

食品安全委員会農薬専門調査会 総合評価第二部会 第4回会合議事録

1. 日時 平成18年9月25日(月) 14:25～16:49

2. 場所 食品安全委員会大会議室

3. 議事

(1) 農薬(クロチアニジン、ビフェナゼート及びオキサジアルギル)の食品健康影響
評価について

(2) その他

4. 出席者

(専門委員)

小澤座長、石井専門委員、大澤専門委員、出川専門委員、
廣瀬専門委員、吉田専門委員

(他部会からの専門委員)

鈴木調査会座長、山手専門委員

(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、都築課長補佐、宇木評価専門官

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 クロチアニジン安全性評価資料(非公表)

資料3 ビフェナゼート安全性評価資料(非公表)

資料4 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 それでは、ただいまから第4回「食品安全委員会農薬専門調査会総合評

価第二部会」を開催いたします。

本日は、総合評価第二部会の専門委員 9 名のうち 6 名の方が御出席を予定されております。このうち、出川先生におかれましては少々遅れるとの連絡をいただいております。

また、先ほどここで行われました幹事会に出席された農薬専門調査会の鈴木調査会座長、それから、幹事会委員の山手専門委員におかれましても御出席をいただいております。

○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、クロチアニジン、ピフェナゼート及びオキサジアルギルです。

開催通知等で御連絡いたしましたように、本日の会議につきまして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、事務局より資料の確認をお願いいたします。

○都築課長補佐 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 9 月 22 日現在）」。

資料 2 、クロチアニジン評価書のたたき台。

資料 3 、ピフェナゼート評価書のたたき台。

資料 4 、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いております。

また、先日の農薬専門調査会総合評価第一部会から、親委員会及び専門調査会の議論を活性化し、親委員会と専門調査会との連携を強化するという趣旨で、食品安全委員会に設置されている評価グループの 13 の専門調査会に、常勤の委員が担当者として就かれることになりました。農薬専門調査会につきましては、主担当委員が長尾委員、担当委員が見上委員となっております。その他の委員につきましても、御出席が可能であれば、これまでと同様に御参加いただくこととしております。

本日の会議には、長尾委員、見上委員、両委員が御出席されております。

また、関係省庁からオブザーバーとして厚生労働省、農林水産省及び環境省の担当の方も出席しておりますので、あらかじめ御報告申し上げます。

○小澤座長 それでは、今回、当専門調査会の担当となられました長尾先生並びに見上先生、両先生におかれましては、何か御発言をいただけますでしょうか。

○長尾委員 今、お話がありましたように、親委員会として、この専門調査会をサポートするという意味で担当を決めて、いろいろ御相談にのったり、いろいろお役に立つことをしたいと思います。この領域は、非常に仕事の分量も多いし、大変なところだと思いますけれども、よろしくお願い致します。

○見上委員 担当委員になりました見上です。よろしくお願い致します。

○小澤座長 ありがとうございます。それでは、審議に入らせていただきます。

本日は、鈴木専門調査会座長、山手専門委員が出席されていらっしゃいます。両委員におかれましても審議に御参加いただき、それぞれ御専門の立場から御意見をいただきたいと思っております。

まず、農薬クロチアニジンの食品健康影響評価についてを始めます。最初に、経緯を含め、事務局より御説明いただけますでしょうか。

○都築課長補佐 まず、クロチアニジンにつきましては、一度、当専門調査会で御審議をいただいております。平成17年1月27日に食品安全委員会委員長より厚生労働大臣あて食品健康影響評価を通知しております。

その後、農薬取締法に基づく適用拡大申請がなされまして、平成17年10月21日付けで厚生労働大臣より意見聴取がされております。適用拡大申請されている作物は、はくさい、ブロッコリー、アスパラガス等です。

また、本剤は、いわゆるポジティブリスト制度導入のための暫定基準が厚生労働省より告示されておまして、平成18年7月18日付けで厚生労働大臣より、この点について意見聴取されております。

暫定基準が設定された農薬については、優先評価物質以外は原則として確認評価部会で審議されることとなっておりますが、本剤については以前から農薬専門調査会のころより審議されている剤でございますので、総合評価部会で御審議いただきたいと思っております。

評価資料につきましては、事前に送付しておまして、担当分野ごとに御確認いただいているところでございますが、毒性に関する新たな知見は追加されておられません。前回作成した農薬評価書に作物残留試験に関する部分のみを追加しております。

必要な生データ等がございましたら、お申し付けください。

以上です。

○小澤座長 ありがとうございます。それでは、ただいま御説明いただきました次第によりまして、クロチアニジンの審議を始めさせていただきますと思っております。

適用拡大に当たりまして提出された資料は、作物残留に関するものでございますので、この剤の担当の石井先生よりごく簡単に御説明をお願い申し上げます。迅速な議事進行のために御協力をよろしく申し上げます。

○石井専門委員 それでは、簡単に説明します。

説明のために、1枚紙で代謝と分析法の簡単な資料を既にお配りしてあると思っておりますけれども、今回追加されたものは、どれが追加されたかはこれではわかりにくいんですけれ

ども、小豆とか、インゲンマメとか、ハクサイ、ブロッコリー、リーフレタス、サラダ菜、ニラ、アスパラガス、エダマメ、レンコン、ネクタリン、アンズ、スモモ、イチゴというようなものが追加されております。ですから、ほとんどの農作物に登録があると思った方がいぐらい、広く使用されております。

このものにつきましては、分析は、この 1 枚紙を見ていただきますと、構造式を書いておきましたが、クロチアニジンの植物代謝は、測定としましては親化合物だけなんです、初期のころは下線を引っ張ったものは全部測定されておりました。これは念のために測定したということで、これを見ていただくとわかりますように、親化合物が大半の残留のほとんどを占めております。そういう状態ですので、追加された今の作物につきましても、親化合物を液クロで測るという方法で分析されております。

特に、これを見ましても、例えばリーフレタスとかサラダ菜のようなものは、確かに面積も広いものですからそれなりの残留値を示しております。ニラもそうなんです、それはそれなりに、事務局の方で計算していただいた数値に基づく暴露のトータルの数値というものが載っておりますので、特にそれで問題がない限りは、一応、ADI の 8 割ぐらいをめどに、それ以内に抑えるようなことをしておられると思いますけれども、特に問題はないかと思えます。

クロチアニジンにつきましては、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。適用拡大を求められた作物の種類が大変多くなっております。

御発言の内容に関しまして、他の専門委員の方から御意見がございましたら、よろしくお願いたします。

よろしゅうございませうか。

(「はい」と声あり)

○小澤座長 それでは、本日の審議を踏まえまして、評価書(案) たたき台の 26 ページから 27 ページにかけまして「各試験における無毒性量及び最小毒性量」の表、それを持ちまして、各試験の無毒性量の最小値がラットを用いました 2 年間慢性毒性/発がん性併合試験の 9.7 mg/kg 体重/日でありましたので、これを根拠として、安全係数 100 で除しました 0.097 mg/kg 体重/日を一日摂取許容量、ADI としたいと思えます。

これでよろしゅうございませうか。何か御意見がございましたらお願いたします。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。

今後の進め方につきまして、事務局より御説明をお願い申し上げます。

○都築課長補佐 本日、ADI の評価をいただきましたので、これを審議結果案として農薬専門調査会幹事会に報告する予定です。

農薬評価書の案につきましては、修正箇所も特にございませんでしたので、もう一度よく見直した上で提出したいと思っております。

○小澤座長 ありがとうございます。それでは、そのような次第でよろしく願い申し上げます。

それでは、資料 3、農薬ピフェナゼートの食品健康影響評価について審議を始めたいと思います。

まず、この経緯を事務局より御説明いただけますでしょうか。

○都築課長補佐 ピフェナゼートにつきましては、一度、こちらの農薬専門調査会で御審議をいただいております。平成 17 年 1 月 6 日に食品安全委員会委員長より厚生労働大臣あて食品健康影響評価を通知しております。

その後、農薬取締法に基づく適用拡大申請がなされまして、平成 17 年 10 月 21 日付けで厚生労働大臣より意見聴取されたものです。適用拡大申請作物は、小粒核果類、サトイモ及びヤマイモ等です。

また、本剤につきましても、いわゆるポジティブリスト制度導入のための暫定基準が厚生労働省より告示されております。これに合わせまして、平成 18 年 7 月 18 日付けで厚生労働大臣より意見聴取されております。

暫定基準が設定された農薬については、優先評価物質以外は、原則、確認評価部会で審議することとなっておりますが、本剤についてもクロチアニジンと同様、総合評価部会で御審議いただきたいと思います。

評価資料につきましては、事前に先生方にお送りして確認いただいているところですが、本剤につきましても毒性に関する新たな知見は追加されておられません。前回作成した農薬評価書に作物残留試験に関する部分のみを追加しております。

必要な生データ等がございましたら、お申し付けください。

以上です。

○小澤座長 ありがとうございます。それでは、ただいま御説明いただきました次第によりまして、ピフェナゼートの審議を始めたいと思います。

適用拡大に当たりまして、提出された資料は作物残留に関するものでございます。そこ

で、石井先生よりごく簡単に御説明をよろしくお願い申し上げます。

○都築課長補佐 すみません、その前に、本剤につきまして事前に出川先生から何か所か御指摘をいただいております。私の方から少し紹介させてください。

まず、7 ページ、動物代謝の表 1 のところなんですけれども、数字の間違いが指摘されました。表 1、ビフェニル環の ^{14}C 標識をした雄のところ「血漿 (6.39)」となっておりますが、「6.29」でございました。

8 ページに移りまして、同じく表 1 の一番上の部分、左上に「膀胱 (73.1)」とあるんですが、これが「73.0」の誤りであるという御指摘をいただきました。

同じく 8 ページの 8 行目から 10 行目にかけて、動物代謝の排泄について書いてあるんですが、この部分については糞中排泄の記述が不十分ではないかという御指摘をいただいております。

11 ページの表 4 で、中ほどに組織分布というところがございまして、これの 6 時間後のビフェナゼートのカラムのところ「脂肪 (2.95)」というのがあるんですけれども、これが「2.75」の誤りではないか。

御意見をいただきまして、すぐに事務局で確認いたしましたところ、数字の修正については先生の御指摘のとおりでございました。

8 ページの糞中排泄のところについては、先生方から御意見をいただければと思います。以上です。

○小澤座長 ありがとうございます。どうもすみません。

8 ページのところなんですけれども、確かに 8 ページの 8 行目に「ビフェナゼートは速やかなヒドラジン酸化（以下『アゾ化』という。）の後」と書いてございます。

本剤の特徴は、比較的、脂溶性に富む化合物で、腸肝循環を受けまして糞中排泄が主になっているという代謝プロファイルを示す剤でございます。確かに、この農薬抄録を順番に見ていきますと、この出川先生からの御指摘の箇所なんですけれども、抄録の IX-12～IX-24 というところに当たりますが、これは 1998 年の **Ricerca Incorporation** というところが GLP 対応で動物体内運命試験に関する試験を行っている結果でございます。

ここには、尿中の代謝物のプロファイルが載っております。ここに関しては、記述は正しいのでありますが、糞中につきましては、評価書（案）たたき台のページを少し先に進んでいただきまして、10 ページの 27 行目となるかと思いますが「(6) ビフェナゼート及び代謝物 B のラットにおける吸収、分布、代謝及び排泄」という項目がございます。

これをまとめたものが 11 ページの表 4 にあるのでございますけれども、これは実は抄

録の IX-25 ページから先の、先ほどとは別の試験でございまして、これは 1999 年に日産化学工業が試験機関となりまして、ラットにおける吸収、分布、代謝、排泄の試験をやった結果が評価書（案）たたき台にまとめてございます。こちらには、私が先ほど申し上げた特徴を踏まえまして、本薬の代謝プロファイルが明瞭に書かれてございまして、代謝物の名前も当然、記されてございます。

したがいまして、評価書（案）たたき台としましては、8 ページの記載が尿中の排泄、10 ページ以下の記載が糞中を合わせた代謝物のプロファイルの紹介ということで、一連の流れとなっているので、これでよいのではないかと私は考えております。この点、後ほど出川先生がいらっしゃいましたら御確認をさせていただければよいのではないかと考えております。

いかがでございでしょうか。

それでよろしければ、申し訳ございません、石井先生、作物残留に関するところをよろしくお願い申し上げます。

○石井専門委員 この農薬につきましては、今回、サトイモとかヤマイモ、ピーマン、ウメが追加データとして出ております。

これも、1 枚の紙に対象の代謝物と、簡単な分析法の概要を書いております。

この剤は、分析法のところを見ていただきますと、対象は親化合物であるヒドラジンの NH-NH になっている、これはヒドラジンのタイプで親化合物で、それが酸化されてアゾ-N=N というものができるメインの代謝物なんですが、実は分析途中で親がこれに変わることがわかりましたので、代謝物の量としましては、裏を見ていただきますと、この変化生成物の方はほんの数% ぐらいしか出ないので、親が圧倒的に多いんです。

結局は、初期のころはそれを分けて分析して、親に戻して合算値を出しておったんですが、今はトータル法といまして、アスコルビン酸で還元しまして、そのまま親化合物の形で代謝物を含めて測定するという方法が取られております。

出されました残留データと暴露量を計算しますと、この評価書（案）たたき台の 20 ページのところの摂取推定量という、事務局で計算していただいたものが出ております。これの見方は、今まで説明したことがなかったんですけども、この表 8 の一番下の合計の欄を見ていただきますと、例えば国民平均のところの説明しますと、合計 $51.5 \mu\text{g}/\text{人}/\text{日}$ というふうになっております。1 人当たり 1 日に $51.5 \mu\text{g}$ だから、 mg で言えば 0.05 mg です。これが、ADI の何割に収まるかというのが問題になるわけございまして、ADI のところを見ていただきますと、ADI に変更がなければ、ADI が $0.01 \text{ mg}/\text{kg}$ 体重/日で、

かける 50 で 0.5 mg/kg 体重/日ですから、それに比べれば 10 分の 1、要するに最大限の評価をしても 10% ぐらいの暴露ということになります。

以上です。

○小澤座長 ありがとうございます。ADI 候補の値と比較して、1 桁違うという御説明でございました。

大澤先生の方から、何かございますでしょうか。

○大澤専門委員 特にありません。

○小澤座長 ありがとうございます。他の専門委員の先生から御意見はございますでしょうか。

よろしければ、これで修正はございませんので、本日の審議を踏まえまして、ビフェナゼートの一日摂取許容量につきまして、毒性の資料、評価書（案）たたき台の 33 ページの「表 2 2 各試験における無毒性量」から、イヌの慢性毒性試験を ADI 設定根拠資料 1、ラットの 2 年間の慢性毒性/発がん性併合試験を設定根拠資料 2 としまして、無毒性量 1.0 mg/kg 体重/日ということで、これを根拠としまして、安全係数 100 で除し、0.0 1mg/kg 体重/日を一日摂取許容量としたいと思います。

これでいかがでございましょうか。

（「異議なし」と声あり）

○小澤座長 ありがとうございます。

これでよろしければ、今後の進め方について、事務局から御説明をお願いいたします。

○都築課長補佐 本日、評価をいただきましたので、これを審議結果の案といたしまして農薬専門調査会幹事会に報告する予定です。

評価書につきましては、出川専門委員の御指摘もございましたので、その部分を再確認した上で、必要な部分を修正させていただきます。

以上です。

○小澤座長 ありがとうございます。まだ出川先生がお見えになっていらっしゃるけれども、お見えになり次第、確認をするということで、そのようお願い申し上げます。

それでは、次の評価書（たたき台）で、資料 4 オキサジアルギルの食品健康影響評価について始めたいと思います。

まず、この経緯を事務局より御説明いただけませんか。

○都築課長補佐 オキサジアルギルにつきましては、農薬取締法に基づく適用拡大申請が

されております。平成 15 年 11 月 17 日付けで厚生労働大臣より意見聴取されたものです。適用申請作物は水稻です。

平成 15 年 12 月開催の第 4 回農薬専門調査会、平成 17 年 5 月開催の第 30 回農薬専門調査会の審議結果を踏まえまして、本年 4 月 3 日に追加資料が提出されました。今回が 3 回目の審議となります。

評価資料につきましては、事前に先生方に送付しており、担当分野ごとに御確認いただいているところでございます。

農薬評価書のたたき台につきましては、各専門委員の方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。

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 ありがとうございます。それでは、オキサジアルギルの審議を始めさせていただきますと思います。

追加資料要求は、全部で 7 項目ございます。1 項目は動物代謝関連のもの、1 項目は酵素の名称確認、その他が毒性関係でございます。

まずは、動物代謝から説明を申し上げます。各分野とも、御説明は 5 分から 10 分程度でよろしくお願い申し上げます。

動物代謝につきましては、平塚先生からオキサジアルギルの追加資料要求事項 1 についてということで、別紙 1、一番最後から 2 番目、評価書（案）たたき台の最後から 2 ページ目でございます。ここに「オキサジアルギル追加資料要求事項 1 について」とあります。理由を読ませていただきますと「一般にフェノール性水酸基やアルコール性水酸基は、グルクロン酸あるいは硫酸抱合を受け易い官能基として知られている」。このことは、評価書（たたき台）の最初のところ、6 ページの構造式を御覧いただければと思います。

「申請者は前報において、オキサジアルギルのラット尿中抱合代謝物として、2 種のグルクロン酸抱合体、すなわち代謝物 B のフェノール性水酸基のグルクロン酸抱合体(I)、そして代謝物 B のオキサジアゾール環 3 位のトリメチル基が酸化を受け生成した代謝物 E（フェノール性水酸基と 1 級アルコール性水酸基を有する）のジグルクロン酸抱合体(H)）ならびに、代謝物 E の硫酸抱合体（J）の生成に関する結果を記載していた。しかしながら、硫酸抱合体（J）の前駆体が 2 箇所の被抱合官能基を持つ代謝物 E であるにも関わらず、その構造に関する記載が無かった。また、上述した代謝物 B ならびに代謝物 E

のグルクロン酸抱合体生成の結果も踏まえ、下記の様な疑問が生じ、追加資料の要求を行う事とした」とございます。

そういうことでございますが、申請者からの回答資料を精査いただいた結果、多少の疑問が残りますけれども、この抱合代謝物の化学分析というのは非常に難しいということが理由の一つと思われましてけれども、これ以上、このことに疑問を呈しましても、毒性評価という観点からは特に大きな問題ではないということで、申請者からの回答を了承くださるということでございました。

それが、事項の 1 でございます。

もう一つが「その他」と書いてありますが、農薬抄録の 1 行目にある UDPGT (UDP-グルタミン酸トランスフェラーゼ) の括弧内の日本語名を UDP-グルクロノシルトランスフェラーゼに修正してくださいということで、これは修正したということでございました。

それでは、第 3 項目目以下の回答に対する御意見をいただいきたいと思っております。吉田先生お願いいたします。

○吉田専門委員 それでは、申し上げます。

追加資料要求 3 といたしまして、本剤ではラット、マウス、イヌともに肝臓に色素沈着が認められまして、これがポルフィリン代謝に関わるポルフィリンの沈着ではないかということで、随分、ディスカッションがなされたのですが、この追加要求事項は評価書(たたき台)の 16 ページにも書いてありますけれども、中ほどから読みます。

「マウス及びラットで認められた沈着色素がポルフィリンである可能性が高いと考える。とくにマウスでみられた肝障害性変化(単細胞壊死、ALP、AST 増加)と肝腫瘍発生について、ポルフィリン色素沈着により酸化的ストレスが誘導され、細胞障害が発生した可能性がないか等に触れて、再考察すること」ということでした。

回答資料の最終的な回答といたしましては、酸化ストレスが関連しているのではないかということを書いているのですが、特にそれに関する証明がなされていないものですから、この文献考察だけでは不十分なのかというような気もするのですが、この質問は私だけではなくて、廣瀬先生、高木先生からも出ていますので、廣瀬先生の御意見も伺えればと思います。

○小澤座長 それでは、廣瀬先生よろしくお願いいたします。

○廣瀬専門委員 まず、ポルフィリンの検査方法なんですけれども、マウス、ラット、イヌ、それぞれいろいろな方法が使われておりまして、例えばマウスの 90 日の毒性試験では Genter らの方法を用いており、この方法ですと、パラフィン標本を蛍光的に観察し、

その結果はネガティブになっています。

マウスの 28 日の試験では、実際に肝臓の組織を抽出してきて、HPLC でポルフィリンを測定しておりますが、その結果でははっきりと沈着しているということです。しかし、パラフィン標本を使って蛍光で見ると、ネガティブである。同じパラフィン標本でも偏光フィルターを使って複屈折で見ると、ポジティブに見える。

このことを考えると、マウスの 90 日試験の蛍光染色で、一応、マイナスですけれども、28 日間の試験でも肝臓にポルフィリンの色素沈着があるにもかかわらず、この方法だとマイナスになっているんです。ですから、どうして、このマウスの 90 日試験でパラフィン切片を用いて偏光フィルターを使った方法で測定しなかったのかという疑問点があります。

ラットでは *in vitro* の試験で蓄積は起こるということですが、慢性毒性・発がん性試験では、パラフィン切片、偏光フィルターを用いた方法ではポルフィリンが証明されていない。それから、凍結切片を使って蛍光顕微鏡で見てもポルフィリンが証明されていないということですので、色素沈着があるのか無いのかよくわからない。

イヌの場合には、ラットと同じように凍結切片を蛍光顕微鏡で観察しておりますけれども、この場合にはポルフィリンは証明されています。このようにトータルで 3 つか 4 つぐらい方法を使って検討していますが、一定した結果が出ていません。ですから、試験によって別の方法を使ったのがよくわからない。

私は、この辺の検査法についてよく知りませんので、この点についてはどなたか専門の先生の意見もお聞きしたいと思っております。

○小澤座長 ありがとうございます。それでは、これに関して何か御意見がございましたら、是非いただきたいと思えます。

その前に、高木先生のコメントが評価書(たたき台)の一番最後に別紙 2 とございます。ここでは「回答資料 3」ということで「回答については了承する」と書かれていますが「ポルフィリンによる酸化ストレスについては、外から与えたポルフィリンの影響と生体内で蓄積したポルフィリンの影響が同等であるという証拠は現時点では無いと思われる」というコメントで、方法論について特に御指摘なさったところはないということですが、今、廣瀬先生がまとめてくださった 4 つの方法なんですけれども、どれがすぐれていて、どれがどうだというようなことはあるのでしょうか。

○廣瀬専門委員 私は全然わかりません。わからないから、是非、聞きたいと思っております。

○小澤座長 そうしますと、どの方法を用いても出ていないという動物はいないわけでは

か。

○廣瀬専門委員 ラットでは出ていないと思います。

○小澤座長 ただ、回答資料が変で、回答資料の 2 ページ、今回の要求 3 項の 2 ページのところだと、マウス、ラットでのポルフィリン蓄積とはっきり書かれてしまっているようなのですが、ここはどうなんですか。

○廣瀬専門委員 *in vitro* では、実際に色素沈着があるので、それがポルフィリンだろうというようなことだったと思います。

○小澤座長 そうすると、その前のページの①のポルフィリン検査法についての説明というところでは、最初のパラグラフの最後の行に、この結果、ラットの試料では確認されなかったが、イヌでは復屈折が確認されたということになってしまうわけですね。

○廣瀬専門委員 そうです。

○小澤座長 それから、次のパラグラフですと、ラットを用いた慢性毒性・発がん性試験では、凍結保存した肝試料から確認できなかったということになっています。

次のパラグラフは、マウスのことだけしか書いていない。

最後に、この申請者らが、蛍光色素により試料を染色する方法に用いられており本試験における用法としては不適切であったと考えるというふうに認めてしまっているの、それ以外の方法ということなんですか。

○廣瀬専門委員 なぜ、それ以外の方法で確認しなかったのかも疑問です。実際に、マウスの 28 日の偏光顕微鏡を使った試験法では証明されているわけなんです。

○小澤座長 わかりました。

鈴木先生、何かございますか。

○鈴木調査会座長 私、よく見えないんですけども、勘違いかもしれませんが、確認をさせてください。マウスの肝臓でのポルフィリン蓄積はなかったと言われたんですか。

○小澤座長 ラットではなくて、イヌとマウスでは観察されたということです。

○廣瀬専門委員 どうしてこういういろいろ異なった方法でやったかということについて、申請者にも聞いて欲しいのです。

○小澤座長 ポルフィリンの検査方法について、異なる動物について異なる方法を採用した根拠を説明してくださいということですね。

他の先生方は、いかがでいらっしゃいますか。

○吉田専門委員 ここがポルフィリンかポルフィリンでないかということが明らかにならないと、その次にも進めないと思います。肝の腫瘍に関してはマウスですので、次に行く

かと思うのですけれども、もし、伺えることができれば、もう一度聞いてもよろしいのではないかと思います。

○小澤座長 どうぞ。

○山手専門委員 私も、最初から審議には参加していないんですけれども、先日いただいた、この資料を見ていて、ポルフィリンのディテクションの仕方とか、方法とか、その陽性、陰性の状況が確かに非常に不ぞろいなんです。

もし、可能でしたら、申請者にポルフィリンの代謝経路をまずきちっと説明させて、ディテクション方法を幾つか挙げさせて、*in vivo*、*in vitro*、ラット、マウスでどのように検出できたかできなかったかという一覧表を整理させて、プラス、他のポルフィリンの検出方法についてどういう方法があるかということも含めて、一遍、その辺のコメントなりを再整理させたらいいのではないかという気がするんですけれども。

○小澤座長 そのような意見を各先生からいただいたわけですが、そうしますと、やはりポルフィリン検査方法を異なる動物種について用いた理由並びに根拠を、*in vivo*、*in vitro*、動物種に分けて整理することといったようなコメントをいただいた方がいいのではないかということになってしまいます。

この後、肝毒性が問題になってくると思いますけれども、これに関してはマウスは確かに明確だと思いますが、ラットについてはどうなんでしょうか。吉田先生、何か御意見はありませんでしょうか。

○吉田専門委員 高木専門委員からのコメントでも、問題は酸化ストレスとの兼ね合いということも出てくると思いますけれども、実験的に、この剤で証明しているわけではないので、一般論でしかないかなという気もします。

○小澤座長 どうぞ。

○廣瀬専門委員 付け加えますと、酸化ストレス、あるいは肝障害については、この農薬抄録の144ページに、まず *in vitro* の肝臓の初代培養のシステムを使った酸化ストレス試験というものがやっております、それでは同時に細胞毒性も見ておりますけれども、細胞毒性はないと判断しております。

それから、活性酸素を測定しているんですが、この方法は、私はよくわからないので、あまりはっきりしたことは言えないんですけれども、活性酸素があると蛍光を発するようなシステムらしいですけれども、それを用いて行った試験では、まず活性酸素らしきものは同定されておられません。同時に、グルタチオン、GSH を測定しておりますけれども、GSH についても特に動きはないということで、この *in vitro* の試験では、オキサジアルギ

ルを暴露しても肝細胞に酸化ストレスは発生しないという結論になっています。

それから、実際に *in vivo* で活性酸素について検討しているんですけども、ただ、活性酸素を直接検討しているわけではなくて、グルタチオンを測定しているというだけです。オキサジアルギルを投与するとグルタチオンが増加しているので酸化ストレスはないだろうというような結論になっていますけれども、グルタチオンだけで酸化ストレスの有無を言うのは少し乱暴かなと思います。が、*in vitro* の試験、*in vivo* の試験を合わせると、酸化ストレスの可能性は非常に低いのではないかと思います。

したがって、申請者は酸化ストレスの可能性を言っていますけれども、それは少し言い過ぎではないかと思っています。ですから、この結果をちゃんと判断して、それでディスカッションをする。つまり、酸化ストレスは否定的だというディスカッションをすればいいのではないかと思います。

○小澤座長 ありがとうございます。

今のは、農薬抄録の 144 から 154 ページぐらいまでですね。

○廣瀬専門委員 そうです。

○小澤座長 *in vivo* で実験をしたときの総グルタチオン含量は、むしろ 129%とちょっと上がるぐらいだということで、酸化ストレスを直接表すような結果は出ていないという整理でよろしいですか。

○廣瀬専門委員 そうです。

ただ、*in vivo* の場合の測定の指標が少し不十分かとは思いますが、トータルで考えれば、可能性は少ないと言っているかと思っています。

○小澤座長 わかりました。

この *in vitro* の試験は、抄録を見る限り、ラット、マウスと両方書いてありますが、両方やっているわけですね。それで、両方とも出ないわけですか。

○廣瀬専門委員 両方とも出ません。

○小澤座長 わかりました。他に、何か御意見がおありの先生がいらっしゃいましたらお願いいたします。

よろしゅうございますか。

そうしますと、まず、この追加要求事項に沿って対応していくとしますと、まず、この追加要求事項 3 の検査方法に関しては、ポルフィリン検査方法を異なる動物種について用いた根拠を、*in vivo*、*in vitro* 並びに動物種に分けて整理することということを 1 つ出す。

それから、申請者らが次の項目を立てて、ラット、マウスでのポルフィリン蓄積及び色素沈着との関連性。

それと、最後の項で、マウスで見られた肝障害、肝腫瘍発現とポルフィリン蓄積の関連性というところを全体的にながめると、今、廣瀬先生から御指摘があったように、申請者が考察しているポルフィリン蓄積に関連する酸化ストレス等の作用も関与している可能性が考えられたという考察は、出てきているデータをサイエンティフィックに考えるならばこういうことは言い切れないのではないかという結論になるかと思えますので、この酸化ストレスや毒性に対する役割を再考することというコメントとして出すことになると思いますが、先生方いかがでしょうか。

○吉田専門委員 酸化ストレスの前に、やはりポルフィリンに関連してということがありませんと、今回の特徴だと思えますので、入れておいた方がよろしいかと思えます。

○小澤座長 それでは、マウスのポルフィリンははっきりしていると思えますので、そこに議論を移したいと思えますが、その点は吉田先生、いかがでございますか。

○吉田専門委員 この3項目目の、マウスに見られた肝障害と肝腫瘍のことで、やはりポルフィリン蓄積に関連して、酸化ストレス等の作用というのは明らかではないということなので、ここをもう一度伺いたいと思えます。

○小澤座長 そうしますと、この3項目目、申請者の付けた表題は「マウスでみられた肝障害及び肝腫瘍発現とポルフィリン蓄積の関連性」で、最初の「肝へのポルフィリン蓄積により酸化ストレスが誘導され」のところからしてもおかしいということになってしまいますか。

2行目ですが「マウスの肝臓において明らかなプロトポルフィリンの蓄積が認められたことから」はよろしゅうございますね。

○吉田専門委員 それは結構です。

○小澤座長 続きますして「マウス発がん性試験の高用量雌雄で認められた肝臓における単細胞壊死の増加や、ALT 及び AST の高値で示される肝障害ならびに肝腫瘍発生の増加の要因の一つとしてポルフィリンの蓄積による酸化ストレスの関与が考えられた」。

まず、最初に実験的なオブザーベーションというのは、AST、ALT の高値で示される肝障害並びに肝腫瘍発生の増加までは、観察結果としてよろしいかと思えますが、その考察がちょっと妥当ではないのではないかということになるのでしょうか。

続けますと「マウスにおける肝毒性及び肝腫瘍発現に関して、細胞の初期増殖活性の増大及び P-450 等の肝薬物代謝酵素の誘導が関与するメカニズムの他、ポルフィリン蓄積に

関連する酸化ストレス等の作用も関与している可能性が考えられた」と結ばれているんです。

○廣瀬専門委員　こここのところも、証拠が何もないわけですね。

○小澤座長　そうですね。こここのところの一文で示されている「酸化ストレスの関与が」というところは実験的証拠がやはりないということ。それから、細胞の初期増殖活性というのは、証拠は何になりますか。

○廣瀬専門委員　たしか、PCNAが増加しているという所見があったと思います。

○小澤座長　これは、種々の試験のところにあったと思いますが、抄録の毒-141ページでしょうか、資料ナンバー38はマウスを用いた肝毒性試験（PCNA染色）とありますが、もう一個、何かあったように私は思います。

○廣瀬専門委員　PCNAが上がって、核分裂像が増加しているというような所見もあったかと思います。

○小澤座長　毒-130ページですか。

○廣瀬専門委員　その辺です。

○小澤座長　廣瀬先生、恐れ入りますが、この辺りをおまとめいただけますでしょうか。すみません。

ここは、ラットを用いた肝毒性試験、表題としてはメカニズム試験というふうになっています。これはラットですから、マウスについてですね。毒-141ページでしょうか。

○廣瀬専門委員　毒-141ページから、メカニズム試験で、4日目に核分裂像が上がっているという所見がどこかに書いてあると思います。

○小澤座長　毒-143ページは、細胞周期検査という項目があるようですが、いかがでしょうか。

○廣瀬専門委員　この辺ですか。肝細胞の有糸分裂が若干上がっているという所見と、細胞周期では14日目で2000 ppmでは有意差がありませんけれども、7000 ppmでは雌雄とも有意にPCNAの陽性細胞が上がっている。

それから、15日目の屠殺では、雄では200 ppmから、雌では7000 ppmで有意に上がっているということですので、細胞増殖が上がっているということはまず間違いのないと思います。

○小澤座長　ありがとうございます。

そうすると、マウスにおける肝毒性及び肝腫瘍発現に関して、PCNAの検査を根拠として細胞の初期増殖活性の増大というところは根拠があると考えていいということですか。

○廣瀬専門委員 ただ、それがどうして起こったかがわかりません。

○小澤座長 そこまで追求するかどうかという問題もありますね。

その後は「P-450 等の肝薬物代謝酵素の誘導が関与するメカニズムの他」とありますけれども、他の毒性の先生、何か御意見がございましたらお願いいたします。

それでは、どうでしょうか。その前に、吉田先生からいただいている代謝の専門委員への確認事項というところをやっているのでしょうか。

○吉田専門委員 先ほどの3項目目でも、結局、最後は増殖活性とかだけでなく、最後はP-450の薬物代謝酵素誘導も含めてしまっているんですけども、最終的に、マウスで肝腫瘍が増えた原因の一番のメインがどれなのかというのが、私にはよくわからない書き方になっておりまして、その辺りを代謝の先生に伺います。

○小澤座長 これは、まず動物種がラット、マウスであるということと、申請者たちがラット、マウスともに実はかなりきちんとした試験をやってくれているので、ちょっと混乱するところもあるんですけども、まず、問題になっているマウスについてきちんと見てみたいと思います。

そうすると、抄録の毒-134ページからに載っているようなんですけども、ここもラット及びマウスと書かれて話が進んでいるので、非常に悩ましいところはあります。

ここの項ではラット、マウスを、134ページの表のように群分けをしております、総チトクロームP-450含量、これは分光学的に肝ミクロソームを単離してきて、分光学的にCO差スペクトルを見て、450 nmの吸収極大を活性のあるP-450という形でとらえているという試験をしております。

それで、申請者たちが言いたいことは、言わば *in vitro* の系で肝臓のミクロソーム画分と本薬とをまぜると、本薬が代謝を受けて活性中間体が出るために、450 nmの吸収極大が減っていく、すなわちタンパクが変性していくというところを見ている。要旨としては、そういうことになります。

続きまして、CYP1A活性、3A活性、2B活性というのは、それぞれ特異的な基質を用いて、これらの酵素活性を測定しているということでもあります。

次の毒-136ページに表1というものがあまして、肝ミクロソームをオキサジアルギルで処理したときのチトクロームP-450含量とあります。これがまさに、先ほど申し上げたような、オキサジアルギルが肝ミクロソームのP-450によって代謝を受けて、450 nmの吸収が濃度依存的に低下しているということを言っております。

これは酵素阻害ではありませんので、阻害率と実態とは違うのではないかとひっかかる

ところはありますが、ラットでは $7.8 \mu\text{M}$ というところで P-450 が 40% も変性している。それが 125 まで、60% まで変性する。それに対して、マウスはドーズ・ディペンデンスーらしいものが 26~53 というところで、*in vitro* で見る限り、ラットもマウスも同様なチトクローム P-450 が変性を来しているということを言っています。

その根拠として、表 2 に NADPH 生成系存在下と非存在下ということがあって、これはどういうことかといいますと、NADPH が存在すると、NADPH を補酵素として P-450 が酵素反応をする。ですから、ここではオキサジアルギルを、こういうものを自殺基質といいますけれども、NADPH を補酵素として P-450 が変性するようリアクティブ・インターミディエイトといいたましようか、反応性中間体に変換して、P-450 が変性しているということが言えます。

ですから、少なくともタンパクその他の生体高分子と結合しやすいような代謝物に中間体が生成しているということだけは言えると思いますが、それが先ほどの酸化ストレスとかということに関係するかどうかはわからないとしか言いようがないわけです。

そのことは、表 3 にあるように、特異的な活性の阻害率で見て、確かに大体パラレルに阻害されているということを言っております。ですから、*in vitro* で酵素活性に依存したタンパクの変性が、CYP1A が表 3、それから、CYP3A が表 5 とあるわけですが、これは一様に起こっている。2B もそうですね。阻害が起こっているということで、ノンスペシフィックに過ぎるかなという気もするんですけども、事実は事実で、やはりミクロソームの系でリアクティブ・インターミディエイトが生成して、P-450 が、恐らくヘムの結合サイトか何か壊れるというようなメカニズムで壊れていっているのではないかということは最低限わかると思われます。

続いて、資料としては PCNA 染色その他になっていきます。

その他に、腫瘍との関連ですと、いつも出てくるのが P-450 の誘導ということになるわけですが、それに関してもどこかに出ていまして、まずは毒-149 ページのところ、これは P-450 ではありませんけれども、第 2 相酵素の UDP-グルクロン酸転移酵素というものが誘導がかかっている。

これは、毒-151 ページの表を見ていただきますと、フェノバルビタール 1000 ppm というものが陽性対照で、本剤 20,000 ppm が UDPGT の試験系ということなんですが、1 週間、2 週間、ともに対照の倍くらい上がっている。これも陽性対照と、値としては若干低目ですが、かなり遜色ないくらい行っております。特に 1 週目では、ほとんどフルに誘導がかかっているというふうに見えるわけであります。

そういうことで、リアクティブ・インターメディエイトによって壊れるということは、*in vitro* の人工的な実験系では確かに起こるようではありますが、UDPGA のような他の P-450 以外の薬物代謝酵素の誘導は、よく混乱を来すので、あまりそういう言葉は使いたくないところではありますが、フェノバルビタール類似の誘導パターンを示すという範疇の一つであります。

どうぞ。

○鈴木調査会座長 小澤先生、今のところで、毒-128 ページ、129 ページのところを見ると、P-450 そのものではないんですけども、メトキシレゾルフィンとか、エトキシレゾルフィン、7-ペントキシレゾルフィンといったようなものを基質にして酵素活性そのものを測っているところがあるんです。それによると、濃度によっては低下するけれども、上昇するものもありますというような複雑なパターンが出ておるので、そちらの方がよかったかもしれません。

○小澤座長 そうですね。すみません。実はそこを探していたんです。ありがとうございます。

毒-128、129 ページのところ、先ほどのものは *in vitro* でマイクロソームを調製して本薬と反応させると、P-450 が変性するという酵素活性依存的な変性が起こるということを説明したものでありますが、今度の 128、129 ページのところは、混餌投与でラットに与えて、その後、屠殺して、肝臓の酵素がどうなったかということを見ているんですが、これですと、先ほどとは、数字だけは逆ですが、100%をはるかに超えて、7-ペントキシレゾルフィンでは 7 倍、6 倍といった誘導がかかっています。

それから、ベンゾキシレゾルフィンでも、雄で 2 倍程度の誘導がかかっている。雌では、もっと高い誘導率を示しているということでありまして、これらも陽性対照としてはフェノバルビタールを置きたくなるような酵素であります。ですので、これは血液中、あるいは肝臓中でどの程度の本薬の濃度が活性されているかによるわけですが、確かに酵素を P-450 を誘導する作用もあるのだということでもあります。

確かに、よくわからないわけで、結局、どちらかを決めるのは、やはり肝臓中での本薬がどの程度の濃度に達しているのかということを見て考えるしかないのではないかと思います。ですから、申請者が答えの中でしばしば P-450 等の肝薬物代謝酵素の誘導が関与すると言っているのは、根拠が今のところにあるわけです。

ですから、そういう作用もあるのですが、本当のところはよくわからない。P-450 の誘導をプロモーション作用と結び付けるということは科学的根拠に乏しいのでやりたくない

わけですし、事実としてはこうである。

やはり、問題は、マウスのポルフィリンの蓄積になるのではないかと思います、いかがでしょうか。

○廣瀬専門委員 マウスでは、P-450 は調べているんですか。

○小澤座長 調べています。先ほどのものは *in vitro* です。マウスは、たしかあります。

○廣瀬専門委員 123 ページですね。

○小澤座長 ですから、誘導もマウス、ラットともに見られるということです。

○廣瀬専門委員 それでは、P-450 は上がっているということですか。

○小澤座長 上がっています。マウスでも、ラットでも、混餌投与してみると、誘導はわかるんです。

どうぞ。

○鈴木調査会座長 先生、正確に言うと、マウスでは分光計ではかったときの P-450 そのものも濃度依存性に増えるんです。それで、酵素誘導もある。要するに、酵素の活性としてはかったとき、これについても出てくるので、P-450 の分子種のうち、比較的マウスの方は死にくいんです。

ところが、128 ページの表を見ると、ラットの場合、P-450 そのものは用量依存性に低下するんです。つまり、これが自殺基質の問題として *in vitro* の方で言われていた話を反映しているんですが、酵素活性で見ると、一部、増加するものがあるということで、これは分子種によって反応が違うということを示唆しているんだと私は理解していたんです。

○小澤座長 すみません、補足ありがとうございました。そのとおりだと思います。

これだけで種差をうまくは説明できないかなと思われるわけで、そこが難しいところです。

○吉田専門委員 すみません、小澤先生に 1 つ、今のことに関連して質問があるのですが、そういたしますと、この本剤は、マウスの肝炎の影響としては、ポルフィリンを蓄積させる。それとは別の経路として、今、説明していただいたことがあるのか。そこが私は一番よくわからないんです。

○鈴木調査会座長 ポルフィリンと P-450 の関係なんですけれども、ポルフィリンのところがベースになっていて、それが取り込まれて P-450 とか、その他のヘム系の化合物になっているんです。

それで、でき上がってしまった P-450 の方の話のものはオキサジアルギルの代謝物なりなんなりによって今のような非常に複雑な変化を受ける。それと同時に、この剤でポルフ

イルンの合成系が相当抑制されますから、そうすると、プロトポルフィリン IX のところまででとまってしまうんです。

だから、その辺がとまってしまったらヘムにならないのではないかというような話になってくるから、そうしたら、全体としてヘム合成も低下して、チトクローム P-450 のところもどっと下がってしまえばいいんですけども、そうならない。多分、そのところでバイパスみたいなものがある、一部は、多分、ヘムの方にも行くんでしょう。そういうようなところが、これは全体としては決して明らかになっているわけではないんですけども、そういう関係にあるみたいです。

ですから、一部、プロトポルフィリンも肝臓に勿論たまるようですし、ラットも *in vitro* の方ではとりあえず見つかっているという話にはなっているんですけども、その辺を、どこまで明らかにしなくてはいかぬのかというのは、また大変なことだとは思いますが、その辺りは実は出川先生が詳しいので、できたらお聞きしたいと思っていました。

○小澤座長 どうぞ。

○吉田専門委員 そういたしますと、非常に漠然とした言い方ですけども、ここは必ずしもばちっと分かれているようなものでなくて、複雑に絡み合った結果だととらえた方がよろしそうですね。

○小澤座長 そうですね。合成系から言えば、P-450の方が下流になっているわけですから、実際、アウトカムは難しいと思いますけれども、例えばポルフィリンの阻害によってポルフィリンの合成系が50%まで阻害されているとかという辺りはどのくらいと見積もられるものですか。

○鈴木調査会座長 確かに、完全にブロックされるわけではないですからね。

○小澤座長 何% 阻害されているというような資料は、やはり難しいですね。

そうすると、誘導に関しては、ある種の分子種については、1000とかという、10倍、1けた誘導されているので、確かに分子種ごとに誘導倍率には違いがあるだろう。

比較的、2B、フェノバルビタール絡みの酵素というのは誘導剤処理していない場合、チトクローム P-450 の主成分ではないんです。ですから、ペントキシレゾルフィン辺りが1500になっても、P-450 全体としては125とか148とかそんなものになるのではないかということなんです。ですから、P-450のごく一部に関しては、何らかのメカニズムで酵素誘導のメカニズムがプラスの方に働いているとしか申し上げようがないということです。

そうしますと、ここでポルフィリンの検査方法についての疑問ははっきりして出せます

が、それがしっかりしないと、先ほどおっしゃられましたように、ポルフィリンの蓄積と肝障害、肝腫瘍といったことがすべて議論が成り立たなくなってしまうというのも事実なので、ここはどういたしましょうか。検査方法を整理して、改めて考察してくださいということになるのでしょうか。特にマウスについて、あるいはこの3つの動物種について並列においておいてもいいかと思いますが、いかがでしょうか。

どうぞ。

○吉田専門委員 マウスについてはそうなんですけれども、ラットについてもポルフィリンの蓄積ということが明らかになっていないので、そこがわかれば、今、御説明いただいた同じような経路もあって、必ずしも別々の経路ではなくて、ポルフィリンというものが最初の引き金でこのような複雑な毒性変化が起きたという可能性が高いと理解してよろしいわけですね。

○鈴木調査会座長 いや、*in vitro* では、毒-132 ページ、133 ページのデータを見ると、ラットの *in vitro* の実験としては、最高で 150 μM までやったんですけれども、ある程度、用量依存的にプロトポルフィリン IX がたまってきますというものと、それに関連する酸化酵素活性のところも、一応、測ってくれてあるんです。その辺のところは、実際上の *in vivo* でどのくらいの濃度に相当するのとかかそういう話がここではやれないんです。

それから、*in vivo* の方の実験で、ラットの話のところのもので、偏光で見た限りにおいては検出できないというような話になってしまっているものですから、その辺のところはうまくつながらないんです。

だから、それがうまくつながってくれるようなことを考えてもらえると、話が少しわかりやすくなるんです。

○小澤座長 どうぞ。

○吉田専門委員 ここのところは、今、廣瀬先生もおっしゃった検査方法のところとも関連すると思いますので、まず、そこを聞いていただいて、すべてがある程度つながるような形でコメントをしてもらおうといいのかなとも思います。

○小澤座長 そうですね。ポルフィリンの検査方法について整理し直すことを求め、その上で、マウス、ラットでのポルフィリン蓄積及び色素沈着との関連性、更に、マウスで見られた肝障害及び肝腫瘍発現とポルフィリン蓄積の関連性を述べていただくということになりますね。

酸化ストレスのことは、私たちは根拠が少ないと思っているわけなんですけれども、その辺りはどうしましょうか。こちらからのコメントに反映させますか。それとも、申請者に任

せますか。

○吉田専門委員 恐らく、これ以上お願いしてもそうは出てこないと思いますので、よろしいのではないかと私は思います。

○小澤座長 私が申し上げる意味は、酸化ストレスというのは非常に誘惑の強い言葉で、これを使うと何でも説明できてしまうような印象があつて、これをまた申請者が、深く考えることはないとは思いませんけれども、これだけネガティブな根拠がそろっているにもかかわらず、それを持ち出してしまうのではないかというところを危惧するので、あらかじめくぎを刺すような書き方をするかということです。

○鈴木調査会座長 要するに、完璧にはわからなくても、とにかく最大限やれるところまでやってください。そのとき、苦し紛れに酸化ストレスというようなことは言わなくてもいいのではないんですか。だって、データとしては酸化ストレスの証拠はないですよという意味ですね。

○小澤座長 そのとおりです。

ありがとうございました。それでは、コメントの出し方をもう一回整理したいと思いますけれども、まだ3つ4つぐらいありますので、次を見させていただいてよろしいですか。

(「はい」と声あり)

○小澤座長 次が追加要求事項4「イヌの28日間亜急性毒性試験において300 ppm 投与群の雌雄で観察されたALT及びASTの増加を毒性としなかった理由について考察すること」。これが評価書(たたき台)19ページですけれども、これは吉田先生ですか。

○吉田専門委員 申し上げます。

今、小澤先生が言ってくくださったとおりになんですが、回答資料によりますと、肝に対する影響であるというように申請者の方が変更いたしましたので、了承したいと思います。

以上です。

○小澤座長 ありがとうございました。申請者は、先生からの御質問はもっともだということに回答してきたということですが、他の先生方、それでよろしゅうございますか。

(「はい」と声あり)

○小澤座長 それでは、追加要求事項5、次の20ページでございます。「91日間反復経口投与神経毒性試験の5000 ppm 投与群の雄の死因について、亜急性毒性試験(ラット)では、最高投与量20000 ppmでも死亡は認められていないことから、死因が投与によるものか、否かについて考察し、抄録にも記載すること」とあります。

これも、吉田先生、お願いします。

○吉田専門委員 これにつきましても、死因がきちっと書かれていなかったということで、質問を申し上げたと思います。

死因等については、回答資料で書かれてきましたので、回答内容といたしましては了承したいと思います。

○小澤座長 ありがとうございます。

これは他の先生方はよろしゅうございますか。

(「はい」と声あり)

○小澤座長 それでは、次が追加要求事項 6、評価書(たたき台) 22 ページでございますが「抄録 96 頁、尿中蛋白濃度の平均値の最高値は 1000 mg/dl となっているが、1000 mg/dl 以上ではないか見直すこと。また、尿中蛋白の増加については、統計処理結果を示し、有意差が認められた場合は、背景データとの比較を行った上でその毒性学的意義について考察すること」。

これは、お三方ですか。それでは、これは廣瀬先生からですか。

○廣瀬専門委員 私ではありません。

○小澤座長 それでは、吉田先生、すみません。

○吉田専門委員 恐らく高木先生だと思いますが、結論といたしましては、もう一度、尿中のタンパク濃度の値を見るということと、統計処理がどうもよくわからないのでやり直してくださいということであったと思います。

その結果で、まず値については、超える場合でも 1000 mg/dl としているということで回答がされています。結果についての統計についても、検定をし直しています。

高木先生からは、これらの回答結果は了承するというので、特に追加としては無いと思います。

○小澤座長 ありがとうございます。高木先生からも了承ということで、ここはこれでよろしいかと思います。

次の 23~24 ページのところですが「(3) 78 週間発がん性試験(マウス)」。これは系統の名前を直していただくということですが、高木先生から専門調査会時の御指摘ということで「表 9 から色素沈着の記載が落ちている」というので、これは追記いたしましたということで、これはよろしいかと思います。

次が追加要求事項 7、27 ページでございますけれども、ここは高木先生からです。「ラットの培養肝細胞におけるプロトポルフィリン IX の蓄積試験(抄録 161-162 頁)について以下の点を説明し、考察すること。

- 1) ラット 2、3 及び 5 の細胞を選択した理由
- 2) 試験方法
- 3) 統計方法
- 4) 陽性対照の選択理由
- 5) 陽性対照と検体の作用強度比較
- 6) 13.75 μ M を蓄積なしと判断した理由
- 7) 本試験結果から考えられる毒性発現への影響。

このようにございます。

これに関しては、回答が 7 項目きちんとなされておりますが、高木先生の御意見を見ますと、①の「試験方法、実験（動物）の配置について」は、了承するということではありません。

「試験結果、統計方法および 13.75 μ M における作用に関する考察」は、回答資料を見なければいけません。回答資料中の 3 ページ、下から 6 行目「但し、13.75 μ M」から 3 行目までの、要するにプロトポルフィリン IX 濃度の変化の生物学的な意義は不明であるということは削除すべきである。

その理由として、プロトポルフィリノーゲン酸化酵素（PPO）はプロトポルフィリノーゲン IX からプロトポルフィリン IX への代謝に関与している。しかし、PPO を阻害することは理屈上、プロトポルフィリノーゲン IX を増加させることが考えられる。実際、PPO 阻害剤のアシフルオルフェンがプロトポルフィリノーゲンを蓄積させるとの報告もある。一方、プロトポルフィリノーゲン IX からプロトポルフィリン IX への代謝に自動酸化による非酵素的経路もあるとされているが、PPO の抑制が、非酵素的経路を亢進させることも考え難い。可能性としては PPO の阻害以外にもプロトポルフィリン IX の合成系の促進あるいは分解系の抑制が本剤によって生じていることが考えられる。これをもって、13.7 μ M の濃度で、PPO の阻害がないことを理由に、プロトポルフィリン IX の増加の意義について議論することは意味がないのではないかと御指摘であります。

これに関しては、いかがですか。何か御意見がおありの先生がいらっしゃいましたら、お願いいたします。

薬物代謝酵素で、こういう議論をされると、私にはもっとものように聞こえるんですけども、いかがですか。これはこれでよろしいのではないかと私は思いますけれども、何かございましたら御意見をいただければと存じます。

○鈴木調査会座長 私も、もっともかなと思っていました。

○小澤座長 わかりました。それでは、確かに、ここは一つの角度からで物を見て、この結論は出せないのではないか、この4行は削除ということによろしいかと思えます。

それから、回答資料7-④であります。「本試験結果から考えられる毒性発現への影響について」ということで、これは評価書（たたき台）28ページに、回答としては「オキサジアルギルがラットにおいてPPO活性を阻害し、ポルフィリンの蓄積を誘発する可能性が示唆された」という文章を「オキサジアルギルがラットにおいてポルフィリンの蓄積を誘発する可能性が示唆された」に修文することとあります。上記がもっともであれば、これももっともだと思われま

す。それから、回答資料p4の下から4行目「ポルフィリンの蓄積に関連」というのを、もうちょっと前から読みますと、毒性発現の影響についてというところなんですけれども、本試験の結果、オキサジアルギルがラットにおいてPPO活性を阻害しというところは修文しなさいということなんです、ポルフィリンの蓄積を誘発する可能性が示唆された。これによりラットを用いた亜急性毒性試験の最高用量20,000 ppmで認められた褐色尿、ラットを用いた慢性毒性・発がん性試験の最高用量で見られた尿中ポルホビリノーゲンの増加並びに50 ppm以上で肝組織中に見られた色素沈着は、ポルフィリンの蓄積に関連する所見であると考えられたというところを、これはポルフィリンの代謝異常に関連した所見であると考えられたに直してくださいという御意見であります。

理由として、ポルフィリンの蓄積がポルホビリノーゲンの増加を誘発したという証拠はないのではないか。むしろ、本剤がポルホビリノーゲンの合成系を促進した可能性もあるのではないかという御指摘であります。

これについては、御意見はいかがですか。

これは、ポルフィリンの蓄積というものがポルホビリノーゲンの増加を誘発したという証拠はないということなんです、どうぞ。

○鈴木調査会座長 逆に、ポルフィリンの代謝異常を起こすという話も証拠はありません。だから、その意味からすれば、とりあえず、蓄積に関連してぐらいにとどめるのが私は常識的かなと思っていました。

○小澤座長 これは、どうでしょうか。マウスではなくてラットですね。

確かに、鈴木調査会座長がおっしゃるように、ポルフィリンの代謝異常を起こしたという証拠もないというのは、そのとおりで、やはり蓄積に関連をそのまま残した方がよいような印象を持ちますけれども、いかがですか。

吉田先生、いいですか。

○吉田専門委員 はい。

○小澤座長 そうしましたら、ここは事務局どうしますか。これは、高木専門委員とメールか何かでやりとりされますか。

○都築課長補佐 そうですね。少し確認をさせていただいて、その結果をまた先生方に御覧いただきたいと思います。

○小澤座長 ありがとうございます。

今回の追加要求事項に関して、一番重要なところはポルフィリンの蓄積のところですが、これは測定の方法から始まって、再検討から始まることですので、すべてに関わってくるところであります。ですから、メーカーに委員会としての意図が伝わりやすいようなコメントをきちんと出してみるということにするべきではないかと考えますが、先生方、何か御意見ございますでしょうか。

どうぞ。

○鈴木調査会座長 蒸し返して悪いんですけども、ラットの組織中で、偏光顕微鏡で十分に観察できなかったという話が、これは古い標本を使っていたからというような問題もあるような気がするんです。

それに対して、マウスの方の問題としては、動物も小さいしというようなこともあったんでしょうけれども、28日間、実験をやってくれて、その上で新しい材料を用いてやっています。だから、状況によっては、これは方法のところこれでいい悪いということ言うよりは、ラットで28日間ぐらいの実験をもう一遍やってくれないかと。そうしないと、決着がつかないかもしれないと思っているんですけども、過激ですか。

○小澤座長 すみません、確かに追加資料要求のところは、抄録162ページというのは初代培養肝細胞ですね。ですから、確かに、先ほど問題になった検査方法とは標本が全く違うわけで、今の御意見は非常に妥当なものかと思えますけれども、先生方いかがでしょうか。

どうぞ。

○吉田専門委員 ラットで、ポルフィリンの蓄積が明らかになれば、すごくそれは最初の部分が明らかになるわけですから、すっきりするんですけども、私はそういう培養肝細胞の実験の結果というのをどう見るかあまり詳しくないんですが、これでも、恐らく、ラットでもそういうことが言える可能性が一般的には高いのだということになれば、ある意味では、28日をしなくてもいいのではないかと思います。

○鈴木調査会座長 まさしく、そのとおりなんですけど、*in vitro*の実験で蓄積があるので

はないか。だけれども、*in vivo*の方のデータといいますか、古い標本を使ってやったら検出できなかったのも、それでおかしいのではないかという話がここの議論の主体だったので、それは幾らやっても、これ以上は平行線です。

ただ、*in vitro*の実験では、濃度がいろいろあります。それで13. 何ぼから150 μ Mまでの話で振っているんですけども、その濃度自体も生体の中で投与実験をやったときにどのくらいだったのかというのはすぐわからないんです。だから、そういったようなことからすると、実際に*in vivo*の実験と照らし合わせて、専門委員の方々も皆さん納得するということになる、これは実験するしかないというふうにはなるんです。

勿論、*in vitro*の実験で十分だというふうに意見が修正されるというのであれば、それでもいいとは思いますが、ただ、さっき議論したように、ラットとマウスで若干、P-450の動態とかその辺が違うんです。そう単純ではないと私はにらんでいるんです。

実際に、もしかしたら、ラットではプロトポルフィリンのところというのは、状況によっては*in vivo*では検出できないようなことがあるかもしれない。やってみないとわからないんです。

○小澤座長 確かに、肝臓中濃度がどの程度になっているか。*in vitro*ですと、比較的、簡単に振れますけれども、*in vivo*で、この追加要求事項3で出たような用量のときに、血中の濃度は大体どのくらいになるのかとか、そういったことも非常に関係してくる問題ですから、その辺りの扱いをどうするか。

確かに、マウスとラットの間のP-450に対する作用の違いということもあるんですけども、どの程度、この実験的に得られたデータから種差があると言い切れるかどうかという難しいところもあるんで、ちょっと悩ましいところではあります。

○廣瀬専門委員 ラットで、凍結標本は取ってあるわけですから、それを使って、実際に肝臓の組織中からマウスみたいにHPLCで見られないですか。

○小澤座長 ラットでは、今回は蛍光法でしかやっていません。

○廣瀬専門委員 パラフィンと凍結と両方やって、ネガティブのはずですね。

○小澤座長 HPLCではやっていないということです。

○廣瀬専門委員 だから、それをやっていないんです。

○小澤座長 今回は、どうしましょうか。先ほどは*in vivo*、*in vitro*、動物種ごとに分けて整理することというような申し上げ方をしていましたけれども、これは実際に再測定を求めるということになりますね。

○廣瀬専門委員 その方が、確実性があるのではないかと思います。

○鈴木調査会座長 恐らく、ラットでもマウスでも、保存されていた試料では、通常の方法を以てし、脱パラをして、キシレンで洗ってとか、いろんな形をしてやった限りでは検出できていないんです。

○廣瀬専門委員 イヌでは検出できました。たしか、凍結標本です。

○鈴木調査会座長 だから、同じことをラット、マウスでやっても、恐らく保存材料では無理なんです。

何で、マウスはちゃんとできたのかといいますと、新しく試験をやったからできたんです。そういうようなところで、一応結果について若干矛盾があるんですけども、*in vitro* の実験からすると、ラットでもプロトポルフィリンにたまっているから、きっとマウスと同じだというふうに、この人たちは主張しているんですけども、それをもう一遍、ラットでやってもらわないと納得いきませんというのであれば、実験するしかないんです。

○小澤座長 投与期間については、28日ぐらいということによろしいのでしょうか。

○鈴木調査会座長 マウスでそのぐらいで検出できていますから、そうでしょう。

○小澤座長 ただし、ラットの肝毒性ということになると、強いものが出ているんですか。

○吉田専門委員 肝毒性としては、色素沈着を除いては、いつものパターンなので、そこでポルフィリンのことが一番頭にあるのかどうかです。

○鈴木調査会座長 農薬で除草剤としては、このポルフィリンの代謝阻害というのは、ポルフィリン環の中にマグネシウムが入ると葉緑素になるので、それができなくて枯れてしまうというところで、結構、この手の剤は多いんです。ですから、もし、きちんとした形のデータがいろいろ出てくれば、それは一つの、こういう系統の剤に対して共通した機序みたいなものとして非常に役に立つことは役に立つんです。

ただ、この申請者がやらなければならないのかといいますと、問題はあるかもしれませんが。

○小澤座長 わかりました。そうすると、ラットの色素沈着というところは観察結果としては確かなんでしょうから、そこから先の検査方法、もし、凍結した標本でできないということになると、更に紛糾するのは目に見えていますので、28日ぐらいであれば改めて実験をしていただくということが妥当なような気がしますが、いかがでしょうか。

それでは、あまり異論は出てこないようではありますが、そうすると、今回のコメント7つは、追加要求事項の3にほぼ問題点が集まってくると思われそうですが、回答7の高木先生とのやりとりは事務局との間で打ち合わせをしていただくとして、それを除けば、28日間本薬投与のラットについてポルフィリン検査を繰り返してくださいということになります。

す。その際、試験をするに当たって用いる動物種並びに *in vivo*、*in vitro* における実施方法の妥当性を考察して試験をすることというようなコメントになるかと思います。

何か毒性の先生から、これという付け加えることがございましたら、是非、この場で付け加えていただきたいと思います。

○鈴木調査会座長 もし、その実験をやるということになれば、ポルフィリンの測定だけでなく、薬物代謝酵素系 P-450 辺りのところももう一度測定してもらおうと非常にありがたいです。

○小澤座長 わかりました。

薬物代謝酵素の件ですけれども、もう一度、プロトコルを見直しておいた方がいいと思いますけれども、ラット、マウスですから、先ほどの毒-118 ページ辺りからになるかと思いますが、毒-118 ページですと、マウスを用いた肝毒性で、これは CD 系を用いて 1 群雌雄各 20 匹、9 週齢を用いて 14 日間混餌。ただし、雌雄の各 5 匹は 3 日間投与後に屠殺をしています。これでいいんですか。3 日間投与後に屠殺したものは、違うものを見ているような気がするんですけれども、臓器重量を見ているからでしょうか。

チトクローム P-450 等は、15 日目に屠殺した動物を見えていますね。それから、ラットについてはどうでしょうか。ラットは、14 日間混餌ですね。

それから、ポルフィリンが 28 日ということと、*in vitro* は *in vitro* で、そのときに肝ミクロソームを調整して、これはやり直す必要は特にはないのではないかと思いますので、*in vivo* の実験だけしてもらえればいいかと思います。

ですから、2 週間ないし 4 週間の実験ということで、同時に試験を行ってくださいというコメントになるかと思います。

動物種は、当然、ラット、マウスですか。マウスでいいですか。

○鈴木調査会座長 マウスはやってあります。

○小澤座長 ごめんなさい、マウスはいいんです。ラット雌雄だけということでもいいですね。

どうぞ。

○吉田専門委員 ラットなんですけれども、毒-125 ページからのメカニズム試験、14 日間ですね。それで、臓器重量は上がっていて、小葉中心性の肝細胞肥大が認められているのですが、色素沈着といった所見がここでは出てきません。

28 日だったら、14 日では少なくとも明らかに色素沈着は検体ではないということなんですけど、どうなのでしょう。

○小澤座長 色素沈着が認められないと、どこかにはっきり書いてありますか。何も書いていないですか。

○吉田専門委員 同じように行ったマウスの試験では、その前だと思うのですが、毒-118 ページからのマウスの肝毒性試験では、毒-121 ページに色素沈着と、雄は全例あるので、結構、難しいかなと思います。

○鈴木調査会座長 高用量までやっていますね。

○小澤座長 14 日間は、ちょっと短いんですか。

確かに、表のつくり方がそっくりです。

○鈴木調査会座長 同じところでやっているからですね。

○小澤座長 そうですね。

P-450 の変性は、やはり 14 日で、ラットでは見られるわけですね。

○鈴木調査会座長 先ほど言いましたけれども、ラットとマウスでは、もしかすると色素沈着とかプロトポルフィリンの沈着自体は *in vivo* で違ってくる可能性もないわけではないです。だから、非常に長期のときの話の部分と、それから、比較的、短期間のところとかいろんなことを考えるときにわからないです。

だから、それで *in vivo* でやって、ポルフィリンの量がどうでというのが生化学的にはかられて、それと検体と合わせる。それで、検体では見つからなかったというふうになるかもしれないし、検体で出てきました、前のときにどうして見つからなかったんでしょうねというような話になるんだろうとは思いますが。

○吉田専門委員 14 日なり、28 日で検出されればいいですけどもね。

○鈴木調査会座長 ただ、ポルフィリンに関しては何らかのデータが出てきますから、その上で見るしかないです。

○吉田専門委員 それでは、もし、出る可能性があるとするれば、今、ある資料との整合性を取るために、投与期間が 14 日間の方がいいということになりますか。

○鈴木調査会座長 どうでしょうね。さっきのマウスの根拠にした実験というのは、28 日ではありませんでしたか。

○吉田専門委員 マウスは 28 日でした。

○鈴木調査会座長 だから、そちらとの対応を取るつもりで 28 日と言ったんですけども、マウスの 28 日というものはどの実験でしたか。

○小澤座長 今のポルフィリン検査項目は、何ページでしたか。

○吉田専門委員 抄録の 152 ページです。

○小澤座長 そうですね。28日間のマウスですね。グルタチオンを見たところですね。

○鈴木調査会座長 だから、一番近々にやったものだと、28日でマウスが7000 ppmですから、昔の14日の試験はマウスとラット両方あるわけですから、多分、こちらと合わせる方がいいと思います。

○小澤座長 マウスとラット、両方ある14日というのは、P-450の誘導の試験ですね。

この誘導の試験は、7000 ppmで、14日できっちり見られていますね。ですから、これはマウスで28日間ポルフィリンの試験が7000 ppmで、マウスのP-450も最高用量は7000 ppmで14日ですね。

○鈴木調査会座長 ラットは、20,000 ppmまでやってあります。

○吉田専門委員 ラットは、最高用量は20,000 ppmです。20,000 ppmがよろしいです。

○鈴木調査会座長 14日で行ったときには、色素沈着は見られないという形になっているんです。それで、マウスの場合には7000 ppmでも肝臓での色素沈着は出ますというふうになっているんです。

その意味では、最近やられた2006年の試験、毒-152ページのマウスの肝へのポルフィリン蓄積の検討の話のところでは、やはり最高用量を7000 ppmにして、それなりのデータを出しているので、ラットの場合、やはり28日という格好でそろえて最高用量は20,000 ppmというような形で見ただ方が、統一は取れるのかなと思います。

○小澤座長 そうすると、ラットで28日で最高用量20,000 ppmということで、ポルフィリンの検査並びにチトクロームP-450の誘導、あるいは変性を再試験してもらおうということでもよろしいですか。

(「はい」と声あり)

○小澤座長 ありがとうございます。それでは、指摘事項3に関してはこういう再コメントを出すということにしたいと思います。

以上で、7項目の追加要求事項については議論が終了したと思います。コメントが出ましたので、当然、今日はADIは設定できないということでもありますけれども、これで何か御追加の発言があればよろしくお願ひしたいんですけれども、よろしいですか。

その前に、出川先生がお見えになられたので、すみません、今日、追加事項で数字などを出していただいたんですけども、ピフェナゼートのところです。

○都築課長補佐 出川先生から御指摘があったところを、事務局からもう一度、場所だけ説明させていただきます。

○小澤座長 お願いします。

○都築課長補佐 7 ページの表 1、この表の中の一番上にございます「血漿 (6.39)」というのが 6.29 ではないかということ。これは事務局で確認しましたところ、先生の御指摘のとおりでございました。

それから、8 ページ。これは一番上「膀胱 (73.1)」というのが 73.0 ではないかというところ。これも確認しましたところ、先生の御指摘のとおりでした。

同じく、8 ページの 8 行目から 10 行目にかけて、排泄のところの書きぶりが糞中の記述が不十分ではないかという御指摘をいただいております。

11 ページに移りまして、表 4 の中ほど、組織分布 6 時間後というところ「脂肪 (2.95)」という記述があるんですが、これは 2.75 ではないかということで、これも先生の御指摘のとおりでございました。

以上、4 点の御指摘をいただいております。

○小澤座長 ありがとうございます。

私が続けてよろしいですか。

○都築課長補佐 はい。

○小澤座長 8 ページのところの尿中の代謝物のプロファイルしか書かれていないのではないかという御指摘に関してなんですけれども、この抄録を見ますと、ラットの動物代謝の体内運命の試験が、実は 2 種類行われております。

まず、1 種類目は、抄録の IX-12 ページ、動物体内運命に関する試験というところで、右上に資料ナンバー M1 というところがあるんですけれども、そこが 1998 年の *Ricerca Incorporation* という GLP 対応の試験であります。これの記述が、この評価書 (案) たたき台の 8 ページの尿中代謝物のプロファイルに反映しているものであります。そのことが、抄録の IX-22 ページに尿中代謝物のプロフィールがあって、それに基づいて書かれております。

ところが、評価書 (案) たたき台 10 ページ「(6) ビフェナゼート及び代謝物 B のラットにおける吸収、分布、代謝及び排泄」という試験があって、抄録で言いますと IX-25 ページに M2 という試験があります。その M2 の試験の中で、抄録 IX-30 ページに表 5 というのがあります。これが、実は尿、糞ともに代謝プロファイルが出ていまして、これを反映したものが評価書 (案) たたき台の 10 ページのところであります。

10 ページの下の方の「(6) ビフェナゼート及び代謝物 B のラットにおける吸収、分布、代謝及び排泄」というところで、①N-抱合化、②アゾ化、③ヒドラジンカルボン酸ということで、これは尿、糞、ともにまとめられておりますので、通して読めばこれでいい

のではないかという意見があります。

出川先生、これでよろしければこういうことでどうでしょうか。

○出川専門委員 すみません、私、事務局への伝え方が正確ではなかったのかもしれませんが。

この抄録の IX-24 ページの代謝経路を見ていただければよろしいかと思えますけれども、今、ここに記載されている項目ですと、いわゆるヒドラジンタイプの代謝物のことについて何も書いていないんです。これはすべて初めに酸化され、アゾ基になってしまった代謝物だけのことが書かれているわけです。この 24 ページの方でいきますと、右側の一番上と 2 番目のものが抜けてしまっているんです。それを言いたかったんです。

ヒドラジンの N のグルクロナイドになるものと、ヒドラジンタイプで B 環のフェニル環に水酸化が起こるといった経路もあるわけで、そこが抜けてしまっているということ連絡したかったんです。私の事務局への伝え方が悪かったのかもしれませんが。

○小澤座長 ということは、ビフェナゼートはヒドラジン環の水酸化及び、何でしたか。

○出川専門委員 ヒドラジンの N のグルクロン酸抱合体と、B 環の水酸化体です。

このことを加え、以下ここに書かれていますようなヒドラジンの酸化から始まるいろいろな代謝があることを書いていただいた方が正確ではないかと思えます。

○小澤座長 ビフェナゼートは、ヒドラジンの N-グルクロン酸抱合で、B 環の水酸化及び速やかなヒドラジン酸化というふうに入れますか。

○出川専門委員 そうですね。受けるとともに、速やかなヒドラジン酸化とかというふうにすると、より正確ではないかと思えます。

○小澤座長 ありがとうございます。確かに、これでよろしいかと思えますけれども、よろしいですか。

○出川専門委員 はい。

○小澤座長 ありがとうございます。突然ですみませんでした。

それで、今の剤に移りまして、オキサジアルギルですが、追加資料要求の 3 については先ほどのようなコメントを出すということで、今回は ADI までは設定できないということとであります。

これでよろしいでしょうか。何か事務局からございますでしょうか。

○都築課長補佐 ありがとうございます。

農薬専門調査会についての今後のスケジュールを御説明させていただきます。

すみません、オキサジアルギルにつきましても、出川先生からコメントをいただいでい

るということでございます。

○出川専門委員 途中から来て、大変失礼して申し訳ないんですけども、この評価書（たたき台）の 7 ページの下段の 24 行目から「尿中からは」云々とございまして、最後の方に「代謝物 E のグルクロン酸抱合体（代謝物 H）」、実はその後の文章で「代謝物 B のグルクロン酸抱合体（代謝物 I）及び硫酸抱合体（代謝物 J）」とありますが、この代謝物 J は代謝物 E の硫酸抱合体ではないかと思えます。ですから「及び硫酸抱合体（代謝物 J）」は「（代謝物 H）」の後に続くのが正しいのではないかと思えます。

よろしいでしょうか。

直していただきたいところは、25 行目の初めのところに「抱合体（代謝物 H）」とあります。その行の最後の方に「及び硫酸抱合体（代謝物 J）」というのがありますが、この「及び硫酸抱合体（代謝物 J）」を、今、申し上げました 25 行目の「（代謝物 H）」の後に持ってくるのが正しいのではないかと思えます。代謝物 J は、代謝物 E の硫酸抱合体であると思えます。

○小澤座長 そうですね。これは平塚先生もそう御指摘です。

○出川専門委員 それから、もう一点でして、評価書（案）たたき台で言うと 8 ページに「（2）ラット及びマウスの肝スライスを用いた ^{14}C -標識オキサジアルギルの *in vitro* 代謝試験」が述べられております。

9 行目から「実施したいずれの試験においても」云々という項目があるんですが、その中で「代謝物 B 及び 1 種の未同定代謝物が検出された」等々と書かれておりますが、少々疑問です。この *in vitro* 試験で、抄録の代謝の 27 ページのデータをよく見ますと、表 1 の上から 2 つ目に書かれているところですが、 $10\ \mu\text{M}$ を使って、このスライスを入れずに緩衝液だけで測定したときに、1.51 とか、1.71 とか、3.0 とかいった数値が出てくるわけです。このことは、使っている化合物にこういう不純物として含まれているのではないかということをお知らせします。

この値を見て、上の肝スライスがそれぞれ加えられた実験の値を見ますと、これは代謝物として出てきているのではなくて、この不純物が適当にまざって抽出されて測定されてきているのではないかと思われます。

すなわち、この実験ではほとんど代謝は進んでいないのではないかというふうに思ったんです。これはマウスの肝スライスを使われた実験、下の表でも同じことでして、使われている化合物がもともとかなり代謝物 4 に対応する化合物でありますとか、RP025496 といったものを含んでいて、このものがたまたま測定値として出てきたということではない

のかというふうに思ったんです。

○小澤座長 これは、摘出肝スライスをつくって、この緩衝液というのは、そもそも肝スライスなしということですね。

○出川専門委員 これは、バッファだけです。それで、私の読み方が違っていなければ、この代謝物という最上段のそれぞれ、 μM というのは原薬の濃度ですね。

○小澤座長 これは、原薬の濃度です。

○出川専門委員 プラス、肝スライスというのは、それをまぜて反応をかけたという意味ですね。

○小澤座長 はい。

○出川専門委員 緩衝液中とか抽出液中、これは組織の中にくっついたものを溶媒で抽出したものということのようですね。この一番最後の $15\mu\text{M}$ というのは、肝スライスを入れずに、ただ見たものだと思います。

下の方の表の下に、 $15\mu\text{M}$ の上にアステリスクが 3 つ付いていて、肝スライスなしと書いてありますね。だから、これを考えると、どうも、このものに不純物が多く含まれていて、それを反応にかけたときの操作のばらつきなどで測定値がそれぞれ出されているだけで、基本的には不純物そのものをはかっているような気もしないでもないんです。

○小澤座長 確かに、私は肝スライスなしというのを見落としていました。

抽出液というのは、有機溶媒で代謝物を抽出ですね。

○出川専門委員 これは私の読み方がいけないのかもしれませんが、できれば念のために確認していただければよろしいかと思います。

○小澤座長 そうですね、聞いた方がいいかもしれませんね。

事務局、この実験方法について聞いていただけますか。

○出川専門委員 私の解釈が、どこか方法等々の解釈で間違っているのか、もし、私が申し上げたことが正しければ、このスライスでの代謝実験では、代謝は進んでいないことになり、ここのディスカッションはナンセンスということになるかと思います。

○小澤座長 私は、最初、緩衝液でスライスを入れて、何らかの代謝物が出て、更に肝臓中に残っている代謝物を徹底的に抽出したいと思って抽出液を加えたので合計が出てきたのかと解釈したんですけれども、アスタリスク 3 つの肝スライスなしというのがわざわざ項目の中にあるので、確かにおっしゃるようになります。

○出川専門委員 コメントをいただいた方が早いと思います。

○小澤座長 そうですね。その方が早いと思います。

すみません、聞いていただきたいと思います。

○都築課長補佐 それでは、これは追加資料の要求と併せて申請者に聞くということでもよろしいですね。

○小澤座長 はい。すみません、そういうことで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。そういうことで、非常に大きな再実験を求めるコメントが一つ出たということですが、これを見て、この次に考えるしかないと思います。

どうぞ。

○出川専門委員 大きなことではないんですが、評価書（たたき台）の 7 ページの一番下の代謝経路の説明で、*O*-脱アルキル化、トリメチル基のところですが、この *O*-脱アルキル化のアルキルというのを正確に、プロピニル化にしたらよろしいのではないかと思います。

28 行目の最後の方です。「主要な代謝経路は *O*-脱アルキル化」と書かれてございますが「*O*-脱プロピニル化」が正しいのではないかと思います。

○小澤座長 どうもありがとうございました。他に何か、追加で御意見がございましたら、よろしいですか。

どうぞ。

○見上委員 今回のオキサジアルギルに関してですけれども、これは評価書（たたき台）の 3 ページを見ると、追加資料要求は今回で 3 回目なんです。この申請者が日本のシステムに慣れていないのか、今日、最初にやった 2 剤、特に最初のもは 1 回、同じように適用拡大なんです。最初、非食用から食用になって、1 回ぐらいで済んでいるんですけども、最後にやったものは今回 3 回目で、事務局、これは申請者が日本のやり方をよくわかっていないんですか。大体、1 年かかってしまうんですね。

○都築課長補佐 農薬によって、簡単な農薬と難しい農薬等もありますので、単純に申請者の違いということもないんだと思います。

○鈴木調査会座長 これはバイエルでしょう。

○都築課長補佐 バイエルです。

○鈴木調査会座長 この会社は、非常に能力的には高い会社です。

實際上、先ほどお話ししましたけれども、プロトポルフィリン代謝阻害の除草剤というのはすごくたくさんあるんですけども、結構、難しいんです。その意味で、出されてきていたコメントには十分に対応してくれて、*in vitro* の実験とか、実際、マウスでの再実

験とかまでやってくれているんですけども、その辺りのプレゼンテーションの仕方が若干、委員の方からすると、おやと思うことがまた出てしまったのでという意味でアンラッキーな状況だということだけです。

○見上委員 その辺も、私の理解不足で言ったことかわかりませんが、最初のものと比較してそういう感じを受けました。

○小澤座長 どうもありがとうございました。確かに、予習の段階からなかなか難しいということは危惧しておったんですけども、やはりそのとおりになってしまったということで、ここはやはりサイエンティフィックに、厳しい目から見ると、もう一度、実験を求めたいと考えます。

なければ、事務局、これでよろしいですか。

○都築課長補佐 はい。

それでは、この後のスケジュールを簡単に説明させていただきます。この後、総合評価第一部会を10月4日に予定しております。また、次回の総合評価第二部会につきましては、10月16日に予定しております。お忙しいことと思っておりますけれども、スケジュールの方をお願いいたします。

また、本日、2つの剤につきまして評価の結果が出されましたので、総合評価第一部会の開催に合わせまして、10月4日に幹事会を開催したいと思います。関係専門委員には、後ほど開催の御案内をさせていただきます。

以上です。

○小澤座長 どうもありがとうございました。

それでは、これからそういう予定で、他にないようでしたら、本日の会議はこれにて終了させていただきたいと思っております。

○石井専門委員 会議が終わってから言うのもあれですけども、この文章の書き方、本当に些細なことなんですけれども、私、今回、オキサジアルギルだけ入れたので、他のものは全然直していないんですけども、何とかして試験が行われたという言い方が全部にしてあるんです。

しかし、例えば植物代謝の試験を説明しているんですから、植物代謝の試験が行われましたと言うのもおかしいと思ったんですけども、他がみんなそういう言い方をされているので、私だけ直すのは悪いので、これは撤回します。

○都築課長補佐 先生、土壌中の運命試験のところで、代謝物を分解物に御修正いただいています。

○石井専門委員 それは、分解物にしておいてください。やはり代謝物はおかしいです。

○都築課長補佐 これは前回、小林裕子先生が分解物と書いたら、これは代謝物でないとおかしいとおっしゃいました。

○石井専門委員 それは違います。代謝物というのは、むしろ両方とも生かしてやるのなら、変化生成物と言うしかありません。

生物が関与している場合、代謝物と言いますが、土の中には微生物が関与している場合と化学的に変化している場合がありますので、そんなものは代謝物とは言いません。両方あるんです。ですから、言うなら変化生成物と言うしかありません。

○都築課長補佐 わかりました。

○鈴木調査会座長 もう一度、議論し直しですね。

○石井専門委員 変化生成物と言っていけば、何でも入りますけれども、何となくおかしな日本語ですね。

○鈴木調査会座長 土によって、この土だったら微生物の分解が強くてとか、そういうようなことはありますか。

○石井専門委員 はい。加水分解のデータとか光分解のデータを見て、似たようなものがあればどちらとも言えないという話になるんですけれども、ほとんどの場合は微生物が主だと思いますけれども、それは確認されているわけではありませんから、代謝物と言ってしまうのはやはりおかしいです。

○小澤座長 私、いつぞやの幹事会の際に分解物と直させていただいた覚えがあるのですが、それでよかったんですね。

○鈴木調査会座長 議論のあるところだから、仕方がありませんね。

○都築課長補佐 それでは、これ以降、土壌中に関して代謝物と書いてあるものは、すべて分解物に統一をさせていただきたいと思います。

○石井専門委員 英語では、メタボライト・コロラリーとかそういう言い方をしています。メタボライトという言葉は、植物とか動物の場合は確かにはっきりそういっています。

○小澤座長 それでは、どうもありがとうございました。