういう果実を調べましたところ、ほとんど放射能が移行していないということから、このものは葉っぱから果実に移行することはほとんどないということを証明したことになります。

代謝全体の話は、後ほど植物全体で話をしたいと思います。

次に、17ページの「(2) ばれいしょ」なんですが、バレイショの場合もポットに植えたバレイショに同じ製剤を散布するという形で試験がされております。

葉っぱにかけておりますので、このものは先ほどと同じように移行性はほとんどありませんで、インドール環では放射能のレベルというのは非常に低い。それからトリアゾール環でもインドール環標識よりはわずかに高いんですけども、それでも 0.01 mg/kg のオーダーの残留しか検出されておられません。ですから、イモの塊茎の中の放射能の同定についてはこれ以上はできないということで、詳しいことはやっておりません。

トリアゾールの方については、0.1 を超えているということから同定作業をやっておるんですけども、同定するところまでは行っておりませんで、酸で分解したり、酵素で加水分解したり、ソックスレーでもっと強烈な抽出を行ったり、そういうことをいろいろやってみているんですけども、結局、例えばあらかじめ標準品をつくって、それと比べても、そこに該当するものがない。それから、いろんなアミンの試薬だとか何かと反応させておるんですけども、これとも反応しない。この場合はトリアゾールアラニンとか酢酸についても調べておるんですけども、似たような挙動をするものはあるようですが、結局は一致はしなかったというようなことを言っております。

イモの方は、非常に残留濃度が少ないんですけども、葉っぱの方はやはり数 ppm の残留が認められておりまして、それが 14 日ぐらい経ちますと半分ぐらいに減るといえるんですけども、これも、そのもの自身は残留主体は親なんですけども、これの残渣につきましてもいろんな抽出、加水分解を行いまして、可溶化はしているんですけども、それが何であるかというところの同定までは至っておりません。

代謝物につきましては、ここに書いてあるような、細かい代謝物はたくさんできてくるんですけども、いずれも非常に濃度としては少ない。特に、これはブドウの代謝物とそう変わるものではありませんので、やはり主たる残留物としましては親化合物である。これがバレイショの場合です。

トマトの場合、トマトとバレイショは同じナス科ですけども、トマトは地上部に実がなるということで、トマトに散布をする形で試験が行われておりまして、やはり表面洗浄で9割ぐらい、ほとんどの放射能が取れてしまって、その大半が親化合物そのものであります。

この残留放射能は、非常に抽出性もよくて、残りのものもかなり抽出されてしまいました。その抽出液の中からも親化合物が出ています。ですから、果実中の代謝物、残留放射能のほとんどが親で、その他、少量の代謝物がたくさん見つかっております。

それと、葉っぱの方が濃度が高いものですから、これにつきましては細かく分析できるものでやりまして、この方が8~9割がアセトニトリルの洗浄液で取れてしまいまして、そのほとんどが親化合物であります。この状況は果実の方と同じでございます。

全体的に、3つの作物の試験の代謝経路につきましては、私、別紙で説明資料を付けておきましたけれども、多分、こういう反応が起こるんだろうということです。

まず、植物で起こる反応としましては、トリアゾール環にジメチルスルホン酸アミドの形で付いている尻尾が取れるという反応が起こって、その次にインドール環の CH_3 がありますが、そこが水酸化されるような反応。それから、ブロムが取れますと、どういうわけか、トリアゾール環のくっつく位置が変わるようなことが植物の代謝物の中で出てきております。

あとは、メチル基のところの水酸化されると、インドール環の6員環の方、ベンゼン環の方に水酸基が入るといったものもできております。

それから、今度は臭素が取れますと、更に水酸化が進みまして、インドール環の5員環のところは切れまして、スルホン酸アミドの形でベンゼン環とトリアゾール環が結ばれているような化合物ができてきています。

もう一つは、更にそれが進みますと、トリアゾール環に付いているジメチルスルホン酸アミドがはがれまして、それぞれが、いわゆるIとかTとかという頭文字が付いている化合物に分かれていく。

こういう反応が起こりまして、この反応が、どれがメインに起こるといえるのではなくて、いろんなところで同時並行的に起こっているようで、主たる代謝物というもの、これが一

番だというものがなくて、かなり細かいものがたくさんできてくるというのが植物上の代謝のようですけれども、メインの残留物は親そのものです。

残留放射能全体の 10% を超えて残るようなものは親しかありませんので、規制対象などは親化合物でよろしいのではないかと考えております。

植物代謝は、以上でございます。

○小澤座長 ありがとうございます。ここままで、どなたか御意見・御質問などはございますでしょうか。

オクタノール/ 水分配係数が非常に大きくて、水に溶けにくく、中に浸透することが少ないという、非常にわかりやすい御説明だったと思いますし、代謝物は量的に非常に少なく、幾つもあるんですけれども、どれがメインとは言えないという辺りで、動物と非常に似ているところがあると思いついて伺っておりました。

○石井専門委員 あと、もう一つ、動物の代謝のリストと植物の代謝のリストを見比べてみましたけれども、どちらも、特に植物だけしかないというようなものはどうもなさそうだと見ております。

○小澤座長 そうです。それも、この剤になかなか特徴的な、面白いことだと思って見ておりました。

それでは、よろしければ、次をよろしくお願いします。

○石井専門委員 次は、土壌中の代謝なんですけれども、これはアメリカの方で試験が行われておまして、よくやるんですけれども、あまり農薬や肥料が使われていないような土を取ってきて、それをふるって、試験をしやすいようにして、あと、水を調整してやります。

この場合、0.33 パール、75% などと書いてあるんですけれども、実は 0.33 パールというのはちょうど圃場容水量というものに相当する量でして、イメージとしては、雨が降った後 1 日ぐらい経ったときの畑の状態とさせていただければいいんですけれども、その 75% ぐらいの水分に調整します。そういう状態で薬剤を添加しまして、添加量は乾土換算、水分を加えない状態で 0.5 ppm に相当するようなものを加えて、25 度で約 1 年間観察しております。

アミスブルムそのものは、1 年間経ちますとほとんどなくなってしまいます。一番減った分解物としましては IT-4 ですから、私のメモはそう書いてあるんですが、尻尾、トリアゾール環に付いているジメチルスルホン酸アミドがちょん切れた形で、このものが 1 か月ぐらいのところで処理放射能の約 30% に達しまして、1 年後にはそれが 10~15%

に減ります。

その次に多いのは、IT-5 ですから、インドール環のメチルが水酸化される形です。こういうものが出てきます。

その他は、IT-14 という化合物なのですが、IT-14 というのは、面白いことにジメチルスルホン酸が取れた後にメチルが入るというもので、メチル基が導入される。こういうものが最大 8% ぐらいまでできることがあります。だけれども、全体的に 10% を超えて生成したものは IT-4 ですから、ジメチルスルホン酸アミドの部分といいますか、尻尾が取れたような IT-4 というものがたくさん生成したということです。

その他に、更に分解したものとしまして、細かい分解物がたくさん出てまいります。最終的には両方が切れて、参考資料で渡しました 3 ページ目のところに、大体、主たる反応経路を図で書いておきましたけれども、あとは臭素が取れて、そこが酸化されて、インドール環が開裂するというような反応が起こります。これも植物と似たようなところがありまして、たくさんの分解物が出てまいります。こういうものとしては IT-4 というものです。

半減期としましては、親そのものは 17 日で、90% 消失期間が 56 日。主分解物の IT-4 につきましては、半減期は親よりは長いですが、34 日。それから、90% 消失期間が 114 日と、親よりは多少長くなっております。

これは、炭酸ガスにはあまり出てまいりませんで、普通でしたら炭酸ガスまで土の中で分解されることが多いんですけれども、この場合はインドール環標識の方が 3% 超、それから、トリアゾールに対しては 1% にもならない。ほとんどが、土の中の有機物の結合残留物というような形で取り込まれてしまうという反応が起こっております。

土の中の反応は、そういう状況です。

もう一つ、今度は土の表面でどうなっているか、土の表面での光分解についても試験が行われておりまして、同じようなことで、シャーレの中に仕込みまして上から光を当てるといったような形の試験が行われております。

この場合は、先ほどの試験よりは短くて、15 日間の試験をやっておりますけれども、できてくるものは同じように IT-4 というようなものです。ですから、これは D が出てきます。これも二酸化炭素の発生量が非常に少ない、土壌中の散布試験と同じです。

それで、暗所対照区というものを設けておるんですけれども、光を当てても当てなくてもあまり分解速度に差がなかったというようなことが試験としては出ておりまして、半減期もほとんど差がありません。

土に付けますと、土の表面にくっついてしまうものですから、光がどこまでそこに作用したかということが、こういう試験ではいまいちはっきりしません。

結果としては、光を当てても、当てなくても、そんなに差はなかったというようなことです。

ただ、光を当てると何が違ったかといいますと、実はインドール環が開裂したものが当てなかった場合よりも多い。もう一つは、インドール環の場合の酸化されて切れる直前のようなもの、IT-9とか、IT-11とかが、多少、光を当てた方が多いというようなことがわかっております。

この場合、先ほど半減期が幾らかということなのですが、これは31行目辺りに書いてありますように、光を当てて12.5日、当てない場合は10.9日ですけれども、ほとんど差が出てきていないということが言えます。

「(2) 土壌表面光分解試験」は、そんなところだと思います。

23 ページ「(3) 土壌吸着試験(アミスルブロム)」なのですが、これは先ほどオクタノール/水分配係数4.4と言いましたように、非常に吸着されやすいということで、6行目に吸着係数がありますが、これは単に土に対する吸着率が書いてありますが、約150~400。普通でしたらもう一けたぐらい小さいところの数字が出るんですけども、やはりオクタノール/水分配係数が4.4と高いということから、非常に土に吸着されやすい。有機炭素で補正すると数万に達する。ですから、水の方にはほとんど溶けてこないで土にくっついてしまうということが言えると思います。

よくできるという分解物Dにつきましても、同じような試験をやっておりまして、これは親よりは多少低いということから、全体的に吸着係数は小さいんですけども、それでもこれだけ吸着係数があると、ほとんど土壌中での浸透移行はないと考えられます。

それから「4.水中運命試験」。これは加水分解をやっております。

「(1) 加水分解試験」は、お決まりのpH4、pH7、pH9で試験をやっておりまして、30日間観察をしております。これはあまり水に溶けないものですから、水に溶ける濃度の大体半分をねらいまして、0.05 mg/L というような低い濃度で観察をしております。

酸性側と中性側では、ほとんど分解はしないんですけども、アルカリ側、pH9になりますと急速に分解が進みます。分解物としましては、やはりIT-4、Dがたくさん出てまいります。

そこまでいきますと、今度は環が切れるというんです。IとTが分離するようなものが出てまいります。それが、特にpH9ではトリアゾール標識の場合でも、インドール標識

の場合でも、7割ぐらいが切れた生成物が生じてまいります。

水の中での主な加水分解経路につきましては、これも参考資料に付けておきましたけれども、一番起こりやすいものがジメチルアミノスルホニルという尻尾が切れる反応です。それで D ができる。

それから、今度はインドール環とトリアゾール環が別々になる、いわゆるスルホニル結合のところがちょん切れるという反応が起こります。

あとは、臭素が取れますと、今度は酸化されてカルボン酸ができてくるというような反応が起こります。だから、割合、アルカリ性では加水分解を受けるということが言えると思います。

今度は、光分解が 24 ページのところにあります。これはお決まりのキセノンランプで 290 ~ 800 nm ぐらいの光を照射するんですけども、光ではある程度、分解されやすい。48 時間では検出されなくなるぐらい分解が進みます。そのときには、分解物としてはインドールとトリアゾールが切れたようなものが 48 時間後に半分以上を占めるようになります。

この中では、やはり光分解ですので、光が関与した反応で、更にそれが水酸化されたり、特に緩衝液の中では 2 量体ができている。参考資料の一番最後の 2 ページ分がそうなんですけれども、これは自然水の中ではできないんですけども、pH4 の緩衝液の中では I-5 というもの。これは、この場合につかまっているわけではないんですけども、多分、こういうものを経ていくだろうということを想定しているんですけども、それが 2 分子くっついたようなものが結構できている。こういうものが 6 時間後に 20% ぐらいに達していますので、更にそれが分解して次の段階に達するというような反応が起こっております。今のインドールでは、主にそういうことが起こっているんですけども、トリアゾールの場合も、やはり 7 割ぐらいが T-1 という化合物ですので、スルホニル結合のところでインドール環とトリアゾール環が切れまして、そういうものができて、更にそれが分解が進むという形で、光分解では主に 2 つに切れる、いわゆるスルホニルの架橋部が切れてしまうような反応が起こっております。

光分解の半減期なんですけど、大体 6 時間ぐらい、光の実験条件では 90% 分解で 20 時間。これは通常、北緯 40 度、ヨーロッパの夏を想定して計算しているわけなんですけど、これで 0.49 日ぐらいで半減する。光には比較的、弱いんだらうということです。

同じことを、自然水、日本の小貝川の水を使って試験をやっておりまして、できるものは同じなんですけれども、ちょっと違うところは 2 量体ができるかできないかという辺り

が、やはり自然水と酢酸緩衝液では違っております。

なぜ違うのかといいますと、酢酸緩衝液を使いますと、多少、光の効率がよくなるのではないかと。要するに、増感作用があるのではないかとというような気もしないではないんですけども、このインドール体標識の場合で 48 時間後には 44%、先ほどはもっと分解していたものがまだかなり残っているというようなことです。

トリアゾールの場合は、もうちょっと分解が進んでおります。これはトリアゾールの場合の方が光の分解を受けやすいのかなというような気もします。

それから、細かい代謝物がたくさん出ております。やはり暗所の場合はほとんど分解が進んでいない。これは光の影響が明らかにあるということです。

自然水の中での半減期なんですが、この滅菌自然水では半減期が大体 4.数時間で、90%が 15~16 時間。それを太陽光に計算すると 0.8 ~0.9 日になるということです。

この分解物も、やはり分解の経路は植物の代謝などある程度、似たようなところがあって、要するに弱いところが切られているというような感じを受けております。

滅菌自然水が、そこまでです。

それから「5.土壌残留試験」が 25 ページに載っておりますが、これは圃場試験と容器内試験といういつもの試験なんですが、これで見ましても、圃場試験で大体 20 数日間。代謝物 D、IT-4 と言っていたものを入れて計算しても 30~40 日という半減期です。

「6.作物残留試験」につきましては、適用作物についての試験がやられておりますけれども、これは特に、この剤特有の何かがあるということではなくて、バレイショの場合はアイソトープの試験であったように、ほとんど親化合物そのものは出てまいりませんし、やはり表面に付きやすい作物についてはそれなりにくっついているということで、この残留レベルも先ほどのアイソトープの試験と非常によく似ております。

あとは、摂取量は事務局で計算していただいたので、特に私は再計算はしていません。

以上です。

○小澤座長 どうもありがとうございました。土壌中運命試験と水中運命試験は、かなり分解が進むということのようです。

それから、酢酸緩衝液と自然水では、若干異なるところがある。それで、植物体内運命と共通するところがあると考えてよろしいでしょうか。

○石井専門委員 IT-4 になっているので、そうです。

○小澤座長 ありがとうございます。

今の IT-4 のところで、動物代謝の記述を思い出したんですけども、申し訳ありません

が 11 ページに戻っていただきまして 6 ～7 行目のところなんです、これは「トリアゾール環側鎖の開裂 (D)」と書いてありますけれども、これはやはり「脱離」の方がいいと思いますので、石井先生がつくってくださった図と同じように「脱離」と表現していただきたいと思います。

以上です。

今の石井先生の御説明に関して、何か御質問その他はよろしゅうございますか。

(「はい」と声あり)

○小澤座長 ありがとうございます。

それでは、次に移らせていただきまして「7.一般薬理試験」です。これは津田先生が説明して下さるんですか。

○津田(修) 専門委員 いいですか。

○小澤座長 はい。それでは、お願いします。

○津田(修) 専門委員 「7.一般薬理試験」ですけれども、ラットを用いた Irwin 法で 200、600、2000 mg/kg 体重までやって、全く影響がないということです。

それから、イヌを用いて 200、600、2000 mg/kg 体重で、呼吸、血圧、心拍数、心電図を見て、これも影響がないということです。

イヌの方は、見ているのが 180 分までで、この剤の経口の際の T_{max} がかなり後ろにあるので、そういう面では本当に評価できているのかということもありますけれども、90 日間のイヌをやってみても 1000 mg で体重と摂餌量が少し落ちるくらいですので、これ以上やってもしょうがないですし、技術的にもこんなものだろうと思いました。

24 時間まで見た Irwin 法で全くないんですが、これは次の急性毒性とも絡みますけれども、「8.急性毒性試験」は経口投与をして、最大量 5000 mg/kg 体重までやって、全く何もなかったということです。

ちょっと書いておきましたのは、前は「LD₅₀」という表現になっていたんですけれども、LD₅₀ を見ているわけではないので、概略の致死量という意味で「致死量」の方がいいかなと思いました。

経皮に関しても、5000 mg/kg 体重までやって、全く影響がありませんでした。

吸入に関しては、本来、5 mg/L くらいまでするものなんですけれども、技術的に可能な最大量 2.85 mg/L でやったという結果が出ていますが、これも、この剤でこんなものだろうと思いました。

そこで、症状として「排泄物による被毛の汚れ、被毛湿潤」と書いてありますが、鼻部

暴露をしている場合は必ずこうなりますので、少なくとも薬物によるものではない。それで「症状」をやめて「毒性徴候」として、毒性に関係のないものは切った方がいいと思って、そのようにしてみました。

それから、今、石井先生の方からも御説明がありました、特に土壌中の代謝物の D、あと、植物などであるという G ですが、D でやってみると、これは強くて、50 mg/kg 体重では全部生きていたのですが、300 mg/kg 体重で全動物が死亡しました。死亡した動物では、軟便とか、腹部がちょっとへこんだり、運動失調、呼吸困難が出ていました。そして、植物代謝物の方の G では、2000 mg/kg 体重でちょっと症状は出たんですが、死亡がないということです。

これに関して、特に代謝物 D については毒性がかなり強く出たんですが、今、先生方から御説明いただきまして、代謝の方で、少しではあるけれども動物体内でも出るということであって、急性の結果があって、変異原性で陰性が出ていますので、代謝物についてはこれ以上やる必要はないのではないかと考えて見っていました。

次に「9.眼・皮膚に対する刺激性及び皮膚感作性」です。

まず、皮膚では4時間に1回やって、全く影響がなかったんです。更に、これは後で説明があると思いますが、21日間の反復経皮で6時間を毎日繰り返して、ほとんど何もありませんので、それから考えても、皮膚刺激性は極めて弱いということであろうと思います。眼に対する刺激性もやっております、これに関しては軽い刺激性が認められましたけれども、結膜に対するものだけであって、しかも、その程度も低いので、これはほとんど問題にする必要はないと思いました。

皮膚感作性に関しましては、Maximization法を使っていますので非常に感度はいいんですが、これは全くありませんでしたので陰性だろうということです。

それから、これは御相談なんです、ここに急性神経毒性と、反復の神経毒性がなされていないんですが、どうしてなされていないかといいますと、急性から見て全くそういう症状もない。いろんなものから見ても、それをする必要がない。

それから、反復を見ましても、次に90日間の説明があると思いますが、亜急性から見ても体重が減るとか、摂餌量が減る以外はほとんど神経的なものはありませんし、病理学的に見てもないということで必要がない。

私もそうと思いますが、その場合、今までどうしましたか。ここに書きましたか。書かなくていいんですか。全く書かずにおきますか。それとも、何々がないのでこれは必要がないということをごここに書きますか。

○都築課長補佐 過去には、書いておりません。

○津田（修）専門委員 そこだけです。以上です。

○小澤座長 どうもありがとうございました。

代謝物 D は、原体などに比べると強い毒性があるけれども、この動物体内での生成量の低さから考えれば大丈夫であろうということです。ありがとうございます。

○津田（修）専門委員 そういう意味ではなくて、動物でも少しはあるので、その安全性に関して長期投与をやれば、ある程度、そのものが組み込まれていると考えて、あえて、これを別にとりたてて実験をする必要はないでしょうという意味です。

○小澤座長 わかりました。ありがとうございました。

急性神経毒性、反復神経毒性についてのことは、これでよろしいわけですね。

それでは、先に進めさせていただいてよろしゅうございましょうか。

（「はい」と声あり）

○小澤座長 それでは「10. 亜急性毒性試験」です。よろしくお願ひいたします。

○吉田専門委員 申し上げます。評価書（案）たたき台 29 ページから「10. 亜急性毒性試験」が Wistar Hannover ラット及び ICR マウス、ビーグル犬を用いて行われております。あと、21 日の経皮は SD ラットで行われています。

まず、ラットの 90 日間亜急性毒性試験ですが、0、2000、6300、20,000 ppm を混餌投与で 90 日間投与しております。

認められた変化は、たたき台 29 ページの表 19 に記載されたとおりです。雄で上の 2 ドーズ、雌では最高用量群にのみ変化が認められております。雄の方が強い変化が出ております。

主に、雄で見られました変化といたしましては、ALP の増加及び、先ほど申し上げました GGT の増加が一番激しくて、コントロールの 4 倍が認められております。

その他、軽度に BUN 等の増加も認められますが、あまり大きなものではありません。また、体重等も増加抑制がかかっておりますので、その関連で TP が下がっております。

病理といたしましては、小葉中心性の肝細胞肥大が認められておりますが、これは ALP が上がっていたり、また、今後出てまいります、酵素誘導等がかかったりしておりますので、考えられる変化だと思っておりますが、この 2000 ppm の雄の下に書かれております変化のうち、下顎リンパ節及び腸間膜リンパ節の赤血球増加症及び赤血球貪食という所見が増えております。

この原因は慢毒でも認められた変化ですが、意味合いがよくわからない変化であります。

しかし、この下顎につきましては、元データを拝見いたしますと用量相関性が認められませんので、ここに記載しておりますが、下顎については削除してもよろしいのではないかとこのように思っております。

これらの変化を基に、雄では 2000 ppm、雌では 1 つ高い 6300 ppm を無毒性量としております。雌でも、肝臓重量が上がっているのですけれども、その肝臓重量の上がりだけで、雄で認められたような肝障害に関わる変化が認められませんので、この雌の肝重量の増加というのは影響としなくてもいいのかなというように私は思いましたので、毒性所見のところには記載しませんでした。

引き続き、申し上げます。ICR マウスを用いた 90 日間亜急性毒性試験ですが、これはたたき台の 30 ページです。0、800、2500 及び 8000 ppm で行っております。

この認められた変化が、30 ページの表 21 に認められております。雌雄とも最高用量群と、その下の 2500 ppm で変化が認められております。

認められている変化は、肝臓に関するものなのですが、実を申しますと、この試験は病理組織学的検査が行われておりません。この理由が私はわからないのですが、肝臓の比重量の増加等が雌雄で 2500 ppm で認められているにもかかわらず、なぜ病理組織学的検査を行わなかったのかという理由がわかりません。

病理組織学的検査の問題を除き、変化が認められたものは、この表のとおり上の 2 ドーズだけですので、無毒性量はもし病理組織学的検査に何も変化がなければ、雌雄とも 800 ppm ということになりませんが、そういうふうに 800 ppm としていいのかどうかということについて、先生方の御意見を伺いたいと思います。

続きまして、90 日間のイヌの亜急性毒性試験ですけれども、こちらは 0、100、300、1000 mg/kg 体重/日で、強制経口で試験が行われております。

イヌでは、あまり大きな毒性変化は認められませんでした、表 22 に記載されております。最高用量群で雌雄とも、これは投与初期だけですが、体重増加抑制、あと、摂餌量の減少などが認められております。雌のみで ALP の増加が認められております。

この結果から、無毒性量は 300 mg/kg 体重/日となっております。

しかし、このイヌの原文を拝見しますと、体重の変動なんです、体重値のみしか記載されていなくて、体重増加量の表がなかったように思うのですが、体重増加量はどうだったのかというのが気になりました。

引き続き、申し上げます。評価書（案）たたき台 32 ページで、21 日間の反復経皮投与毒性試験が、今度は SD ラットで行われております。ラットの種類がどうも統一が取れな

いというのが気になりますが、経皮の投与量といたしましては、0、100、300、1000 mg/kg 体重/日を6時間、閉塞貼付しております。

その結果が、表23にまとめられております。雄の最高用量群で体重増加抑制が認められており、雌では特に毒性は認められておりません。

ただ、抄録VIII-33ページにその結果が出ているのですけれども、この表を見ますと、検査動物数が、雌は全部10匹なんですけれども、雄が100 mg/kg 体重/日と300 mg/kg 体重/日だけ1匹、2匹となっているのですが、何でここが1匹、2匹なのかというのがよくわかりません。雄では、0でも表皮過形成の中程度が5匹いますし、1000 mg/kg 体重/日でも8匹なので、特に影響がないというのはいいのかなと思うのですが、なぜ100 mg/kg 体重/日と300 mg/kg 体重/日があまりに動物数が少ないのかがわからないと思います。雌につきましては、コントロールでは軽微の表皮過形成が4匹、軽度の表皮過形成が1匹なのですが、若干、1000 mg/kg 体重/日で強くなっているようにも思うのですけれども、中程度のものはあまり認められていませんし、ないということでもいいのかなというような気がしております。

ただ、雄でなぜ、コントロールでも中程度の表皮過形成が5匹も認められてしまったかというのがよくわからないので、それについて1回御説明をいただきたいと思いました。

まず、亜急性の経口と経皮毒性については以上です。

○小澤座長 どうもありがとうございました。今の御説明に何か御意見・御質問がございましたら、お願いいたします。

鈴木先生、どうぞ。

○鈴木調査会座長 幾つか教えてもらいたいと思うようなところがあるんですけれども、まず、評価書(案)たたき台のラットの90日亜急性のところの表19で、リンパ節に赤血球が見えるという話のところなんですけれども、これは何なんですか。私は、もしかしたら、採血をして、腹腔か何かから取って、しばらく放っておいたから、そのときに出血した部分がリンパ管経由で吸収されたのか。だから、コントロールにもたくさん出ているような話になっているのかと思ったんですけれども、これは毒性なんですか。

○吉田専門委員 恐らく、これを毒性とすると非常に考えにくい変化なのですが、まず下顎リンパ節につきましては、先ほど申し上げたとおり、用量依存性がなくて毒性とは考えにくいのですけれども、確かに組織を見てみますと、このようなリンパ節に赤血球がたまっていて、貪食されていたり、あるいは今後出てきますけれども、肥満細胞がいっぱいあるというような所見を多々見ますので、所見としては原因がわからない。ということは、

毒性かどうかはなかなか判断しにくいと思います。

ただ、例えば表現が増加症となっている。確かに、英文を見ますとエリスロサイトーシスとなっているので症と訳されたのでしょうか、実際は赤血球が増加しているだけだと思います。でも、慢毒でも出てまいりますので、一度、毒性意義をどう考えるかというのを聞いた方がいいと思います。

あと、慢毒につきましては今後申し上げますけれども、前胃に炎症等がありますので、前向きにとらえると、腸間膜リンパ節で認められた変化がひょっとしたら炎症に関連するかなということになります。

以上です。

○鈴木調査会座長 これは、聞いた方がいいのではないですか。

同じところで、BUN の増加についての話なんですけれども、これはやはり動物代謝のところ、肝臓について分布が多いというようなことから考えると、腎臓も無視するわけにもいかないというような気はしているんですけれども、増加の問題を毒性と取らないのはなぜかを聞くという意味であれば、聞いておけばすごくいいと思います。

○小澤座長 もし、代謝のことを入れるとすれば、本剤の分布が認められると一言入れるぐらいしか考えつきません。

○鈴木調査会座長 あとは、スペキュレーションになるので言いにくいところがたくさんありまして、例えばリンとかカルシウムの変化などは他のところでは出るんですから、しようがないです。

○吉田専門委員 あと、肝臓の肥大についてなんですけれども、雌でもラットの 90 日では 6300 ppm から肝臓重量が上がっているのですが、雄では肝障害を思わせるような項目も上がっていますので毒性としました。

雌では、そういった項目が認められていないので、ある程度の適用で判断したので、これはしなかったということをどこかに記載していただければいいと私はと思いますが、この濃度においては毒性としないということでもよろしいでしょうか。

○小澤座長 津田先生、この辺りはいかがですか。

○津田（修）専門委員 すごく悩ましいところです。やはり用量依存性はあるではないですか。数字としても、かなり大きく上がっていますね。

ただ、これはこちらで見ると相対重量だけなんです。だから、そういう面で両方上がってれば取りやすいということがあるので、ちょっと悩ましいんです。

○鈴木調査会座長 これは、出川先生と小澤先生に併せてお聞きしたいんですが、代謝の

抄録 IX-18、19 ページの血中濃度の推移のところ、低用量 10 mg/kg 体重と 1000 mg/kg 体重のところにグラフがあるではないですか。そこに雄と雌の話があって、特に、この 18、19 ページのところで、どちらかといいますと高用量の方が非常にはっきりしているんですけども、腸肝循環がものすごく著しいという話が見えているんです。

ただ、そのときに、雄と雌で若干、量的な変化を見ていくと違うというところが見えていて、その辺のところの問題が毒性の方に反映されているのかなと思います。雌の方では、腫れるのは腫れるんですけども、肝障害を起こすような話にはなっていないけれども、雄は非常に腸肝循環が著しいので障害が起こるところまで行くのかなと思ったりもするんですが、そういうようなことというのは一般的に言えるのかどうかを出川先生、小澤先生にお伺いしたいと思います。

○小澤座長 この剤は、あまりエクステンシブに代謝を受けないので、そういう腸肝循環のような動態上の所見、現象がありますので、もし、そこに性差の原因を求めるとすれば、トランスポーター的なものに対する作用の違いということがあるのかなと思いますけれども、そこまで言えるような材料はないというのが正直なところでは。

あと、この抄録 IX-19 ページに投与後の経過時間の濃度推移が数値として見られるところが図 6 の右の下のところにあります。他は、80 時間とか 100 時間とかというようなところではほとんど寝てしまっているんで、性差があるんだかないんだかわからないわけですが、この右下の図だけは何とか見られますけれども、これを見て雄、雌に性差があるのかと言われると、強くは言い切れないということです。

ですから、もし、肝臓への分布があった後の毒性の性差について代謝から理由を求めるとうまくいきませんし、答えも返ってこないのではないかなと思って、ちょっと悩ましいところですが、出川先生いかがですか。

○出川専門委員 今、小澤座長が言われたとおりで、代謝の方から説明するには非常に難しいといいますか、そこまで性差が取れないと私も思います。違ったところで何か効いているんだと思います。

○小澤座長 どうぞ。

○津田（修）専門委員 同じラットの 1 年間の慢性毒性の方で見ますと、そんなに差がなく、両方、肝臓に効いているような気がするんですが、どうですか。私もすごく悩ましいです。

○鈴木調査会座長 時間と、そのところに分布する濃度とかそういったようなものは、結局、最終的には掛け算で決まってくるものでしょうから、このフェーズ、90 日ぐらいのと

ころでたまたま差が出てきているというふうな話になってはくるんでしょうけれども、確かに、ここに出されてきているデータからだけ見たのでは何ともわかりません。

○津田（修）専門委員 90日で見ると、他の動物にはあまり性差がないんです。それもあります。長期で見ると、ラットではあまりありません。

○鈴木調査会座長 ただ、データとして、この90日のものを見たときに、吉田さんが指摘したように、雄では肝障害のマーカーみたいなものも動いているんですけども、雌ではそれが動かない。この雌の場合に影響と取らなくていいのかという話自体は悩ましいですね。

今のように長期化すると、雄雌で差がなくなるというようなことも考えたりすると、それでは、この臓器の場合のように比較すれば、これは前駆的な段階の話はどう取るかはすごくややこしいです。この時点では割り切って、雌の方は障害はないという形にしてみても、それは悪くはないと思います。

○小澤座長 性差が、あると言えるような、摂餌量といいますと、どのくらいになりますか。

すみません、587と1880と、この辺りを見ればいいわけですか。

もう一つ下ですか。187、587、この程度ですね。そうすると、動物代謝の試験ですと、10 mg/kg体重と1000 mg/kg体重ですね。ですから、その間ですか。

強いて言うならばということなのですが、抄録 IX-22 ページに1000 mg/kg体重のフェニル環の標識体の各組織中分布のデータがございます。これの肝臓を、ずっと横に見ていただきますと、投与120時間後で、雄で6.63、雌で2.07とあります。それでは反復はどうなのかと思ったんですけども、これがあまり期待できないんですということなのですが、抄録 IX-31 ページに表2がございしますが、これはコールドを13日投与して、14日目に標識体。これは10 mg/kg体重なのですが、これで見ると0.388の0.246。これでははっきりしたことは言えないということです。

ただ、コメントの中に、言葉の問題は後で考えなければいけませんけれども、コンシスタントに雄の方が高い分布を示しているが、どう考えるかぐらいのことは入れてもいいかもしれないと思います。

他に、肝臓以外のことでなにかございますか。

○吉田専門委員 申しあげずにすみません、マウスでは組織学的検査をしていません。

○小澤座長 そうですね、すみません。

そうしますと、今のラットのところで「吉田委員よりー追加資料要求事項1」というと

ころですけれども、ここに書かれている要旨の他に、肝肥大の性差についての記述を加えるということですね。それから、もう一つは「腸間膜リンパ節血球増加症」と書かれていますけれども、この所見についてどう考えるかということによろしいですか。

○吉田専門委員 これは、評価書（案）たたき台 39 ページにも、この原因は何ですかというのは 1 回聞いているので、こちらでなくてもいいかもしれません。

○小澤座長 わかりました。それでは、ここでは肝肥大の性差について、動物代謝試験における雄への分布の高さを含めて考察してくださいという要旨で出せばいいかと思います。

○吉田専門委員 もう一つ、マウスで組織学的検査を行わなかった理由についてです。

○小澤座長 それは大きいですね。それでは、これも入れてください。

事務局、今のでよろしいですか。

○都築課長補佐 はい。

○鈴木調査会座長 よろしければ、イヌの 90 日でしょうか、吉田さんから説明があったこと以外に、ビリルビンが雄雌とも全部の投与群で有意差がついていると思うんですけれども、これはどういうふうにかえたらいいんですか。28 ページのところでしょうか。

○吉田専門委員 これについては、一応、抄録では、まずすべてがバックグラウンドの範囲内であって、たまたまコントロールが低いためということと、13 週では認められていないということと、尿中には出ていないということで、これは投与による影響ではないというように抄録では書かれています。

その他の関連するような項目が、血液でも、組織検査でも出ておりませんので、私はこれでいいのかなというように思いました。

更に、これから申し上げます慢毒の 52 週でも同じような変化は出ておりません。慢毒とは投与量が同じですから、影響でないということによろしいかと思います。

○小澤座長 ありがとうございます。

今の点、鈴木先生よろしいですか。

○鈴木調査会座長 しょうがないですね。

○小澤座長 それでは、亜急性毒性試験のところでの追加資料要求部分はラットでは先ほど整理したとおりで、マウスのところでは肝について病理組織学的検査をやられていないということです。

それから、イヌでは体重値の記載しかない。体重増加量については記述がないので、ここを加えてくださいということによろしゅうございますか。

（「はい」と声あり）

○小澤座長 あとは、経皮も御説明いただきましたが、追加資料要求事項 4 というものが出ております。これも加えなければいけませんね。

それから、検査動物数の問題はどうでしょうか。

○吉田専門委員 もう一度、原文の報告書を拝見いたしまして、それでもわからないようならば聞いていただければと思います。

○小澤座長 それでは、ここは事務局と吉田先生とでやりとりをしていただいてということでもよろしいですか。

○吉田専門委員 はい。

○都築課長補佐 わかりました。

○小澤座長 ありがとうございます。

他によろしいでしょうか。

○都築課長補佐 すみません、私が聞くのはなんですけれども、反復経皮投与毒性試験というのは、どうしてこの剤について特にやられたかというのは何か書いてありましたか。

○吉田専門委員 最近は、よく経皮が評価書（案）に書いてあるのでというのだったんですが、ただ、今回、非常に軽度ですけれども、刺激性はありませんでしたか。あったように思いましたが。

○津田（修）専門委員 ありません。

○鈴木調査会座長 理由がわかりません。何かあるのでしょうか。

皮膚に分布するというような話と関係するんですか。

○都築課長補佐 先生、これは事務局の方から申請者に確認をしてみます。

○津田（修）専門委員 作業時安全のことを考えて 21 日まで刺激性があるかどうかをやってみたということであれば、やったことはいいことですし、皮膚の刺激性等に関しても、実はアレルギーを介さなくても何回かやっているところということもありますね。ですから、そういうことで、ちゃんとやったことはいいのではないですか。

○都築課長補佐 わかりました。

○小澤座長 以上でよろしければ、慢性毒性に進んでよろしいでしょうか。

（「はい」と声あり）

○小澤座長 お願いいたします。

○吉田専門委員 評価書（案）たたき台の 32 ページから、ビーグル犬を用いたイヌの 1 年間慢性毒性試験、ICR マウスを用いました 18 か月の発がん性試験及び Wistar Hannover ラットを用いました 1 年間慢性毒性/発がん性併合試験について申し上げます。

まず、イヌの慢性毒性試験ですが、1群4匹のビーグル犬を用いまして、0、10、100、300、1000 mg/kg 体重/日で1年間の強制経口毒性試験が行われております。この用量は先ほど申しました90日と同じで、更に低い用量10 mg/kg 体重/日が加わっております。

認められました毒性所見は、たたき台33ページの表24に記載されたとおりです。

変化といたしましては、一番大きい変化が体重増加量の低下というものが100 mg/kg 体重/日以上で雌雄で認められております。最高用量群では、雄で副腎にも変化が認められております。

この試験ですが、実を申しますと、群分けしたときは体重が同じようになるようにしたのですが、非常にコントロールの体重の伸びがよくて、すべての群と差が出てしまうというようなことになっています。なぜそのような成長曲線になってしまったのかが非常に気になりました。体重の原本を見ますと、コントロールだけが伸びているというような状態で「体重増加量の低下」と書きましたけれども、この解析は難しいものかなというように思いました。

引き続きまして、ICR マウスを用いました発がん性試験について申し上げます。1群50匹の雌雄を用いまして、0、100、800、4000、8000 ppm で試験が実施されました。

認められました変化は、表26に記載されております。800 ppm 以上で毒性所見が認められております。

主に認められた変化といたしましては、体重の増加抑制が認められております。それと、もう一つは肝臓への変化です。ただ、肝臓には変化が認められているのですけれども、対応する変化としては組織学的検査で肝細胞の壊死というものが雄で認められている程度です。

その他、特に申し上げることといたしまして、800 ppm 以上の群で盲腸に変化が認められております。盲腸粘膜下織及び粘膜下織の細静脈壁及び細胞内の色素沈着というものが雌雄とも増加しております。これにつきましては、ヘモジデリン、リポフスチン、胆汁ともに組織化学染色を行ったけれども陰性であったということが付記されておりますので、それ以外の色素ということになりますが、これだけ増えているので影響ということはあるのかもしれないけれども、この意義についてはお伺いした方がいいかなと思いました。腫瘍性変化といたしましては、表27に書かれておりますが、肝細胞腺腫が雄で増加しております。しかし、肝細胞がんにつきましては増加は認められておりません。

以上の結果から、発がん性試験といたしましては、雄で肝臓の腺腫が増えたということ

になります。

最後ですが、ラットの1年間慢性毒性/発がん性併合試験が0、200は1年だけです。2000、10000、20,000 ppmの混餌投与で1群50匹、慢性毒性試験群は20匹で行われております。

認められた変化が、表29に記載されています。おわかりのとおり、いきなり1年になったら山ほど出てまいりまして、主に認められた変化といたしましては2000 ppm以上で認められております。

認められた変化は、大きく分けまして、まず体重の増加抑制も認められておりますし、生存率の低下がございます。

血液では、大きなところはありませんけれども、やはりGGTが上の2ドーズで、今度は雌雄で増加しております。

肝臓の変化もあるのですが、小葉中心性の肝細胞肥大だけではなく、門脈過形成、あるいは小葉中間帯の肝細胞の空胞化といったような変化も認められております。

この肝細胞肥大に関わりまして、甲状腺にも変化が認められるようになっておりまして、濾胞上皮の肥大が雌雄で最高用量に認められています。また、変化のわからない変化といたしまして、嚢胞状の濾胞上皮の過形成という変化が認められております。これは、いわゆる濾胞上皮の肥大とは質の異なる変化ですので、これが雌で増えた理由というものがよくわかりません。

あと、腎臓にも変化が認められております。慢性腎症が増加したり、色素沈着が増えたり、腎乳頭の石灰沈着が増えたりしております。

また、90日と同様のリンパ節の変化も認められております。

前胃にも変化が認められておりまして、上皮の過形成、角化亢進、潰瘍、炎症など、炎症性に伴って、例えば角化が亢進したのではないかなという変化が認められております。

また、原因がよくわからない変化といたしまして、角膜炎が増えております。これは雌だけです。

また、雌では生殖器系が萎縮性の変化が認められておりますが、これは恐らく体重減少に関わることが大きいかなとも思うのですが、今後、繁殖毒性とも関わってきますので、本当に体重増加抑制だけかなという気がいたします。

腫瘍性の変化といたしましては、雌雄とも10,000 ppm以上で肝細胞腺腫が増えております。しかし、肝細胞がんについては増えておりません。

このように、1年のラット、発がん性のラットでは非常に多彩な変化が出てまいりまして、複雑な様相を呈しております。腫瘍性としては、肝細胞腺腫が10,000 ppm以上で雌雄で増えているという結果です。

以上です。

○小澤座長 どうもありがとうございました。長い投与期間ですと、非常にいろいろ広範な毒性が出てきますし、その解釈も非常に難しいということのようではありますが、何か御質疑や御意見などがございましたらお願いいたします。

どうぞ。

○津田（修）専門委員 書き方の問題なんですけれども、今までどうしていたかを含めてお聞きしたいんですが、発がん性試験であるとか、今の発がん慢性毒性の併合試験で腫瘍が認められた場合に、例えば非腫瘍性の毒性に関しては無毒性量はこうこうであった。しかしながら、どれどれにおいて催腫瘍性が認められたというような書き方にすべきですか。それとも、このように全部入れて、無毒性量はこうだとするか。

genotoxic carcinogenであれば無毒性量はないわけですから、そういう面から言いますと分けるべきだと思います。まず非腫瘍性のものに関してこの辺りだったけれども、腫瘍性があったとしておいて、総合的にいろいろ判断をして、これがgenotoxic carcinogenであるかどうかという話なのではないかと思います。

○鈴木調査会座長 小澤先生、あるいは事務局でもいいんですが、今の議論の足しになればと思ってお話しますが、マウスの場合、今回のものは発がん性試験だけなんです。そのためだと思うんですが、血液検査とかそういったものは一切やっていないわけでしょう。そうすると、評価できることというのは発がんに関わるものしかできてこないですね。ところが、ラットの場合は、1年間の慢毒/発がん併合試験ですから、今、津田さんが言われたように、非腫瘍性の変化に基づくNOAELみたいなものも出せる。それだけの試験はやっているということになるんですか。

そうであれば、その辺りがはっきりわかるような形にしなくてはいけないんだと思いますが、念のために発がん試験のプロトコルといたしまししょうか、ガイドラインといたしまししょうか、そこで本当に発がん試験だというふうに言ってしまった場合には、がんに関わるものだけでよくて、血液とか生化学とかといったような指標はやらなくていいということになっているんです。

○津田（修）専門委員 私の昔の記憶ですけれども、この慢性毒性と発がんの併合性試験は基本的に両方のものをフルでやらなくてはいけない。マウスの場合は、血液生化学検査

を省くことができるというように思っております。

○鈴木調査会座長 そうすると、ラットの場合は発がん性試験といっても、やはりそれなりの血液生化学試験はやらなければいけないということになるんですね。

○津田（修）専門委員 そうです。

ただ、私、この書き方で、いろんな情報が出ているわけですので、ガイドラインということだけではなくて、非腫瘍性の病変はそれで書く。

それから、腫瘍性ということに関すると、無毒性量というものとは性格が違う場合があるのでそれは別に書くということです。

○鈴木調査会座長 今回のものは、情報をまぜてもよさそうですね。

○小澤座長 確かに、遺伝毒性がある物質の場合と、そうでない場合とで全く様相が異なってくるというのは実にもっともな御意見のように思われます。今まで、あまりそういうことを深く考えずに来てしまったんですけれども、そこは今後のまとめ方としてどういたしましょうか。

○都築課長補佐 今の議論を聞いておりますと、分けてははっきり書いた方がわかりやすいということであれば、事務局として、今後、そのように対応したいと思います。

○小澤座長 わかりました。どうもありがとうございました。それでは、その方向でよろしく願いいたします。

先に行く前に、一度まとめをさせていただきたいと思います。

どうぞ。

○鈴木調査会座長 小さい話だから簡単なんですけれども、イヌの慢性毒性試験のところでは経口投与としか書いていないんですけれども、この場合、やはりカプセルということはどこかに入れた方がいいと思っています。

それから、イヌのところでは、評価書（案）たたき台の34ページの表の中に「体重増加量の低下」という言葉がありまして、体重増加抑制という言葉を使わずに「体重増加量の低下」を書いたというのは、具体的にどういう違いなんですか。

○吉田専門委員 体重の表では、先ほど申し上げましたように対照群のみが非常に伸びてしまったので、増加量の表でいくと、その伸びが悪いということで、でも、体重の表の時は低下ではないですね。その表現なので、体重の伸びの違いと言ったら結局同じになるんですけれども、そこを分けるためにそういうように書いたんですけれども「体重増加抑制」としてしまってよろしければ、それはいいです。

○鈴木調査会座長 意味合いとして、ここで言っている「体重増加量の低下」というのは、

対照群が成長が著しくよかったために、他の投与群のところで見かけ上、体重増加抑制のように見えるような現象が見えただけで、影響ではない。それを区別するために「体重増加量の低下」という言葉を使ったという意味ですか。

よくわからないんですけども、そういうことならば結構です。

○小澤座長 コントロールの体重の伸びがあまりにもよいので、結果として今の結論になるということが、この文章を読んだ時に読めればいいと思いますけれども、どうですか。

○吉田専門委員 そうしたら、まとめてしまって、体重増加抑制としてもいいのかもしれませんがね。増加量が抑制されているわけですから、その方がわかりやすい場合はそれでよろしいかと思います。

○小澤座長 これは、最後に文章として残るわけですから、わかりやすい書き方の方がいいように思います。

他に、よろしいでしょうか。

それでは、今のところを追加資料要求の観点からもう一度まとめていきたいと思います。

まず、イヌについては、カプセルのことはともかく、所見から追加資料要求といえますか、コメントはないですね。

それから、次の ICR マウスは盲腸についての問題が出てきていたんですが、これは追加資料要求事項 5 として書かれています。

文言も、吉田先生の御発言の中では、意義を尋ねようかという文言があったように思いますけれども「盲腸の変化の原因として考えられるものについて」でよろしゅうございますか。

○吉田専門委員 なぜ、ここで急に盲腸の変化があったかというのがよくわかりませんので、原因といえますか、投与との関連性でもそういう意義でもよろしいです。

○小澤座長 わかりました。それでは、これでいいかもしれませんね。「盲腸の変化の原因として考えられるものについて」ということでよろしければ、その次が 1 年間の慢毒/発がん性併合試験ということですが、これは非常に要求事項が多いんですが、今、ここに書かれているものの他に言及されたものというのは、整理すると何になりますでしょうか。

角膜炎は言及いただいていますね。それから、腸間膜リンパ節も言及されています。

門脈過形成は、おっしゃられましたか。

○吉田専門委員 肝障害の変化の中で、申し上げました。

○小澤座長 それから、前胃はどうでしょうか。

○吉田専門委員 投与で起こったことは明らかなのですけれども、それについても同じよ

うに聞いていただければと思います。

○小澤座長 前胃に生じた角化ですか。

○吉田専門委員 炎症です。

○小澤座長 炎症についての意義ということでまとめますか。

○吉田専門委員 はい。有意差はありませんけれども、前胃のパピローマ等が増えています。

○小澤座長 それでは、前胃の炎症についてですね。

それから、生殖腺の萎縮と内分泌系の病変。これは繁殖毒性とも関連するお話ですが、その時にしましょうか。

○吉田専門委員 はい。

○小澤座長 わかりました。ありがとうございます。

あと、事務局からの問い合わせが幾つかありますが、これはいかがでしょうか。

○吉田専門委員 まず、事務局からの①抄録の修正についてはこれでよろしいのではないかと思います。記載されていないものについては記載していただければいいと思います。

②肉眼所見、病理組織学的所見における発生頻度の減少につきましては、ケース・バイ・ケースだと思いますが、やはり低下ということも毒性の一つということもありますので、そういう場合については記載していただかないといけないと思いますので、剤によるというようなお答えしかできません。

○小澤座長 ありがとうございます。

今のところ、事務局の方でフォローいただけましたでしょうか。よろしいですか。

○都築課長補佐 はい。

○小澤座長 ありがとうございます。

それでは、ここまでで他に特段の御意見はございますか。

よろしく申し上げます。

○鈴木調査会座長 後で、繁殖のところと言おうと思ったんですけども、一応、念のために、今の 38 ページの発がん性のところ、これは 10,000 ppm の欄、雌のところ、「乳腺腫瘍減少」という表現があって、これをどう見るかというのが後で出てくるかもしれないと思っているんです。

○吉田専門委員 体重増加抑制がありますので、それに関連はしていません。

○鈴木調査会座長 そういうふうな問題だけではなくて、実は、これは腎臓から排泄されるという部分がありますから、代謝のところでは非妊娠動物でしかやっていないものですか

ら乳腺のデータがないんですけれども、一般的に腎臓に分布するものは乳腺に分布して全然不思議はないんです。

勿論、状況によっては汗腺にも分布することがあるんですけれども、そういうようなところからして何か影響があつてというようなことになった場合に、繁殖のときに哺育期に子どもが成長不良を起こすというような話が出てくるんですけれども、乳腺の機能低下みたいな話につながる部分がないですかという危惧だけなんです。

だから、それは状況によってはわけがわからないけれども、消すのではなくて付けておいた方がいいかもしれないという意味だけです。

○吉田専門委員 ただ、乳腺の組織自体は検査項目に入っておりまして、それに対するコメントはないんです。

○鈴木調査会座長 どこまで見ているかはわかりません。

これは、肉眼所見だけですか。

○吉田専門委員 肉眼所見だけです。

○鈴木調査会座長 証拠があつてというわけではないんですけれども、つないでみると、そういう乳腺に対する変化というものは、この剤の問題として必ずしも無視はできませんという指摘だけです。

○小澤座長 私の理解がおかしいかもしれませんが、言葉だけ見ますと、乳腺腫瘍の減少ですから、乳腺への分布と性質が違ふことが書かれているのではないんですか。

○鈴木調査会座長 具体的に、腫瘍というものが肉眼所見だとおっしゃるので、何だかわからないんです。

○小澤座長 わかりました。ありがとうございます。

それでは「12. 生殖発生毒性試験」に行つてよろしければ、鈴木先生お願いいたします。

○鈴木調査会座長 これは私の担当というわけではないんですけれども、江馬先生が今日御欠席なので、ざらつとという話しかできませんが、たたき台 40 ページ以降のところを 2 世代繁殖試験と、ラット、ウサギの発生毒性試験、いわゆる催奇形性試験をまとめていただいております。

専門委員の方々には、この書類がございましてから見ていただくとわかるんですが、江馬先生が修文してございまして、世代の話のところの書き方を大まかに変えて、それぞれ別々に、子どもと親の世代を書いていた部分はまとめてみましょうというようなことで、その方が簡潔になったのではないかと思います。その中で、所見として繁殖試験のところで見られたものは表 32 にまとめられているのではないかと思います。

そうしますと、15,000、3000、600、120 ppm の 4 群の投与になっておりまして、基本的には 3000 ppm 以上のところで何らかの影響が出てくるという話になっていまして、やはり親子ともに体重の増加抑制が見られますという話が大きいんだと思います。

その体重の増加抑制のところが、抄録の 96 ページ辺りを見ていただきますとかなりはつきりしてくるかとは思いますが、哺育期あるいはその後の離乳初期辺りから 3000 ppm 以上では、体重増加がかなり抑制されるというようところが一番典型的ではないかと思えます。

その他の問題としては、なぜか腹部の膨満といったような話があったり、それから、臓器の問題としては一般毒性で見られたようなところとの関連で肝臓等々の変化というものが出てくるところが結構あるんですけども、それ以外の問題で幾つか指摘があるようです。

例えば、たたき台 42 ページの表の中では、最高用量群のところでは交尾率の低下等の生殖指標の話から繁殖の低下等々もあります。

それに関連して、卵巣重量などが下がってきています。

それから、卵巣の萎縮、卵巣の小型化、卵胞数の減少、その他、子宮の筋層が菲白化したり、扁平上皮化したりする。

内分泌的な問題として、下垂体前葉細胞の空胞化なども見られるというような影響が明らかに出てきております。

その他に、F1、子どもの 3000 ppm 以上のところで胸腺重量の低下といったようなことがもう一つ言われてきています。それ以下の用量では影響がないというので、閾値があるという話では見られるのですけれども、まず事務局から子宮のヘモジデリン沈着、あるいは血管壁フィブリノイド壊死というのはどういう影響なのか、減少した変化なので表から除いてもよいのかというような話だったのですけれども、江馬先生は毒性の先生に確認してほしい、吉田先生はこのまま記載した方がよいということで、これは記載してよいでしょうけれども、なぜかというのはいわからない。

それから、吉田専門委員から追加資料要求事項として、よくわからないので説明していただいた方がいいと思いますが、性周期とか生殖器系の変化がエストロゲン様の変化を示しているにもかかわらず、生殖器系は萎縮性の変化を示しているということについて、発生機序との関連について明らかにしてほしいというコメントが出ているのですが、私が見たところ、性周期、生殖器系の問題がエストロゲン様の変化を示しているというふうには見えなかったのですけれども、性周期はたしか停止しているとか、繁殖がうまくいかない

方向の話だったので、必ずしもエストロゲン様の作用ではないと思ったんですけども、何を御覧になりましたか。

○吉田専門委員 子宮重量の低下につきましては、エストロゲン様とは取れないんですが、ただ、F₁のところでは性周期がほとんど乱れてまいります。そのときの乱れ方が、萎縮しているならば持続発情ではなくて、休止期の状態が続くのですが、持続発情が増えているので、なぜかなというのが非常に気になりました。

持続発情が続くというのはエストロゲン様物質を新生児期に投与すると視床下部に障害があるので、その意味でエストロゲン様というように取るのではないかと思ったんですが。持続発情が続くということが、卵巣が萎縮した場合だと持続発情とはならないのではないかと思います、いかがでしょうか。

○鈴木調査会座長 もっと上の方の話でしょうね。

○吉田専門委員 上の方からもやられてしまったということでしょうか。

○鈴木調査会座長 視床下部から下垂体系の話のところの変化が若い時期に起きていたのではないかと、要するに周期が失われるような変化というのが何らかの理由で起きているんだろうと思いますけれども、エストロゲンが出っぱなしになっているから、それに反応して膣の上皮細胞が角化しているというふうにも見えないと思っているんです。

○吉田専門委員 この変化については2通りの考え方があります、1つは、今、先生がおっしゃったように、視床下部、下垂体系がやられてしまっているという考え方と、もう一つについては、ずっと持続的に投与していますから、ひょっとしたら膣への直接的な影響なのかと思ったんですけども、もし前者だとすると、結構、障害が強いと考えられます。そこまではっきりは分からなかったので書き込みませんでした。

○鈴木調査会座長 このデータだけでは決着はつかないんです。ですから、表現を変えて、その辺の持続発情的な膣上皮の変化はどういうふうにかというのを聞いた方がいいと思います。それならば話がつながりますし、その他の臓器、特に卵巣とか子宮のその後の変化のところというのは、必ずしもエストロゲンの問題からすれば、逆に言いますと低下している話のことですので、それ自体は合理的に説明されそうですから、その間の矛盾はどう説明するのかというのは聞いた方がいいと思います。

○吉田専門委員 その後、出てまいりますけれども、例えば抗エストロゲン試験とか、抗アロマターゼ、みんな抗なんです。それもなぜかというようなこともあります。

○鈴木調査会座長 それは、さっきから、なぜやったのか。つまり、どういう現象があって、例えば、どうして、ウテロトロピック試験に対して抑制するようなことを想定したの

かというようところがわからないんです。だから、それは聞いた方がいいとは思っています。

いずれにしても、エストロゲン様の変化という表現ではなくて、もっと具体的に、性周期が停まって、持続発情あるいは持続的に角化していることと、ステロイド産生器官の卵巢と、下部にある子宮の話はエストロゲン低下と関連しそうなので、その間の矛盾についてどう考えるかというふうに聞いた方がいいのではないですか。

○小澤座長 すみません、突然お願いしてしまいましたけれども、ありがとうございました。

○鈴木調査会座長 あと、奇形の話が残っているんですけども、これは基本的に通常の形で行われていたんだと思います。

1 つ、高用量で確認試験というものがラットの場合に行われておりまして、この辺については最終的には口蓋裂が一旦見られたというような変化はありましたけれども、この剤によって起こったものではないという話なので、答えはこれでいいと思います。

江馬先生の方からだと思いますけれども、まとめ方が非常に具合がよくないので、奇形のタイプごとにまとめて統計処理を行ってほしいという話と、それらが本当に薬物によって起こったのではないのだったら、背景データとの関係も明らかにしてほしいというコメントが出ています。これは聞いた方がよいと思います。

それから、ウサギに関しても、はしょってしまいますと、催奇形性はない。それから、母動物に対しては、100 mg/kg 体重/ 日で体重増加抑制がありましたけれども、30 mg/kg 体重/ 日では影響がないので、NOAEL が母動物で取られていて、胎児には影響がなかったということで、催奇形性はありませんという話になっております。

すみません、ちょっともたもたしました。

○小澤座長 どうもありがとうございました。

結局のところ、この部分、本来御説明いただく江馬先生からは追加資料要求が 1 つしか出ておりませんでしたけれども、これはこのまま聞いていただくということです。

それから、先ほどの吉田専門委員から出ている追加資料要求事項の 7 に関しては、もうちょっと修文をして、性周期が変わって、持続発情的な状況になっているということをも具体的に示して考察を求めるといことになるかと思います。

よろしゅうございましょうか。

(「はい」と声あり)

○小澤座長 そうしましたら「13. 遺伝毒性試験」です。太田先生、お願いします。

○太田専門委員 遺伝毒性は、通常の試験以外に、この後に書いてあります「14. その他の試験」で、メカニズム試験で4種類の変異原性試験がありましたので、これは一括してまとめた方が遺伝毒性の評価によろしいかと思ひまして、そのように表を修正いたしました。

結果は、表33に示してありますけれども、*in vitro*試験としましては、細菌を用いた復帰突然変異試験、培養細胞を用いた遺伝子突然変異試験と、染色体異常試験が行われております。

*in vivo*試験としましては、マウスの骨髄とラットの肝細胞を用いた小核試験、それから、ラット肝細胞を用いた不定期DNA合成試験、並びにDNA損傷を検出するコメットアッセイというものがマウス肝細胞、ラット肝細胞とラットの前胃の細胞を用いて行われております。これらのコメットアッセイは、ラットの肝と前胃の腫瘍病変があったということで、こういった試験が行われております。

試験結果は、いずれも陰性でありまして、これらの結果から、本剤に遺伝毒性があるとは考えられません。

それから、たたき台46ページの下の方に代謝物の試験があります。これも、動物代謝物と植物代謝物のDとGに関しまして復帰突然変異試験と小核試験が行われておりまして、いずれも陰性であります。そういうことで、この代謝物には問題ないだろうと思ひます。これは、後で「14. その他の試験」で議論していただきたいと思ひますけれども、8-OHdGの生成量を調べた試験があります。その結果を基に、抄録の中に8-hydroxydeoxyguanosineに代表される酸化DNA障害を誘発し、発がんの一因をなした可能性が考えられたと書いてありますけれども、この記載になりますと、これは遺伝毒性を持った発がん物質になってしまいますので、そこはこの表現ではまずいのではないかと思います。これは「14. その他の試験」で議論したいと思ひます。

○小澤座長 ありがとうございます。

通常、行われる遺伝毒性試験の項目ではすべて陰性の結果であって、遺伝毒性は認められないという結論になります。

ただしということで「14. その他の試験」がありますけれども、ここはどうでしょうか。

8-hydroxydeoxyguanosineは、検出は免疫染色ではなかったかと思ひます。そのことは、この後のたたき台の47ページに太田先生のコメントがあるんですが、この肝臓での8-hydroxydeoxyguanosineの検出に関しては51ページに書いてございます。これは、確かに

ここに書かれているように、免疫組織化学染色ということでもあります。

その前に「14. その他の試験」に関してはどうでしょうか。説明していただけますでしょうか。

○吉田専門委員 i) の中期肝発がんと、v) の 8-OHdG の免疫染色のところですか。

○小澤座長 よろしく申し上げます。それでは、iii) は私がやります。

○吉田専門委員 それでは、申し上げます。「14. その他の試験」で「(1) 肝における催腫瘍性に関する検討試験」のうち、中期発がん性試験がラットを用いて行われています。いわゆる伊藤法と呼ばれるものです。

使われた用量は、200、2000、20,000 ppm で、20,000 ppm というのは肝腫瘍が増加した用量です。これにつきまして、DEN で処置し、肝部分切除も行っております。

そういたしますと、2000 ppm 以上で GST-P のポジティブフォーサイの数及び面積ともに上がっているということで、ただ DEN をかけない 20,000 ppm ではそういった変化は一切見られないということで、2000 ppm 以上でプロモーター様作用が認められたということになっております。

中期発がん性試験につきましては、以上です。

○小澤座長 ありがとうございます。

恐らく、このような知見があつて、それを踏まえて、肝薬物代謝酵素に対してはどのような変化が見られるかということで次の試験が出てきたものと思われませんが、Wistar ラットを用いて 7 日間検体の混餌投与、0、200、20,000 ppm ということでもあります。

検体摂餌量は、表 36 に書かれているとおりであります。

そうしますと、20,000 ppm では体重増加抑制と摂餌量の低下が有意に認められたということでもありますけれども、肝薬物代謝酵素の依存的活性を測定してみますと、10 行目に書かれているように、雌雄 20,000 ppm 投与群でフェノバルビタール投与により特徴的に強く誘導される PROD、ペントキシレゾルフィンでペンチレーションという活性が 13~15 倍ということで、非常に顕著に増加していたと言っていると思います。

フェノバルビタールとは異なる、オーバーラプトするところはあるんですけども、むしろアрилヒドロカーボンの特性を有する酵素の活性と思われる EROD の活性。これは勿論、オーバーラプトしていますから上がっています。

より PROD 的な酵素の依存的活性と思われる MFCOD 活性。

それから、これはむしろ違う分子種ですが、テストステロンの水酸化の活性も陽性対照群、これはすなわちフェノバルビタール投与群なんですけど、それと同様に増加していると

ということで、フェノバルビタールで誘導されると考えられる酵素活性が一樣に誘導されていると確実に言えます。

一方、200 ppm ではそういうことはなかったのだということでもあります。

マウスでも同様のことがやられております。ここは ICR マウスを使って 7 日間検体混餌投与ということではありますが、やはり陽性対照群としてはフェノバルビタールを 7 日間強制経口投与しております。

また、投与群がラットと同じように非常に広くて、100 と 8000 ppm ということで 80 倍もあるわけですが、これについては、やはり高用量投与群では摂餌量が投与 3 日目に有意に低下しているということでもあります。

それにもかかわらずと言っていいかどうかはわかりませんが、肝薬物代謝酵素の測定では 8000 ppm、高用量投与群において、やはりフェノバルビタール投与で特徴的に誘導される PROD 活性の増加。また EROD が有意に増加し、有意差はないものの、雄でテストステロンの水酸化活性が増加しました。

この「有意差はないものの」というような記述があるということが、PROD と全く同じ分子種で、テストステロンの水酸化が触媒されているのではないということを示しているというように、このデータが読めます。

しかしながら、結論的には、これは 5 行目以下ですか、雌雄マウスにフェノバルビタールに類似した肝薬物代謝酵素活性誘導能を示したが、これは 8000 ppm です。100 ppm では認められなかったということになります。

出川先生、何か御追加はございますでしょうか。

○出川専門委員 別にございませぬけれども、確かにフェノバルビタールタイプの酵素が、誘導されていますが、誘導がすごく強くかかっているとは思えないんですけれども、特にマウスなどはフェノバルビタール陽性群が十何倍かかっているところを、1.8 倍とか、1.6 倍とか、ある意味ではあまり誘導がかかっていないようにも見えないわけではないので、発がんや酵素誘導とかそういうものを結び付けるような形で何かするというのは個人的には非常に納得がいかないもので、何とも難しいです。

特に、この場合、ラットでは、P450 の誘導で言いますと、20,000 ppm ぐらい 1 週間与えると確かに十何倍上がっていますけれども、マウスについては、今、言いましたように、陽性対照としてフェノバルビタールだと十何倍上がっているのに、この 8000 ppm で 1.数倍、確かに統計処理すると上がっているということではありますけれども、酵素誘導と肝重量が上がるということを結び付けて、フェノバルビタールタイプの酵素誘導が起こ

っているから、それが肝重量の増加につながっているというようなまとめ方をされるのは、個人的にはいつも問題かなと思っています。わかりません。

○小澤座長 どうぞ。

○吉田専門委員 実を申しますと、先ほども申し上げたのですが、この剤は 90 日で、組織の変化はないんですが、GGT が上がり始めて、1 年ですとかなり胆道系の変化も出てきて、ラットに関しましては肝腫瘍が増えてくるのが、多分、この酵素誘導とか、今、出川先生がおっしゃっていたラインなのか、それとも、胆道系も変化がありますから、肝障害なのかというのはわからないと思うのですけれども、いかがなものでしょうか。

○小澤座長 この点、出川先生いかがですか。

その前に、お考えをまとめていただくとして、確かに、もう一度よく考えてみますと、出川先生の御指摘というのも全くもっともでありまして、冷静に誘導倍率というものをきちっとラット、マウスの間で比較してみると、マウスの誘導倍率というものは、確かに陽性対照群と比べてもそれほど高くはない。現象的には、確かにラットはそこそこ誘導されている。

腫瘍の発生をマウス、ラットについて見てみるとどうかなと、今、出川先生の御指摘を伺いながら考えてみたんですけれども、ICR マウスでは雄で肝臓の細胞腺腫が増えているということなのですが、確かに御指摘のように、このフェノバルビタールタイプの薬物代謝酵素誘導が見えるからといって、これが腫瘍プロモーターであるというような論理の導き方はよろしくないではないかと、常々、指摘されているところであります。

特に、この評価書（案）たたき台にそういう表現があってはまずいと思うのでありますが、ここにはそういう表現はしてはいない。中期発がん性試験があって、肝薬物代謝酵素誘導というものが何となく書かれています。フェノバルビタールタイプの腫瘍プロモーターであるとかそういう言い方はしていないので、ここはこれで事実を素直に述べるということでもいいかなと思います。

それと、胆道系のことも含めて、出川先生、何か御意見がありましたらお願いいたします。

○出川専門委員 特別にはございません。

○小澤座長 大変難しい問題もはらんでいることと思いますが、それでは、iv) 複製 DNA 合成試験です。これは私が僭越に申し上げるよりは、太田先生でしょうか。

○吉田専門委員 BrdU ですか。

○小澤座長 はい。

○津田（修）専門委員 私は自分ではやっていないんですけれども、こういうものを見ているので一応説明しますと、ラットに薬を投与して、それに、ここにあるように 5-bromo 2' deoxyuridine、これはたまたまチミジンの取り込みと同じようにして入れて細胞の増殖の程度を見るということでやっている方法で、少し増えたという程度です。

○小澤座長 ありがとうございます。このデータの評価をすると、少し増えたということです。

それでは、v) の 8-hydroxydeoxyguanosine をお願いいたします。

○吉田専門委員 この免疫染色としてとらえたものということの観点から、私が申し上げたいと思います。

「v) 肝臓での 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG) の免疫組織化学染色」は、最初、酸化ストレス解析としていたのですが、拝見いたしますと、そのものを測定していらっしゃるわけではなく免疫染色の結果でしたので、このように改めました。と申しますのは、免疫染色というのは今回の場合はあくまでも補助診断の場合と考えられます。結果にも非常にばらつきも多いですので、この項目の題名の方が正確さを期するというのではよいかと思って変えました。

方法といたしましては、表 39 のとおりです。ラット及びマウスで 7 日間のみ、この表にあるような投与量で混餌投与いたしまして、その肝臓につきまして標本作成をいたしまして、この 8-OHdG の抗体を用いまして免疫染色をしてカウントし、差が出たかどうかということです。

この用いました量は、それぞれに肝細胞腺腫を引き起こした量です。ただ、7 日間ですので、先ほど申しましたように、7 日間で本当にどれだけの変化が出るかというのは非常に疑わしいところがあります。免疫組織化学染色ですから、2 年間のものでもよかったですなのに、なぜ、それを使わなかったかと思いました。

その結果なのですが、抄録ではラットは差がなくて、マウスでは増加傾向が出たということなのですが、原文をたどりますと非常にばらつきが多くて、かつ有意差が取れないということにつきまして、本当に増加傾向を示したとっていいものかどうか。これで増加傾向を示した、すなわち酸化ストレスでどうのこうの云々というのは非常に不思議な気がいたしましたので、マウスにつきましては修文をいたしまして「8-OHdG 陽性率変化なし。増加傾向を示したが有意差は認められなかった」というように書きました。

結論といたしまして、これで酸化ストレスの誘発ありとするのはオーバースペキュレーションではないかと思って、なしとしたのですが、先生方の御意見を伺えればと思ってお

ります。

○小澤座長 ありがとうございます。

8-hydroxydeoxyguanosine の、もっと最近の技術の上昇を考えた上で、オーセンティックな定量方法というのは、やはり DNA をばらばらにして HPLC ではかることですね。それを求めるというのはあんまりのような気もするんですけども、これは吉田先生の御意見ですと、酸化ストレス誘発などとはとてもこの結果からは言えないという整理になるわけですか。

○吉田専門委員 言えないかどうかというよりも、私は酸化ストレスは専門家でないのですが、なぜ、この 8-OHdG だけを選んだかというのもよくわかりません。

あと、やはり免疫染色というのは組織診断などには非常に有用なことがあるのですが、得られた結果が方法として確立されていないものも多いので、それにつままして免疫染色だけで結果を申し上げるのはどうかと思います。今回の原文をたどりますと非常にばらつきが多かったので、それにつままして有意差があると言えるのかどうか。ラットでは、特に変化が出ておりませんし、酸化ストレスというのはどうかというのが一番気にかかりました。

○小澤座長 ありがとうございます。

確かに、酸化ストレスというのならば、この 8-hydroxydeoxyguanosine ばかりでなく、TBA とか、他にもっとやるべき試験もたくさんあるでしょうし、グルタチオンの含量の変化というようなことも一つの指標にはなるでしょうし、これだけでは足りないという整理が一番妥当かと思います。

それから、先ほど太田先生からの御指摘にありましたように、8-hydroxydeoxyguanosine に代表される酸化的 DNA 障害というものが、これを認めてしまうと結論が非常に難しくなるということもありますので、この 51 ページの v) に書かれていることは、私の意見としてはもうちょっとトーンダウンした書き方をすべきではないかと考えますが、御意見はいかがでしょう。

どうぞ。

○津田（修）専門委員 まず、データの信頼性ということに関しては確かにそうかもしれませんが、抄録 VIII-140 ページを見ますと、ばらつきが多いと言いながら、コントロールが 2.2 。それが 16.6 に上がっているんです。

もう一つは、0.6 が 27.2 に上がっているんです。これをもって申請者があったと言っているのに、ないということをごちらが言えるのかということが 1 つあります。

もし、あると、これは **genotoxic carcinogen** です。方法にいろいろ問題があるのであれば、この点はきっちりさせないといけません。なぜならば、通常の発がん性がないときにやるような遺伝毒性というのは、みんな単回・短期なんです。Ames であっても、**chromosome aberration** であっても、**micronucleus** でもそういうものなんです。ところが、**8-OHdG** というものは蓄積性があって、1 回ではなかなか出ません。それが 1 週間、2 週間くらいすると出てくるものなんです。それで出てしまうと、発癌物質 **genotoxic carcinogen** なんです。彼らはそれをやって、**genotoxic carcinogen** とは言っていないんですけれども、それを示唆するデータを出しています。

私たちが知りたいのは、ここでいろいろやっていて、プロモーター作用があると言っていますけれども、プロモーター作用があるかもしれない、これはいいとして、イニシエーターの作用がないということが重要なんです。例えば、中期発がん性試験でプロモーター作用があるのではないかとということに焦点を合わせてやっていますけれども、これを逆にやって、このアミスルブロムの方を先に 1 週間くらいやっておいて、同じようにして 2 週間休んで、フェノバルビタールをやったら、起きませんか。起きたら、逆にこれは **genotoxic carcinogen** となります。

そのとき、出なくて、こういう実験で本当にありません。ですから、違いますと言われれば安心できますけれども、私はこういうものを見ていて、プロモーター作用があることはわかりますけれども、ジェノトキシック・カルシノーゼンとしての示唆をしている。だから、これは慎重に考えるべきで、ここでは修文だけをしてないと言うべきではないと私は思っています。

○小澤座長 ありがとうございます。

これは、その点をもっと厳格にするためには、やはり免疫組織学的染色という方法だけに頼るのは問題ではないかと思いますが、それは先生、どのように考えておられますか。

○津田（修）専門委員 例えば、この **HPLC** で分けて、それから **ECD** で測る方法はすでに一般的に行われていますから、それで調べたらいいのではないかと思います。

ただ、その時に、単回ではなくて、1 週間やったデータを出していただきたいと思いません。

○小澤座長 ありがとうございます。

今のことが 1 つで、これはここで申請者が導いている酸化ストレスというような結論はおかしいわけです。今のことはコメントとして当然出すべきであろうと思われるので、**8-hydroxydeoxyguanosine** の測定の方法を改め、単回投与ではなく 1 週間連続投与のよ

うな投与スケジュールで実験をやり直してくださいという趣旨のコメントを出すべきと思われる。

それから、問題のイニシエーション作用なんですけれども、これについても、ここまでこういう議論をしてしまったら、当然やってみるべきではないかと思いますが、いかがでしょうか。

どうぞ。

○出川専門委員 発がんのイニシエーション、プロモーションの DNA との関係ですけれども、8-hydroxydeoxyguanosine がイニシエーションになる可能性は勿論あるわけです。

例えば、フェノバルビタールはプロモーターとして考えられていますね。フェノバルビタールをやったときにも、これは出てくるはずなんです。だから、それはこの 8-hydroxydeoxyguanosine が出たからといって、逆に言うとイニシエーターではなくて、ここに書かれているようなフェノバルビタールタイプのプロモーターとして考えるのは、今まで出てきているデータからすると、そうおかしくないようにも思えるんです。

○津田（修）専門委員 その件で、例えば IARC がフェノバルビタールを評価している時には何を根拠としているかといいますと、CYP2B1、2B2 であるとか、あるいはそういった酵素系のものと、もっとスペシフィックに言えば、甲状腺の腺腫が出るような場合には甲状腺ホルモンの代謝を早めて、あるいは胆汁への分泌を多くして、甲状腺刺激ホルモンをたくさん出すことによって刺激するんだとか、そういうことであって、8-hydroxydeoxyguanosine によってプロモーターが出るということは一言も言っていないと思います。だから、いろいろな作用はあると思いますが、8-OHdG が出て、それが原因であるならば、私はイニシエーターだと思います。

それから、太田先生が専門で、言っていますけれども、明らかに遺伝子に変化を起こして、ミューテーションを起こして、発がんを起こすわけですから、私はそうだと思います。

○小澤座長 どうぞ。

○出川専門委員 私の知る限り、例えばフェノバルビタールは肝臓の発がんにおけるプロモーターで、たしか肝臓では多分フェノバルビタールをやって、8-hydroxydeoxyguanosine が上がると思います。

矛盾したことを言うかもしれませんが、フェノバルビタールをやると CYP2B が、主に誘導されます。その CYP2B が基質を代謝するときにラジカルが出てきて、CYP2B が結果的に代謝回転の中で 8-hydroxydeoxyguanosine を与える。

そういうことを考えると、フェノバルビタールで主に CYP2B が増えて、それが代謝に

関わると、結果的に 8-hydroxydeoxyguanosine が増える可能性がある。それはそうだと思います。

したがって、CYP2B がたくさん誘導がかかるということは、ひょっとするとプロモーター作用を高めているようなことにもなりかねないということになるんですけれども、そうすると CYP2B の誘導剤は全部発がんのプロモーター、あるいは発がん剤になるのではないかということにもなりかねない。しかし、必ずしもそういう証明がなされていないので、現段階で、それを受け入れたくはないんです。したがって、結果的に 8-hydroxydeoxyguanosine はできるわけですけれども、それをつくるものがすべてイニシエーターとして考えるということに関しては、疑問があるということなんです。

○津田（修）専門委員 先生のおっしゃるとおり、Cyp の誘導や酸化ストレスさらには 8-OHdG がプロモーター作用を持つ可能性はあると思います。

ただ、酸化ストレスはプロモーターだというような単純なことではないということをはっきりさせて、8-OHdG ができたら、むしろイニシエーター作用があるとして考えなくてはだめだろうと私は思っています。

○小澤座長 もうちょっと、この審議を進める上でプラクティカルなところを考えたいと思います。

そうしますと、この 8-hydroxydeoxyguanosine の現象を方法論を変えて調べてもらうということはこれでいいと思いますけれども、イニシエーションであるか、プロモーションであるかということは、先ほど津田先生から御提案があったような、本薬アミスルブロムを一番最初に投与しておいて、その後、フェノバルビタールを投与するというプロトコルをやってもらうというのがいいのではないかと私は思いますが、いかがですか。

○津田（修）専門委員 もし、できればですけれども、これは専門の太田先生の意見が重要と思いますが、私は 3 点セットでネガで 8-OHdG がネガティブであれば、今までの通例に従って、あえてここで逆向きまで要求する必要はないのではないだろうかと思っていますが、もしポジティブに出たときは、やっていただきたいということです。

○小澤座長 太田先生、この点はいかがでいらっしゃいますか。

○太田専門委員 他の変異原性試験で、変異原性を疑わせるような兆候がないんです。確かに 1 週間投与は問題があると思います。

先ほど、免疫組織学的方法ですので、その辺りの確定性があるということで、しっかりした 8-OHdG をはかっていただいて、それで差がないということがはっきりわかれば、それでいいのではないかと思います。

○小澤座長 そうすると、そこをしっかりとやっていただいて、その回答を見て改めて見解を出すということで、よろしいですか。

(「はい」と声あり)

○小澤座長 ありがとうございます。

それでは「vi) 肝小核試験(ラット)」。これを私が説明するなど、非常に僭越なんですけれども、太田先生にお願いしたいと思います。

○太田専門委員 先ほど説明いたしましたけれども、ラットに 500 と 2000 mg/kg 体重で投与いたしまして、肝細胞を取りまして、そこに染色体異常があるかどうかということ調べた試験です。

次の「vii) コメットアッセイ」は、同様に 500 と 2000 mg/kg 体重で投与したラットないしはマウスから肝細胞を取りまして、そこに DNA の切断があるかどうかというのを調べた試験です。

いずれも、結果は陰性だということです。そういうことで、これで見える限りイニシエーション作用はなさそうだと推定できるかと思います。

○小澤座長 ありがとうございます。

続きまして「(2) 胃における催腫瘍性に関する検討試験」。これは吉田先生、お願いしてもいいですか。

○吉田専門委員 これはコメットアッセイです。

○小澤座長 そうですね。それでは、お願いします。

○太田専門委員 これも、DNA 損傷性がなかったということを一応調べておりましたので、これは問題ないかと思います。

○小澤座長 問題は、その次です。「(3) 繁殖成績低下に関する検討試験」ということで、これはお願いできますか。

○吉田専門委員 それでは、もし不足があれば鈴木先生に補足していただくとします。

「(3) 繁殖成績低下に関する検討試験」といたしまして、28 日間投与して、ホルモンをラットで測定し、子宮肥大抑制試験、あとはアロマトラーゼ活性阻害試験、胎児卵巣への影響と、4 つ追加試験をされております。

まず、ホルモン測定につきましては、たしか FSH、LH、エストロゲン、プロゲステロン、プロラクチンと 5 種類はかかっていらっしゃいましたけれども、影響はなかったということです。

子宮肥大抑制試験につきましては、幼若ラットを使いまして検体を投与して、更にその

後、EBでしたか、EEでしたか、エストロゲン剤を投与して、子宮肥大抑制について見ましたけれども、抗エストロゲン作用はありませんでした。

アロマターゼにつきましても、アロマターゼインヒビターを用いていたと思いますけれども、抗アロマターゼ活性はありませんでした。

4番目につきましても、原始卵胞及びアポトーシス小体に変化はなかったので、胎児の卵巣の卵胞形成にも影響はないだろうということで、いずれも陰性という結果になっております。

以上です。

○小澤座長 どうもありがとうございました。

鈴木先生、何か御追加などございますでしょうか。

○鈴木調査会座長 基本的には、ホルモンをはかってみても、子宮の重量増加作用の抑制を見ても、あるいはテストステロンからエストロゲンに変わるところを見ても全然作用がないので、この形では説明がつかない。勿論、胎児卵巣への話ということもありますけれども、その結果、最終的には哺育期における著明な体重増加抑制により正常な発育が抑制された結果、発現したものと考えるという推測をしているんですけども、これで本当にいいのでしょうか。よくわかりません。

いずれにしても、この成績自体は繁殖試験の時の問題を説明するような内容にはなっていません。

○吉田専門委員 すみません、先ほどのホルモンの種類を間違えました。

雄がテストステロンで、エストロゲンを測ってなくて、雌はプロラクチンということですよ。

この測定時期は性周期のいつということになっていますか。

○鈴木調査会座長 書いていません。

○小澤座長 そうしますと、この評価書（案）たたき台の54ページの最後の2行ぐらいですか、あるいは最後のパラグラフですか「表に示した試験の結果から」、この辺はいいとして「生殖器、性ホルモン及び胎児卵胞には直接影響しないことが確認された」。それ以下の記述というのは取った方がいいということになりますか。

○鈴木調査会座長 どうしようかと思って、考えているんです。何で哺育期に子どもが育たないのかというところがもうちょっとわかればいいかなとは思ったりもするんです。

先ほどお話ししたような、腎臓に分布するのが乳腺にも分布するし、乳汁分泌とかそういうようなものが減っているというような話でもあれば、薬のせいだというより直接的な

話にはなりますけれども、そこまで言わなくてもよしとするのであれば、それはそれでもいいかなと思ったりもするんですけれども、ちょっと私はわからない、判断がつけにくいところです。

少なくとも、吉田専門委員から言われているように、ホルモンの測定時期が性周期のどこのステージだったのかとか、何でウテロトロピック抑制試験しかやらなかったのかとか、そういうようなことはちょっと聞いてみた上で、もう一度考えた方がいいのかもしれない。

少なくとも、繁殖試験のところに出てきているような影響から、何でウテロトロピック抑制試験を思いついたのかというのは、私はあまりはつきりわかりません。

○小澤座長 そうすると、むしろ、今、鈴木先生がおっしゃられた2点、ウテロトロピックということと、性周期の点についてコメントを出すという方がいいかもしれません。

この項では、吉田先生からも質問が出ています。今の性周期のどこのステージだったのかということと、子宮肥大抑制試験をまさにおっしゃられているわけで、これを出すということによろしいのではないかと思います。

全体を通して、何かございますでしょうか。その後に追加資料要求事項をまとめたいと思います。

どうぞ。

○吉田専門委員 やはり、先ほどの8-OHdGが気になっておまして、7日間でなくて52週なり、発がん性の標本があるわけですから、それを用いて、例えば免疫染色が補助的な方法だとしても、もし、より長期になれば出る可能性もあるかと思しますので、もう一度、それをしていただくというのはいかがでしょうか。

○津田（修）専門委員 私は、技術的に、どういように取ってあるかわかりませんが、できるのであれば、いい方法だと思います。併せて頼んでみるといいと思います。

○吉田専門委員 ただ、実を言いますと、この抗体が結構、胆管上皮などにも必ず陽性に出てしまったり、あまり安定した結果が得られるかどうかというのは疑問なところもあるので、ただ、材料があるのであれば、確認していただくのはいかがかなと思います。

○小澤座長 どうぞ。

○出川専門委員 もうちょっと言わせていただくとありがたいんですが、発がん過程の組織がもし見られるようなことができるのであれば、初期と中期と最終期とをやっていたら、それにこしたことはありません。

それはどういうことかといいますと、私は発がん実験過程において、こういう代謝酵素

と、DNA 修復酵素などの発現変動を同時に見たことがあるんです。そうすると、イニシエーションフェーズからプロモーションフェーズにおいてはこういったものが誘導されて、あるいは組織としてたくさんそういうものが観察されてくるんです。ところががん化していきますと、がん細胞ではそれが消えていくんです。だから、消えたところで見ても結局わからないので、もし可能であれば、初期段階と中期と終わりの 3 段階できちっと測定・観察することが重要だと思います。

○吉田専門委員 亜急性がありますね。

○出川専門委員 多分、それが一番確実だと思います。

○小澤座長 それは、切片の免疫染色ですか。

○吉田専門委員 そうです。13 週がありまして、52 週がありまして、104 週があります。

○鈴木調査会座長 その場合、免疫染色する指標は何と何を染めるんですか。

○吉田専門委員 少なくとも、8-OHdG は染めていただければいいわけですね。その他としては、例えば CYP の酵素とかですか。

○出川専門委員 あとは、それだけでいいですか。

○吉田専門委員 2B もきれいに出来ますね。

○出川専門委員 発がんのマーカーみたいなものは、何か見た方がいいんですか。

○吉田専門委員 PCNA とかですか。

○小澤座長 方法論として、もうちょっと化学的なものを 1 つ入れるべきではないかと私は思いますけれども、そこはどうですか。それもコメントの中に織り込んで、両方はかってもらうというニュアンスのコメントの方がいいのではないですか。

○吉田専門委員 確かに、補助診断なので、そのものをはかっていただければ一番いいかだと思います。

ただ、7 日で本当に出るかどうかというのが、今回 13 週でちらっと出始めた胆道の変化が、ラットでは例えば 104 週ではものすごく顕在化していたりするので、そのために測るだけでなく、材料がもしあるならば、それに免疫染色を追加するというのは新しい試験を起こすわけではないので、材料は免疫染色の場合はあることですし、両方ダブルでしていただくのが一番いいかとは思いますが。

○鈴木調査会座長 私は、素人でわからないんですけれども、8-OHdG というのはホルマリンで固定しておいて、かなり安定なんですか。大丈夫なんですか。

その辺のところ、今回の話は一応、1 週間の実験を 2005 年に新たにやっているんですね。だから、その辺りのところを一応知った上で要求しないと、古い標本では使えない

というようなことだったらしよがありません。

○津田（修）専門委員 8-OHdGをはかるときはいろんな条件で、正常のグアニンが酸化される可能性があるので非常に気をつけるということもあるんです。

私は新鮮なものでしかやったことがないので分かりませんが、先生おっしゃるように、あまり古いものを使ったら、それはあるかもしれません。

私はやはり、きちっとした方法でやり直して、1週間でいいのではないかと思っています。

○鈴木調査会座長 先ほど、太田先生の方からステップ・バイ・ステップの考え方が示されていて、恐らく、あれは試験をやった上で、ネガティブだったらもういいではないか、ポジティブだったらまた考えよう。でも、ポジティブだったらまた考えようというのは、ポジティブだったら次の試験をやれというふうに、今、言っておけばそれで済むことですね。

だから、そのときに古い材料を使って物を見るのか、それとももう一度、中期発がんのちょうど逆のような、投与のところを逆にするような形の問題で物を見るのか、その辺のところ収めた方がいいような気もするんです。

○吉田専門委員 それでは、中期発がんの材料もあるんですね。

○鈴木調査会座長 あるいは、もっと柔軟に考えて、今まである材料を、この目的のために使えるものは何でも使って、もう一度、答えを出せというふうに言ってもいいんですけども、何かあるでしょうか。

○津田（修）専門委員 さっき言ったみたいなもので、ともかくプロモーターしかないといえますか、イニシエーターでないというデータが欲しいと思います。

それで、何とかしてほしいというのが1つありまして、これは本当に個人的なんですけれども、たとえイニシエーターであったとしても、それが弱い場合には、私は閾値を考えていかなければいけない時代に来ているんだろうと思います。

オール・オア・ナンの判断で、プロモーターだから閾値があっていいんだ、**genotoxic carcinogen**だから閾値がなくだめだという時代ではないと私は思っていて、もし8OHdGでポジになったとき、こちらでそのことを考えなければいけないような気はしています。

○鈴木調査会座長 ジェノトキシック・カルシノーゼンだというときに、発がんに関わる遺伝子が誘導されてくるか、あるいは抑制する遺伝子がおかしくなるか、何かそういったような直接的な細胞増殖、あるいはがん化するところに証拠が出てくればいいけれども、私の見解では、8-OHdGの話が、ある意味ではランダムヒットでしょう。その辺

のところ、必ずしもイニシエーターだという証拠にはなりませんね。

○津田（修）専門委員 ランダムヒットがイニシエーターの証拠にならぬと言い出すと、アダクト形成もランダムヒットで、それらがイニシエーターの原因になりますから、そういうことは言えないと思います。

○鈴木調査会座長 いずれにしても、直接、何かがん化に関わる因子を動かしているというふうには言えませんね。そこまではいいでしょう。

○津田（修）専門委員 そうです。

私が思っているのは、我々の今までのスタンスは、ともかく **genotoxic carcinogen** だったら閾値がないから、基本的に含まれてはいけない。プロモーターだったら、閾値があるから良いのだといいますけれども、例えばポジティブリスト制度を採用しましたね。一律基準 **0.01 ppm** でいいといったときには、**genotoxic carcinogen** がたとえ入っていたとしても、非常に低い濃度であれば、例えば $1.5 \mu\text{g}/\text{人}/\text{日}$ 以下であれば、**TTC** 閾値は **VSD** の考え方で、確率論的に発がんの可能性が **100 万分の 1** 以下になるのならばいいのではないかとしたわけです。

片方で、それを採用しているわけではないですか。そうしたら、個々の剤についてもそういう考えをしていくべきではないかと、私は個人的には思っているんです。

○太田専門委員 ただ、今回の **8-hydroxydeoxyguanosine** は、できただけでは別に突然変異ではないんです。ですから、それはこれが陽性だからといって、すぐにそれがイコール、ジェノトキシックではない。一つの原因になり得るということですから、まず、そこを見ましようということですので、これはちょっと増えていたからすぐに変異原性、陽性だと判定するというものではないと思います。

○津田（修）専門委員 私も、あまり次々言うのはあれで、この次はこれをやれとか、あまり言ってもしょうがないと思います。結果を見てからのこちらの判断もあると思います。

○鈴木調査会座長 確かに、実験をやってみないとわからないところがありますね。だから、その意味ではステップ・バイ・ステップにしておいた方がいいのかもしれません。

○小澤座長 そうすると、津田先生としては 1 週間投与で化学的な方法というサジェスションですか。

○津田（修）専門委員 そうです。最初に言いましたように、1 週間投与でちゃんとやって、出なかったら、これはいい。

つまり、繰り返しになりますけれども、3 点セットといいますか、今までやられている変異原性試験でネガティブですから、そして、1 週間やってみてもネガティブならば、発

がん性があっても、それは今までの状況から見て、プロモーターだといっても大きな間違いはないだろうと思っています。

○小澤座長 太田先生、具体的な方法論としてリコmendされるのはいかがでしょうか。

○太田専門委員 同じ意味です。化学的に分析してもらえればいいと思います。

○鈴木調査会座長 今後の問題かもしれませんが、病理の吉田さんが心配しているように、肝細胞ではなくて胆管のところに変化があるというところが今の話ではなかなかつながらないところが出てきますね。だから、その辺を今後どうするかの話で、それはペンディングにしておいてもいいとは思いますが。

○吉田専門委員 ただ、今回発生している腫瘍が肝細胞腺腫であって、胆管系のものではないので違うのかなとは思いますが、それはまた別の毒性として今後、今回、質問も出していますし、お答えをいただいてから次のステップとして考えてもいいのではないかと思います。

○鈴木調査会座長 最終的には、胆管の場合というのは閾値があるとかというような反応で見えてくれば、今の腫瘍性の話とは切り離してみてもいいのかなというふうには思いません。

○小澤座長 それでは、8-hydroxydeoxyguanosine に関しては大体、方法論がまとまっただと考えるとよいのではないかと思いますので、最初から追加資料要求についてまとめて、今日のこの剤はおしまいということにしたいと思います。

よろしいですか。

評価書（案）たたき台 30 ページが、追加資料要求 1 になるかと思いますが、その前にありましたか。いいですね。

○吉田専門委員 最後のところを見たらいかがですか。

○小澤座長 そうですね。

これの 1 番ですね。「亜急性毒性試験（ラット）について、以下の資料を提出すること。

1) 6300 ppm 以上の雄で観察された肝臓比重量の増加及び 20,000 ppm 群の腎比重量の増加について、本試験では GGT をはじめとして ALT など肝障害を示す生化学的項目が本試験の高用量群で認められ、同様の結果は慢性毒性・発がん性でも認められている。腎臓についても軽度ながら BUN の増加が認められている。これらの増加を投与の影響としなかった理由を示すこと」。これでよろしいでしょうか。

「2) 報告書 II (資料 No. 原体-8 Table11 p.74) では腎比重量の増加について有意差は記載されていない。統計処理を確認すること」。

それから、この項目でディスカッションしていたときに、肝肥大の性差について動物代謝の試験との関連を考慮して考察されたいというのがあったと思います。

それだけです。

2 番「亜急性毒性試験（マウス）において、肝臓障害を疑う所見が得られているにもかかわらず病理組織学的検査を実施しなかった理由を示すこと」。これはこのものずばりだったと思います。

3 番「亜急性毒性試験（イヌ）において、報告書には体重値しか記載されておらず、イヌの試験のように個体差のある試験において投与による体重変動が分かりにくい。体重値の群ごとの表では有意差はなく、体重のグラフにおいても記載されている体重増加抑制は分かりにくい。体重増加量についてのデータを加えること」。これは非常にはっきりしていると思いますが、よろしいですね。

4 番「反復経皮等毒性試験（ラット）について、以下の資料を提出すること。

1) 雄の体重増加抑制を毒性の根拠にしているが、有意な低下であるのか確認すること（報告書 III（資料 No. 原体-11）及び抄録に統計結果が記入されていない）。

2) 投与部位における表皮過形成の増強を投与方法に起因した物理的的刺激と考察しているが、同様に処置をした低及び中間用量群で観察されなかった理由と、程度についての統計学的処理の有無について示すこと」とあります。ここは、これでよろしいですね。

○吉田専門委員 すみません、中間用量群の検索例数が少なかったこともあります。

○小澤座長 そうですね。これは事務局と吉田先生の間で相談をしながら固めていくということになっていたと思います。

5 番「発がん性試験（マウス）において、中及び高用量群で観察された盲腸変化の原因として考えられるものについて示すこと」。

6 番目は項目が多いんですが「慢性毒性/発がん性併合試験（ラット）において、投与に関連して認められた発生機序と以下に挙げる各変化の関連性について考察すること」とありまして、このうち、生殖腺の萎縮は後とダブっているので、これは取るということだったと思いますが、その代わりに前胃の炎症の意義という項目が入っていたと思いますので、それを加えます。

7 番「2 世代繁殖試験（ラット）において、雌（とくに F1 世代）に認められた性周期、生殖器などの変化（性周期はエストロゲン様の変化を示しているにも関わらず、生殖器は萎縮性の変化を示している）の発生機序と投与との関連性について明らかにすること」。これは、これでよろしいですね。

性周期が変わって、持続発情する現象についてどう考えるかということも入っていたと思います。

最後、これは江馬先生から出たものですが「発生毒性試験（ラット）において、奇形については奇形の表毎にまとめて表に記載し、統計処理を行うこと。また、これらの発現が投与の影響によるものではないとするなら、これらの型の奇形の発現頻度が背景データの範囲内であることを示すこと」とあります。これは前もって出ていたことでありますが、今日の審議の結果、追加されたものが 8-hydroxydeoxyguanosine であります。これが、本剤 1 週間投与後 8-hydroxydeoxyguanosine の生成を免疫染色でなく、HPLC 等、化学的な方法によって測定してください。これでよろしいですか。

（「はい」と声あり）

○小澤座長 他に、追加資料要求はございましたでしょうか。大体、このくらいかと思えます。

それでは、事務局、修文その他の方、よろしくお願いいたします。

○都築課長補佐 わかりました。

○小澤座長 他になければ、よろしいですか。

すみません、随分、時間を延長してしまいました。事務局、実は今日はもう一剤あるんですけれども、どうしますか。

○都築課長補佐 もう時間を過ぎていますので、本日はこれで終わらせていただいた方がよろしいと思えます。

○小澤座長 どうもすみません、今日は進行不手際で時間が延びてしまいましたけれども、ありがとうございました。今日はコメントが多数出たということで、継続審議とさせていただきます。

○都築課長補佐 すみません、今後のスケジュールだけ紹介させていただきます。

今後、総合評価第一部会を 9 月 6 日に予定しております。また、この総合評価第 2 部会につきましては 9 月 25 日に予定しておりますので、よろしくお願いいたします。

○小澤座長 ありがとうございました。

これでよろしければ、本日の会議を終了させていただきます。ありがとうございました。