

(案)

動物用医薬品評価書

ゼラノール

【事務局より】

赤字：第 228 回開催前の修正（未審議分）。

青字：第 228 回資料からの修正。事前送付後の修正は二重下線。

2020年1月

食品安全委員会動物用医薬品専門調査会

目次

	頁
1	
2	
3	5
4	5
5	5
6	7
7	
8	8
9	8
10	8
11	8
12	8
13	8
14	8
15	8
16	
17	10
18	10
19	10
20	11
21	11
22	12
23	12
24	14
25	14
26	14
27	17
28	17
29	17
30	20
31	20
32	21
33	21
34	21
35	21
36	22
37	22
38	23
39	23
40	23

1	(8) 6週間亜急性毒性試験 (イヌ) <参考資料>	24
2	(9) 14週間亜急性毒性試験 (イヌ) <参考資料>	24
3	(10) 29週間亜急性毒性試験 (イヌ) <参考資料>	24
4	(11) 皮下投与による亜急性毒性試験 <参考資料>	25
5	6. 慢性毒性及び発がん性試験	25
6	(1) 104週間慢性毒性/発がん性併合試験 (マウス)	25
7	(2) 1年間慢性毒性試験 (ラット) <参考資料>	29
8	(3) 104週間慢性毒性/発がん性併合試験 (ラット)	30
9	(4) 104~105週間慢性毒性試験 (ラット) <参考資料>	33
10	(5) 1年間慢性毒性試験 (イヌ) <参考資料>	34
11	(6) 104週間慢性毒性試験 (イヌ)	34
12	(7) 7年間慢性毒性試験 (イヌ)	36
13	(8) 10年間慢性毒性試験 (サル)	37
14	7. 生殖発生毒性試験	40
15	(1) 1世代繁殖試験 (ラット)	40
16	(2) 2世代繁殖試験 (ラット)	43
17	(3) 3世代繁殖試験 (ラット) <参考資料>	45
18	(4) 生殖毒性試験 (ラット) <参考資料>	45
19	(5) 発生毒性試験 (マウス) <参考資料>	46
20	(6) 発生毒性試験 (ラット) ①<参考資料>	46
21	(7) 発生毒性試験 (ラット) ②<参考資料>	46
22	(8) 発生毒性試験 (ウサギ) <参考資料>	46
23	8. ホルモン作用に関する試験	47
24	(1) 13週間投与試験 (サル) <参考資料>	47
25	(2) 3月経周期投与試験 (サル)	47
26	(3) 3月経周期又は111日間投与試験 (サル)	48
27	(4) 生殖毒性メカニズムの解析に関する試験 (マウス)	50
28	9. その他の試験	51
29	(1) 子宮肥大試験 (マウス) 及びエストロゲン受容体との親和性に関する特殊試	
30	験 (<i>in vitro</i>)	51
31	(2) エストロゲン様力価に関する特殊試験 (ラット)	51
32	(3) 卵巣摘出サルを用いた試験	51
33	(4) 精巣毒性に関する特殊試験 (マウス)	52
34	10. ヒトにおける知見	53
35		
36	III. 国際機関等における評価	54
37	1. JECFA の評価	54
38	2. EU の評価	54
39	3. 米国の評価	55
40	4. 豪州の評価	55

1		
2	IV. 食品健康影響評価	56
3		
4	・表 22 JECFA 及び食品安全委員会動物用医薬品専門調査会における各種試験の無毒性量	
5	等の比較	58
6	・ 別紙 1：代謝物名称	60
7	・ 別紙 2：検査値等略称	61
8	・ 参照	62
9		

1 <審議の経緯>

- 2005年 11月 29日 暫定基準告示 (参照1)
 2014年 3月 25日 厚生労働大臣から残留基準設定に係る食品健康影響評価について
 要請 (厚生労働省発食安0320第10号)、関係資料の接受
 2014年 3月 31日 第509回食品安全委員会 (要請事項説明)
 2019年 11月 29日 第228回動物用医薬品専門調査会
[2020年 1月 29日 第229回動物用医薬品専門調査会](#)

2 <食品安全委員会委員名簿>

(2015年6月30日まで)	(2017年1月6日まで)	(2018年6月30日まで)
熊谷 進 (委員長*)	佐藤 洋 (委員長)	佐藤 洋 (委員長)
佐藤 洋 (委員長代理)	山添 康 (委員長代理)	山添 康 (委員長代理)
山添 康 (委員長代理)	熊谷 進	山本 茂貴
三森 国敏 (委員長代理)	吉田 緑	吉田 緑
石井 克枝	石井 克枝	石井 克枝
上安平浏子	堀口 逸子	堀口 逸子
村田 容常	村田 容常	村田 容常

* : 2012年7月2日から

3

(2018年7月1日から)

佐藤 洋 (委員長*)
山本 茂貴 (委員長代理*)
川西 徹
吉田 緑
香西みどり
堀口 逸子
吉田 充

* : 2018年7月2日から

4

5 <食品安全委員会動物用医薬品専門調査会専門委員名簿>

(2019年9月30日まで)

青山 博昭 (座長)	島田 美樹	舞田 正志
小川久美子 (座長代理)	下地 善弘	宮田 昌明
青木 博史	須永 藤子	吉田 敏則
石川さと子	辻 尚利	渡邊 敏明
石塚真由美	寺岡 宏樹	

島田 章則

能美 健彦

(2019年10月1日から)

青山 博昭 (座長)

島田 章則

寺岡 宏樹

小川久美子 (座長代理)

島田 美樹

中西 剛

青木 博史

下地 善弘

能美 健彦

石川さと子

須永 藤子

宮田 昌明

石塚真由美

辻 尚利

1

2 [<第 228 回動物用医薬品専門調査会専門参考人名簿>](#)

3 [吉田 敏則 \(東京農工大学農学研究院動物生命科学部門准教授\)](#)

4

5 [<第 229 回動物用医薬品専門調査会専門参考人名簿>](#)

6 [吉田 敏則 \(東京農工大学農学研究院動物生命科学部門准教授\)](#)

7

8

9

要 約

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11

ホルモン剤である「ゼラノール」(CAS No. 26538-44-3) について、JECFA 評価書等を用いて食品健康影響評価を実施した。

評価に用いた試験成績等は、薬物動態 (ラット、ウサギ等)、残留 (牛)、遺伝毒性、急性毒性 (マウス及びラット)、亜急性毒性 (マウス、ラット等)、慢性毒性・発がん性 (マウス、ラット等)、生殖発生毒性 (マウス、ラット等)、その他の毒性試験等の試験成績である。

[以降は審議後に記載。]

1 I. 評価対象動物用医薬品の概要

2 1. 用途

3 ホルモン剤

4

5 2. 有効成分の一般名

6 和名：ゼラノール (α -ゼアララノール)7 英名：Zeranol (α -zearalanol)

8

9 3. 化学名

10 IUPAC : (3*S*,7*R*)-7,14,16-trihydroxy-3-methyl-3,4,5,6,7,8,9,10,11,12-decahydro-
11 1*H*benzo[*d*][1]oxacyclotetradecin-1-one

12 CAS No. : 26538-44-3

13

14 4. 分子式

15 $C_{18}H_{26}O_5$

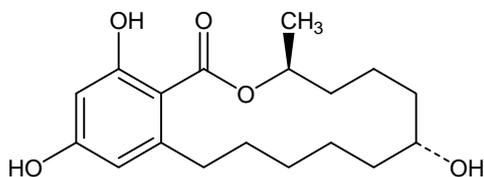
16

17 5. 分子量

18 322.40

19

20 6. 構造式



(参照 2) [Merck Index]

21

22 7. 使用目的及び使用状況

23 ゼラノールは、タンパク同化作用を持つ非ステロイドであり、*Fusarium*
24 *graminearum* の液体培養で産生されるマイコトキシンのゼアラレノンから誘導される。
25 市販のゼラノール製剤は、ゼアラレノンの 7-位のケトン基を還元することで得られるゼ
26 ラノール (α -ゼアララノール) を主成分とし、タレラノール (β -ゼアララノール、1.5%
27 以下)、ゼアララノン (0.15%以下)、ゼアラレノン (0.01%以下) 等を含む。[FNP41, p. 38, 40]

28 天然には、ゼラノールは、ゼアラレノンを産生する 7 種の *Fusarium* spp. 分離株 (異
29 なる 6 菌種) により代謝物として生成される。これらの株は、完成飼料又は飼料作物 (ク
30 ローバー又はアルファルファ) から分離された。 [FNP41, p. 38-39]

31 ゼラノールは肥育促進及び飼料効率の改善を目的として、哺乳期、離乳期、育成期及
32 び肥育期の牛の耳下にインプラントを皮下移植投与する。単剤で用いられるほか、他の
33 ホルモン剤と併用される。(参照 3) [FNP41, p. 40]

34 海外では、米国、カナダ及び豪州において一定の処方に基づきゼラノール等のホルモ
35 ン剤の使用が認められている (参照 4) [食安委 ファクトシート]。EU においては、1989

1 年に、食肉の生産において成長促進を目的としてゼラノール等のホルモン剤を使用する
2 こと及びこれらのホルモンを使用した動物の食肉の輸入が禁止された（参照 18）[EC
3 Opinion 1999, p. 1]。
4 日本では、1960 年代から去勢牛の肥育促進を効能・効果とする天然型のホルモン剤が
5 承認、使用されていたが、1999 年に動物用医薬品業者が自主的に承認を取り下げた（参
6 照 4）[食安委 ファクトシート]。ゼラノールを主剤とするホルモン剤については、これま
7 で承認、使用されたことはない。また、ヒト用医薬品としても承認、使用されたことは
8 ない。
9 なお、ポジティブリスト制度導入に伴う残留基準値¹が設定されている。（参照 1）
10

¹ 平成 17 年厚生労働省告示第 499 号によって定められた残留基準値（参照 1）

1 II. 安全性に係る知見の概要

2 本評価書では、JECFA 評価書、FDA 評価書等を基に、ゼラノールの毒性に関する主
3 な知見を整理した。(参照 3、5～16)

4 代謝物名称及び検査値等略称をそれぞれ別紙 1 及び 2 に示した。

5 各種代謝試験は、ゼラノールの 11 及び 12 位の水素を ^3H で標識したもの ([11,12- ^3H]
6 標識ゼラノール。以下「 ^3H 標識ゼラノール」という。)を用いて実施された。(参照 3)
7 [FNP41, p. 40]

9 1. 薬物動態試験

10 ゼラノールの一般的な薬物動態試験の結果は得られていない。

12 (1) 代謝試験 (ラット)

13 ラットに ^3H 標識ゼラノールを皮下投与し、その組織及び排泄物中の $^3\text{H}_2\text{O}$ について
14 調べた結果、 ^3H の交換は極めて少ないことが示された。(参照 3) [FNP41, p. 40]

15
16 ラット (雌雄各 2 匹) に ^3H 標識ゼラノールを経口投与 (1.5 mg/匹) し、代謝試験が
17 実施された。血液、肝臓、尿及び糞中の放射活性を定量し、HPLC を用いて肝臓、尿及
18 び糞中の代謝物を同定した。

19 試験結果を表 1 に示した。

20 雌の肝臓中の主要残留物はゼラノール及びゼアララノンであり、それぞれ残留放射活
21 性の 25～30%を占め、タレラノール及び極性成分がそれぞれ 6～7%を占めた。雄の肝
22 臓中の主要代謝物はゼアララノン (20%) であった。尿中の主要残留物は雌雄とも極性
23 物質であった。雌雄の尿を Glusulase²で酵素加水分解処理すると極性物質は減少した。
24 糞中ではゼアララノンが ^3H 標識総残留物の約 50%を占め、ゼラノールは約 20%を占め
25 ていた。これらの結果に、大きな性差はみられなかった。(参照 3) [FNP41, p. 40-41 (Mulkey,
26 1985a)]

27 表 1 ラットにおける ^3H 標識ゼラノール経口投与後の
28 総放射活性濃度 (ng eq/g) 及び代謝物の組成 (%) [第 228 回](#)

性別	測定対象	肝臓	尿 ^a	糞	血液
		84～207 ng eq/g	7,000～13,000 ng eq/g ³	100～300 ng eq/g ⁴	10～17 ng eq/g
雌 (n=2)	ゼラノール	25～30%	21%	20%	— ^c
	ゼアララノン	25～30%	26%	50%	—
	タレラノール	6～7%	4%	<10%	—
	極性物質 ^b	6～7%	34%	<10%	—
雄 (n=2)	ゼラノール	13%	3～9%	20%	—
	ゼアララノン	20%	3～9%	50%	—

² β-グルクロニダーゼ及びサルファターゼの混合酵素。以下同様。

³ 原文「7-13 mg/kg」をそのまま単位換算した。[第 228 回](#)

⁴ 原文「0.1-0.3 mg/kg」をそのまま単位換算した。[第 228 回](#)

	タレラノール	13%	3~9%	<10%	—
	極性物質	13%	69%	<10%	—

1 a: 加水分解前の尿における解析結果

2 b: 逆相 HPLC カラムにおいて早期に溶出する物質

3 c: 測定せず

5 (2) 代謝試験 (サル)

6 サル (カニクイザル、雌雄各 2 匹) に ^3H 標識ゼラノールを経口投与 (1.5 mg/匹) し、
7 代謝試験が実施された。血清、肝臓、尿及び糞中の放射活性を定量し、HPLC を用いて
8 肝臓、尿及び糞中の代謝物を同定した。

9 試験結果を表 2 に示した。

10 性差は明確ではなく、肝臓及び糞中の主要化合物はゼラノールであった。加水分解処
11 理前の尿中の代謝物はいずれも極性物質であった。Glusulase で加水分解処理後の主要
12 な放射標識化合物はゼラノールであり、全残留放射活性の約 25%を占めていた。(参照
13 3) [FNP41, p. 41 (Mulkey, 1985b)]

15 表 2 サルにおける ^3H 標識ゼラノール経口投与後の
16 総放射活性濃度 (ng eq/g) 及び代謝物の組成 (%) [第 228 回](#)

測定対象	肝臓	尿 ^a	糞	血液
	102~195 ng eq/g	5,000 ng eq/g ⁵	5,000 ng eq/g ⁵	28~49 ng eq/g
ゼラノール	25%	25%	50%	— ^c
ゼアララノン	10%	5%	20%	—
タレラノール	10%	5%	<10%	—
極性物質 ^b	10%	5%	<10%	—

17 n=4

18 a: 加水分解後

19 b: 逆相 HPLC カラムにおいて早期に溶出する物質

20 c: 測定せず

22 (3) 代謝試験 (牛)

23 ① ゼラノールの単剤投与

24 肉用牛 (平均体重 221 kg、約 1 歳、雌雄各 9 頭、3 頭/時点) の耳下に ^3H 標識ゼラノ
25 ール製剤を皮下移植投与 (3630 mg/頭⁶) し、投与 2、5、15、30、45 及び 65 日後の排
26 泄物及び組織中の残留物の組成が測定された。対照群には 2 頭 (雌雄各 1 頭) を用いた。

27 [事務局](#)

28 投与 65 日後には、投与量の約 60%が移植投与部位に残存していた。投与部位から消
29 失した 40%のうち、尿及び糞中からそれぞれ 12~18 及び 21~34%が回収された。

30 肝臓、腎臓、尿及び糞中の代謝物は HPLC を用いて分析され、その結果を表 3 に示し
31 た。(参照 3、5) [FNP41, p.41-42(Tarr et al., 1984)] [FDA: NADA_RALGRO®, 1989 p.17-18
32 F.1. (Tarr et al., 1984)]

⁵ 原文「5 mg/kg」をそのまま単位換算した。[第 228 回](#)

⁶ JECFA/FDA 評価書 (参照 35) には「3036 mg」と記載されている。[事務局](#)

表3 牛における³H標識ゼラノールの皮下移植投与後の
排泄物/組織中残留物の組成 (%)

加水分解 処理 ^a	測定対象	試料			
		尿	糞 ^b	肝臓 ^c	腎臓
無し	ゼラノール	— ^d	25	12	※ ^e
	ゼアララノン	—	10~15	17	※
	タレラノール	—	25	12	※
	極性物質	98	—	52	※
有り	ゼラノール	17	※	21.5~32.9	17.8
	ゼアララノン	3.8	※	7.1~19.5	12.6
	タレラノール	43.5	※	24.1~32.4	32.
	極性物質	4	※	4.1~20.3	34.0

n=3

a : Glusulase を用いた加水分解

b : 放射活性抽出率 : 82%

c : 放射活性抽出率 : >95%

d : 資料中に説明なし

e : 資料中では空欄

② 酢酸トレンボロンとの複合投与

肉用子牛 (13 週齢、雄) にゼラノール (36 mg/頭) 及び酢酸トレンボロン (140 mg/頭) を移植投与し、代謝試験が実施された。尿中のゼラノール、ゼアララノン及びタレラノールを逆相 HPLC により分画した後、化学発光免疫測定法により定量し、尿抽出物を逆相 HPLC により分析した。第 228 回

その結果、尿中の主要代謝物はタレラノールであった。(参照 3) [FNP41, p. 44 (Jansen, et al., 1986)]

(4) 各動物種及び *in vitro* におけるゼラノールの代謝 (ラット、ウサギ、イヌ、サル、牛、豚及びヒト) 第 228 回

牛の耳下への皮下移植投与並びにラット及びサルへの経口投与による組織、体液及び排泄物中、ラット、ウサギ、イヌ、サル及びヒトへの経口投与による体液及び排泄物中、並びに豚の耳下への皮下投与による血漿中の³H標識ゼラノールの代謝物について検討された。

哺乳動物におけるゼラノールの推定代謝経路を図 1 に示した。

いずれの哺乳動物においても、ゼアララノン及びタレラノールがゼラノールの第 I 相の主要代謝物であり、全動物種がゼラノールをゼアララノン及びタレラノールに代謝する。組織中及び排泄物中のゼラノール : ゼアララノン : タレラノールの比は、動物種により異なる。ゼラノール及びその代謝物は、いずれも遊離体及び抱合体 (グルクロン酸抱合体及び/又は硫酸抱合体) として排泄される。

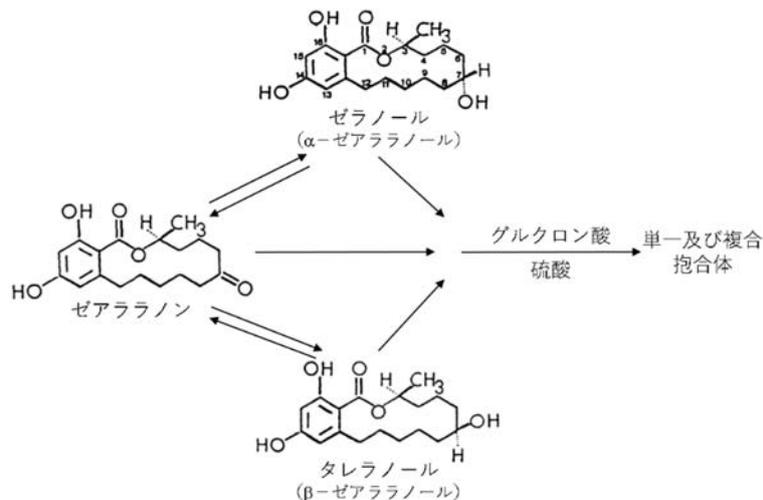
そのほかに高い極性を示す未知の微量代謝物が、³H標識ゼラノールを投与した牛、ラット及びサルの尿、肝臓及び糞中でみられた。これらの代謝物の量は、グルクロニダーゼ及びスルファターゼの粗酵素製剤を用いた長時間の処理により減少したが、消失する

1 ことはなかった。これらの物質はゼラノール及び代謝物の複合抱合体であると推察され
 2 る。(参照 3、5) [FNP41, p.43 (Tarr, et al., 1984; Mulkey, 1985a; Mulkey, 1985b; Migdalof,
 3 et al., 1983)] [FDA: NADA_RALGRO®, 1989 p.17-18,20-21 (F1.Tarr, et al., 1984; F3.Migdalof,
 4 et al., 1983; F4.Mulkey, 1985(Project No.905); F5.Mulkey, 1985(Project No.914); F6.
 5 H.L.Kim,1985)]

6 ³H 標識ゼラノールを単回経口投与したラット (Wistar 系、雌)、ウサギ (New
 7 Zealand)、イヌ (ビーグル種)、サル (アカゲザル) 及びヒトにおいて、ゼラノールとそ
 8 の代謝物の排泄は、ラット、イヌ及びサルでは主に胆汁であり、ウサギ及びヒトでは尿
 9 中が優位であった。また、ヒトにおいては、血中及び尿中におけるゼラノールとその代
 10 謝物はほとんどが抱合体 (グルクロン酸抱合体及び硫酸抱合体) であるが、ラット、ウ
 11 サギ、イヌ及びサルでは、遊離体と抱合体の割合には各々で差がみられた。(参照 6)
 12 [(Migdalof, et al., 1983)]**事務局**

13 ³H-標識ゼラノールを含むペレットを耳下に皮下移植投与した豚の血漿では、遊離型
 14 の主要代謝物は、タレラノール及びゼアララノン⁷であった。また、抱合体で存在する主
 15 要代謝物は、ゼラノール、タレラノール及びゼアララノンであり、グルクロン酸抱合体
 16 及び硫酸抱合体として存在していた。(参照 7) [(Bories et al.,1989)]**事務局**

17 ゼラノールを移植投与した牛の可食組織中には、ゼラノールを摂取した実験動物及び
 18 ヒトで生成されるのと同じ代謝物が含まれる。(参照 3、5) [FNP41, p.43 (Tarr, et al.,
 19 1984)] [FDA: NADA_RALGRO®, 1989 p.17-18,20-21 (F1.Tarr, et al., 1984; F6. H.L.Kim,1985)]



20
 21 図1 哺乳動物におけるゼラノールの推定代謝経路⁸

22 ~~なお、*in vitro* 試験においても、ラット、牛、豚及びヒトの肝ミクロソーム、ヒトの腸~~
 23 ~~ミクロソーム並びにヒトのリコンビナント UGT を用い、ゼラノールの 7、14 及び 16 位~~
 24 ~~の水酸基のグルクロン酸抱合体が得られた。それら UGT のゼラノールに対する代謝活~~
 25 ~~性は、特に UGT 1A1、1A3 及び 1A8 で高く、ヒト生体における肝臓及び腸での抱合体~~
 26 ~~への代謝が示唆された。さらに、豚 (交雑種 (LW)) 及びラット (Wistar 系) の肝ミク~~
 27 ~~ロソーム及び細胞質を用いた試験で、いずれの肝ミクロソーム及び肝細胞質でもゼラノ~~

7 参照 7 には “zeralanone” と記載されているが、いずれも「ゼアララノン」であると判断した。

8 JECFA 評価書 (参考 3) の FIGURE 2 を一部改変。

1 ~~ールがそれぞれモノグルクロン酸抱合及びモノ硫酸抱合されることが確認された。(参~~
 2 ~~照 8、9) 第 228 回 → (5) へ移動~~

4 (5) *in vitro* 代謝試験

5 ~~なお、*in vitro* 試験においても、ラット、牛、豚及びヒトの肝ミクロソーム、ヒトの腸~~
 6 ~~ミクロソーム並びにヒトのリコンビナント UGT を用い、ゼラノールの 7、14 及び 16 位~~
 7 ~~の水酸基のグルクロン酸抱合体が得られた。それら UGT のゼラノールに対する代謝活~~
 8 ~~性は、特に UGT 1A1、1A3 及び 1A8 で高く、ヒト生体における肝臓及び腸での抱合体~~
 9 ~~への代謝が示唆された。さらに、豚 (交雑種 (LW)) 及びラット (Wistar 系) の肝ミク~~
 10 ~~ロソーム及び細胞質を用いた試験で、いずれの肝ミクロソーム及び肝細胞質でもゼラノ~~
 11 ~~ールがそれぞれモノグルクロン酸抱合及びモノ硫酸抱合されることが確認された。(参~~
 12 ~~照 8、9) [(Pfeiffer et al., 2010; Bories et al., 1991)] 第 228 回~~

13
 14 ゼラノールの第 I 相代謝について検討するため、ゼラノール又は重水素ラベルされ
 15 たゼラノールが、ヒトの肝ミクロソーム (24 人分のミクロソームをプールしたもの)
 16 とともに 37°C でインキュベートされた。

17 代謝反応による脱重水素及び LC-DAD-MS による解析の結果、ヒトの肝ミクロソーム
 18 によるゼラノールの主な代謝物は、芳香環の 13 及び 15 位炭素が水酸化され、カテ
 19 コール構造を有するものであることが推定された。また、これらの物質が酸化された場
 20 合に生じるキノン構造を有する代謝物も検出されたことから、これらのカテコールが不
 21 安定であることが示唆された。

22 これらのカテコール構造を有する代謝物の反応性について検討するために、ミクロソ
 23 ーム培養液に、*N*-acetylcysteine (NAC) を添加したところ、数種のゼラノールの代
 24 謝物の NAC 付加体が検出された。第 228 回

25 種による代謝の差異を検討するため、ゼラノールをラット (Wistaer 系統、雄)、子
 26 牛 (去勢雄) 又は豚 (雌) の肝ミクロソームとともにインキュベートしたところ、それ
 27 ぞれ同様のカテコール代謝物の存在を示唆するピークが検出された。第 228 回

28 また、ゼラノールとヒトリコンビナント CYP (1A1、1A2、1B1、2A6、2B6、2C8、
 29 2C9、2C19、2D6 及び 3A4) をインキュベートする実験では、芳香環の水酸化において
 30 CYP1A2 が最も酵素活性が高かった。さらに、ヒトの肝ミクロソームの場合と同様に、
 31 ゼラノールの代謝物の NAC 付加体が生成された。(参照 10) [Hildebrand et al., 2010]

33 2. 残留試験

34 (1) ゼラノールの単剤投与

35 ① 残留試験 (牛、単回移植①) ④第 228 回

36 肉用牛 (平均体重 221 kg、約 1 歳、雌雄各 9 頭、3 頭/時点) の耳下に ³H 標識ゼラノ
 37 ール製剤を皮下移植投与 (3630 mg/頭⁹) し、投与 2、5、15、30、45 及び 65 日後の組
 38 織中の総放射活性が測定された。対照群には 2 頭 (雌雄各 1 頭) を用いた。事務局

⁹ JECEAFDA 評価書 (参照 35) には「3036 mg」と記載されている。事務局

1 結果を表 4 に示した。
 2 投与後、組織中残留は投与 5~15 日後に最高値に達し、時間の経過とともに徐々に減
 3 少した。最高値に達した後、肝臓では約 30 日で半分の濃度になった。
 4 可食組織中の残留濃度は、投与後のいずれの時点においても極めて低かった。残留濃
 5 度は肝臓で最も高かったが、10 ng eq/g を超えることはなかった。筋肉中残留濃度は投
 6 与後のいずれの時点においても 0.13 ng eq/g を超えることはなかった。(参照 3、5)
 7 [FNP41, p.41-42(Tarr et al., 1984)] [FDA; NADA_RALGRO®, 1989 p.17-18 F.1. (Tarr et al.,
 8 1984)]

10 表 4 牛における ³H 標識ゼラノールの移植投与後の平均総放射活性濃度 (ng eq/g)

組織	投与後経過日数 (日)						検出限界
	2	5	15	30	45	65	
肝臓	2.5	8.2	7.3	4.2	3.4	1.5	0.07
腎臓	0.74	1.7	1.3	0.97	0.89	0.75	0.07
筋肉	0.099	0.13	0.10	0.054	0.047	0.044	0.014
脂肪 ^a	0.10	0.30	0.25	0.26	0.14	0.098	0.035
胆汁	80	270	230	140	120	56	※ ^b

11 n=3
 12 a: 腎周囲脂肪
 13 b: 資料中では空欄

14
 15 ② 残留試験 (牛、単回移植②) ②第 228 回

16 牛 (雌 4 頭) にゼラノール製剤を移植投与 (36 mg/頭) し、投与 70 日後の組織中ゼ
 17 ラノール濃度がモノクローナル抗体を用いた RIA (定量限界: 筋肉 0.278 ng/g、脂肪
 18 0.121 ng/g、肝臓 0.373 ng/g、腎臓 0.110 ng/g) により測定された。
 19 組織中の平均残留濃度は、筋肉、脂肪、肝臓及び腎臓中でそれぞれ 0.127、0.184、0.299
 20 及び 0.157 ng/g であった。(参照 3) [FNP41, p.44(Dixon & Russell, 1986)]

21
 22 ③ 残留試験 (牛、単回移植③) ③第 228 回

23 牛 (去勢雄 27 頭) にゼラノール製剤を移植投与 (36 mg/頭) し、投与 7、14、21、
 24 30 及び 50 日後の肝臓、筋肉及び脂肪の生検試料中並びに投与 70、90 及び 120 日後の
 25 各組織中のゼラノール濃度が測定された。
 26 投与 70 日後の組織中の残留濃度は、肝臓、腎臓、筋肉及び脂肪でそれぞれ 0.200±
 27 0.147、0.126±0.094、0.725±0.886 及び 0.073±0.040 ng/g であった。投与 70 日後の
 28 胆汁中の残留濃度は 3.28±1.74 ng/mL¹⁰であった。(参照 3) [FNP41, p.44(Dixon, et al.,
 29 1986)]

30
 31 ④ 残留試験 (牛、単回移植④) ④第 228 回

32 肉用牛 (体重約 260 kg、10~12 月齢、雄 36 頭、各 6 頭/時点) の耳下に ³H 標識ゼラ

¹⁰ JECFA 評価書 (参照 3) には “mg/L” と記載されているが、“µg/L” の誤りであると判断した。[事務局]

1 ノール製剤を皮下移植投与（36 又は 72 mg/頭）し、投与 15、30 及び 65 日後の組織中
2 の総放射活性が測定された。対照群には 3 頭（1 頭/時点）を用いた。

3 結果を表 5 に示した。

4 平均組織中残留濃度の最高値は投与 15 日後にみられた。72 mg を投与した牛におけ
5 る各時点の各組織中の平均総残留濃度は、36 mg を投与した牛のものよりも高かった。
6 試験を通して最も高い平均総組織中残留濃度であったのは、72 mg を投与した牛の投与
7 15 日後の肝臓であり、6.0 ng eq/g であった。（参照 5） [FDA: NADA_RALGRO®, 1989 p.19
8 F.2. (Wilkes et al., 1984)]

10 表 5 牛における ³H 標識ゼラノールの移植投与後の平均総放射活性濃度 (ng eq/g)

組織	投与量及び投与後経過日数 (日)					
	36 mg			72 mg		
	15	30	65	15	30	65
肝臓	2.2	1.4	1.3	6.0	2.8	2.6
腎臓	0.51	0.43	0.47	1.90	0.93	0.92
筋肉	0.020	0.017	0.016	0.055	0.040	0.030
脂肪	0.110	0.087	0.083	0.440	0.230	0.140

11 n=6

12
13 ⑤ 残留試験（牛、反復移植）

14 牛（性別不明、3 頭/群）にゼラノール製剤を 1 回から 6 回移植投与（36 mg/頭/回）
15 し、残留試験が実施された。複数回の移植投与では、初回を 60 日齢で実施し、その後の
16 投与を 65 日間隔で実施した。いずれの被験動物についても、最終投与 65 日後に RIA
17 （検出限界：0.5 ng/g）により分析した。

18 6 群のいずれの被験動物においても筋肉、腎臓及び脂肪中に残留物は検出されなかつ
19 た。1～3 回投与群では肝臓中に残留物は検出されなかったが、4、5 及び 6 回投与群で
20 はそれぞれ 0.73、1.52 及び 1.10 ng/g が肝臓中から検出された。（参照 3） [FNP41, p.44
21 (IMC, undated)]

22
23 ⑥ 残留試験（牛、単回移植又は反復静脈内）

24 牛（雄、頭数不明）にゼラノールを移植投与（24～168 mg/頭）し、投与 5 日後の組
25 織中のゼラノール及びその代謝物濃度が測定された。別の群の牛にはゼラノール/ジメチ
26 ルスルホキシド（DMSO）/生理食塩水溶液を 1 日 2 回、3 日間静脈内投与（552～4,128
27 mg/頭）し、最終投与 3 日後の組織中ゼラノール及びその代謝物濃度を測定した。

28 結果を表 6 に示した。（参照 3） [FNP41, p.44-45 (Cross and Byers, 1987)]

29
30 表 6 牛における移植又は静脈内投与後のゼラノール及びその代謝物の
31 残留濃度 (ng/g)

投与経路 及び方法	投与量 (mg/頭)	試料				
		筋肉			肝臓	
		ゼラノール	ゼアラノン	タレラノール	ゼラノール	タレラノール

移植 (単回) a	24	0.13	0.05	<0.02	1.0	—
	48	0.21	0.1	<0.02	NA	—
	72	0.16	0.2	<0.02	NA	—
	120	0.16	0.09	<0.02	NA	—
	168	0.13	0.09	<0.02	2.9	—
静脈内 (1日2 回、3日 間) b	552	0.14	—	0.03	15.0	5.0
	1,374	0.29	0.19	0.06	65.0	40.0
	2,748	0.32	0.23	0.10	50.0	25.0
	4,128	0.55	0.09	0.08	60.0	70.0

1 NA：分析せず

2 a：投与5日後に試料採取

3 b：最終投与3日後に試料採取

5 (2) 酢酸トレンボロンとの複合投与

6 ① 残留試験 (牛) ①

7 牛 (去勢雄6頭) に酢酸トレンボロン (300 mg/頭) 及びゼラノール (36 mg/頭) を
8 移植投与、又は牛 (去勢雄5頭) にゼラノール (36 mg/頭) を移植投与し、残留試験が
9 実施された。投与67日後の組織中ゼラノール濃度は、著者らが考案した抽出法並びに
10 Dixon 及び Russell (1983) のRIAにより測定された。

11 肝臓 (0.349 ng/g) 及び腎臓中 (0.076 ng/g) の濃度のみが対照群と比べて有意に高か
12 った¹¹。(参照3) [FNP41, p.44 (O' Keefe, 1984)]

14 ② 残留試験 (牛) ②

15 牛 (雌3頭、未去勢の若雄1頭) に酢酸トレンボロン (200 mg/頭) 及びゼラノール
16 (36 mg/頭) を移植投与し、残留試験が実施された。投与84及び56日後の雌並びに投
17 与271及び183日後の雄の組織中ゼラノール濃度を測定した。

18 組織中の残留濃度は、筋肉及び脂肪ではいずれも0.2 ng/g未満、腎臓では0.3 ng/g未
19 満、肝臓では0.5 ng/g未満であった。(参照3) [FNP41, p.44 (Gaspar, et al., 1985)]

21 (3) 残留物

22 [I. 7.]に記載したとおり、ゼラノールを代謝物として天然に産生する *Fusarium* 株
23 は完成飼料又は飼料作物から分離された。*Fusarium* 分離株によるゼラノール (及びタ
24 レラノール) の天然かつ直接的な産生は、家畜飼料中においてもこれらの誘導体が存在
25 することを示唆するものであり、重要である。と殺された牛の組織残留物として検出さ
26 れるゼラノール及びその代謝物並びにその他のレゾルシル酸ラクトンが天然由来であり、
27 必ずしも移植投与が原因ではない可能性があることを意味する。(参照3) [FNP41, p.38-
28 39 (Richardson et al., 1985)]

30 3. 遺伝毒性試験

31 ゼラノール並びにその代謝物であるゼアララノン及びタレラノールの遺伝毒性試験結果

11 複合投与群又は単剤投与群のいずれか不明。

1 を表7及び8に示した。(参照5、11、12) [FDA; NADA_RALGRO®, 1989 p. 8-12 C. 1a. -f.] [FAS23,
2 p6-7] [(Pylkkanen et al., 1991)]

3
4

表7 ゼラノールの遺伝毒性試験結果

検査項目	試験対象	用量	結果	
in vitro	復帰突然変異試験	<i>Salmonella typhimurium</i> TA98, TA100, TA1538	1~500 µg/plate (+S9)	陰性 (参照11) [Bartholomew & Ryan, 1980]
		<i>S. typhimurium</i> TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA1538 ¹²	1~10,000 µg/plate (±S9)	陰性 (参照5、11) [Jagannath, 1982a]
	遺伝子突然変異試験	マウスリンフォーマ L5178Y 細胞 (Tk+/-)、-3.7.2C 細胞	25~600 µg/mL (±±S9 ¹³) 能美専門委員	陰性 (参照5、11) [Cifone, 1982]
	小核試験	C57BL マウス精細管由来初代培養精母細胞	10 ⁻⁸ ~10 ⁻⁵ mol/L	陰性 (参照12) [Pylkkanen et al., 1991]
	DNA 修復試験	F344 ラット (成獣雄) 肝由来初代培養細胞	1.3×10 ⁻⁵ ~1.3×10 ⁻³ mg/mL	陰性 (参照5、11) [Williams, 1983]
	DNA 結合試験	ラット肝由来初代培養細胞	不明	陰性 (参照11) [Williams, 1984]
	Rec アッセイ	<i>Bacillus subtilis</i> H17, M45	不明	陽性 (参照11) [Scheutwinkel et al., 1986]
	SOS-クロモ試験	<i>Escherichia coli</i> PQ37	不明 (±S9)	陰性 (参照11) [Scheutwinkel et al., 1986]
	姉妹染色分体交換試験	チャイニーズハムスターV79 細胞	不明 (±S9)	陰性 (参照11) [Scheutwinkel et al., 1986]
in vivo	細胞遺伝学的試験	CD-1 マウス骨髄細胞	0.5、1.5、5 g/kg 体重 経口、急性又は亜慢性ばく露	陰性 (参照5、11) [Cimino, 1982]

¹² JECFA 評価書 (参照11) には「TA100」と記載されている。

¹³ JECFA 評価書 (参照11) には「+S9」と記載されている。能美専門委員

	小核試験	Han:NMRI マウス精子細胞	50 mg/kg を単回皮下投与	陰性 (参照 12) [Pylkkanen et al., 1991]
--	------	------------------	------------------	---

1
2

表 8 代謝物の遺伝毒性試験結果

検査項目	試験対象	用量	結果	
ゼアララノン				
<i>in vitro</i>	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> TA98、TA100、TA1535、TA1537、TA1538	50、500、1,000 µg/plate (+S9)	陰性 (参照 11) [Ingerowski et al., 1981]
		<i>S. typhimurium</i> TA98、TA100、TA1535、TA1537、TA1538	1.0~10,000 µg/plate (±S9)	陰性 (参照 5、11) [Jagannath, 1982b]
	遺伝子突然変異試験	マウスリンフォーマ L5178Y 細胞 (Tk+/-)	3.13~300 µg/mL(±S9 ¹⁴) 能美専門委員	陰性 (参照 5、11) [Cifone, 1983]
	DNA 修復試験	F344 ラット (成獣雄) 肝由来初代培養細胞	5×10 ⁻¹⁰ ~5×10 ⁻⁴ mg/mL	陰性 (参照 5、11) [Williams, 1985a]
<i>in vivo</i>	細胞遺伝学的試験	CD-1 マウス骨髄細胞	0.5、1.67、5 g/kg 体重経口、急性又は亜慢性ばく露	陰性 (参照 5、11) [Cimino, 1983]
タレラノール				
<i>in vitro</i>	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> TA98、TA100、TA1538	1~500 µg/plate (+S9)	陰性 (参照 11) [Bartholomew & Ryan, 1980]
		<i>S. typhimurium</i> TA98、TA100、TA1535、TA1537、TA1538 ¹²	1~ 105 ,000 µg/plate (±S9) ¹⁵ 能美専門委員	陰性 (参照 5、11) [DeGraff, Jagannath, 1983]
	遺伝子突然変異試験	マウスリンフォーマ L5178Y 細胞 (Tk+/-)、-3.7.2C 細胞	20~160 µg/mL (±±S9 ¹³) 能美専門委員	疑陽性 (参照 5、11) [Cifone, 1985]
	DNA 修復試験	F344 ラット (成獣雄) 肝由来初代培養細胞	2×10 ⁻⁵ ~2×10 ⁻¹ mg/mL	陰性 (参照 5、11) [Williams, 1985b]

¹⁴ JECFA 評価書 (参照 11) には記載がない。能美専門委員¹⁵ JECFA 評価書 (参照 11) には「1-5,000 µg/plate」と記載されている。能美専門委員

	染色体異常試験	CHO 細胞	3.75~250 µg/mL (±S9)	陽性 (-S9) 陰性 (+S9) (参照 5、11) [Ivett, 1985b]
<i>in vivo</i>	細胞遺伝学的試験	ICR マウス骨髄細胞	8.5~85 mg/mL 経口、急性又は亜慢性ばく露	陰性 (参照 5、11) [Ivett, 1985a]
	優性致死試験	H/a(ICR)BR マウス	0.5、1.5、5.0 g/kg 体重/日 5 日間連続強制経口投与	陰性 (参照 5、11) [Brusick & Myhr, 1986]

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15

ゼラノールについて、*in vitro* の Rec アッセイでは陽性の結果が得られたが、DNA 結合試験及び SOS-クロモ試験では陰性であり、*in vivo* の細胞遺伝学的試験でも陰性の結果が得られた。また、復帰突然変異試験、遺伝子突然変異試験、DNA 修復試験、姉妹染色分体交換試験及び小核試験のいずれも陰性であった。

食品安全委員会動物用医薬品専門委員会は、ゼラノールは生体にとって特段問題となる遺伝毒性はないと考えた。

ゼラノールの代謝物であるゼアララノン及びタレラノールについても各種遺伝毒性試験が実施され、ゼアララノンでは、いずれも陰性であった。タレラノールについては、*in vitro* の染色体異常試験で S9 非存在下では陽性であったが、S9 存在下では陰性であった。またしかし、遺伝子突然変異試験では明確な陽性結果が観察されず、*in vivo* の細胞遺伝学的試験及び優性致死試験でも陰性であった。[第 228 回](#)

食品安全委員会動物用医薬品専門委員会は、ゼアララノン及びタレラノールについても、生体にとって特段問題となる遺伝毒性はないと考えた。

【事務局より】 ※ゼラノール及びタレラノールの復帰突然変異試験 2 つ目 [\[Jagannath\]](#) について「±S9」の情報 JECFA 評価書 (参照 11) にのみ記載されていることから、参照には両評価書を記載していますが、菌株については、前回 (第 228 回) の議論も踏まえ、FDA 評価書 (参照 5) を基に 5 菌株を記載しています。他の箇所との並びで、JECFA 評価書に関する脚注は残した方がよいと考えますが、再度ご確認をお願いします。

16
17
18
19
20
21

4. 急性毒性試験

(1) 急性毒性試験 (マウス及びラット)

ゼラノールの急性毒性試験の結果を表 9 に示した。(参照 11) [\[FAS23, p. 8 \(IMC, 1980b\)\]](#)

表 9 ゼラノールの急性毒性試験結果

動物種	性別	投与経路	LD ₅₀ (g/kg 体重)
マウス	不明	経口	>40
	雌	腹腔内	4.4
ラット	不明	経口	>40
	雌	腹腔内	9~11

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25

(2) 急性毒性試験 (ラット)

ラット (系統不明、雌雄各 25 匹/群) に、ゼラノールを強制経口投与 (0 又は 200 mg/kg 体重) し、投与 24 時間後に検査された。

投与群の全例で血中 Glu が減少し、雄で T.Chol の上昇が、雌で低下がみられた。また、雄の精巣上体重量の減少及び雌の子宮重量の増加がみられた。(参照 11) [FAS23, p. 8 (Albany Medical Collage, 1980)]

5. 亜急性毒性試験

(1) 8 週間亜急性毒性試験 (マウス)

マウス (CD-1 系、雌雄各 10 匹/群) にゼラノールを 8 週間混餌投与 (0、1、5、25、50 又は 100ppm) し、亜急性毒性試験が実施された。

毒性所見を表 10 に示した。

試験期間中、死亡又は臨床的な影響は観察されなかった。体重、摂餌量又は飲水量では、投与群と対照群の間に有意差はみられなかった。剖検では、投与による変化は観察されなかった。

臓器重量では、雌雄の肝臓又は雄の精巣の絶対及び相対重量について、投与群と対照群の間に投与による差異は観察されなかった。(参照 11) [FAS23, p. 8 (Perry & Everett, 1984)]

食品安全委員会動物用医薬品専門調査会は、本試験において、雄では全投与群で投与による影響がみられず、雌では 25ppm 以上投与群で卵巣の絶対及び相対重量の減少がみられたことから、雄の NOAEL を最高用量の 100ppm (15 mg/kg 体重/日に相当¹⁶)、雌の NOAEL を 5ppm (0.75 mg/kg 体重/日に相当¹⁶) と設定した。

表 10 マウスを用いた 8 週間亜急性毒性試験における毒性所見

投与量 (ppm)	雄	雌
100	(100ppm 以下) 毒性所見なし	・子宮の絶対及び相対重量の増加
25 以上		・卵巣の絶対及び相対重量の減少
5 以下		毒性所見なし

26
27
28
29
30

(2) 4 日間亜急性毒性試験 (ラット) <参考資料¹⁷>

ラット (系統不明、雌雄各 30~35 匹/群) に、ゼラノールを 4 日間強制経口投与 (0 又は 200 mg/kg 体重/日) し、亜急性毒性試験が実施された。

T.Chol 及び Glu の低下並びに副腎重量の増加、雄の精巣、精囊及び精巣上体重量の減

¹⁶ JECFA で用いられている換算値 (IPCS : EHC240) を用いて摂取量を推定。

動物種	最終体重 (kg)	摂餌量 (g/動物/日)	摂餌量 (g/kg 体重/日)
Mouse	0.02	3	150

¹⁷ 試験に使用されたラットの系統が不明であり、投与量が 1 用量しか設定されていないことから、参考資料とした。

1 少、雌の子宮重量の増加がみられた。

2 病理組織学的検査では、卵巣に黄体が目立ってみられ、精細管には精祖細胞がみられ
3 たが、成熟した精子は含まれていなかった。リンパ組織には多くの大型多核細胞がみら
4 れた。(参照 11) [FAS23, p. 9 (Albany Medical College, 1980)]

5
6 (3) 6 週間亜急性毒性試験 (ラット) <参考資料¹⁸>

7 ラット (Manor Farm 系アルビノ、雌雄各 5 匹/群) にゼラノールを 6 週間強制経口
8 投与 (25、50、100、200 又は 400 mg/kg 体重/日、5 日/週) し、亜急性毒性試験が実施
9 された。対照群は設定されなかった。投与量を試験開始第 4 週から、100 mg/kg 体重/
10 日投与群では 800 mg/kg 体重/日に、200 mg/kg 体重/日投与群では 1,600 mg/kg 体重/
11 日に増量した。

12 全ての投与群で影響がみられ、外性器の変化 (雄における精巣の小型化及び雌におけ
13 る外陰部の腫脹増大[事務局 (島田章則専門委員へ御確認済)]) がみられた。

14 過敏性、無気力、脱毛、頻尿及び体重増加抑制もみられた。

15 病理組織学的検査では、精子形成の停止、前立腺、精囊及び凝固腺の萎縮、グラフ
16 卵胞の欠如、子宮内膜過形成、精囊の扁平上皮化生及び腎尿細管に石灰化円柱がみられ
17 た。(参照 11) [FAS23, p. 9 (IMC, 1980c)]

18
19 (4) 13 週間亜急性毒性試験 (ラット) ①<参考資料¹⁹>第 228 回

20 ラット (SD 系、雌雄各 20 匹/群) にゼラノールを 13 週間混餌投与 (0、0.02、0.18、
21 1.2 又は 8.8 mg/kg 体重/日に相当) し、亜急性毒性試験が実施された。病理組織学的検
22 査を 8.8 mg/kg 体重/日投与群及び対照群の雌雄各 10 匹の主要器官及び組織について実
23 施した。

24 毒性所見を表 11 に示した。

25 試験期間中に 6 例が死亡したが、投与によるものとは考えられなかった。

26 摂餌量は、対照群と比べて投与群で僅かな減少のみみられた。しかし、8.8 mg/kg 体
27 重/日投与群では、特に雄において、対照群に比べて顕著な体重増加抑制がみられた。

28 血液学的検査、臨床化学的検査又は尿検査のパラメータに、投与による変化はみられ
29 なかった。

30 臓器重量では、8.8 mg/kg 体重/日投与群の雌雄で肝臓の相対重量及び腎臓重量の軽度
31 の増加がみられた。

32 病理組織学的検査では、8.8 mg/kg 体重/日投与群の雌雄ともに、肝細胞内の脂肪蓄積
33 と同程度の、肝細胞の空胞化の発生頻度の増加がみられた。8.8 mg/kg 体重/日投与群の
34 雄で腎尿細管に石灰化円柱の有意な増加がみられた。

35 JECFA は、投与による影響は、1.2 mg/kg 体重/日投与群では意味のないもの (only
36 marginal) であり、~~→た。~~0.18 mg/kg 体重/日投与群では、投与による影響は観察され

18 対照群が設定されていないことから、参考資料とした。

19 毒性所見がみられた 8.8 mg/kg 体重/日投与群より下の投与群においては病理組織学的検査の実施の有無が不明であることから、参考資料とした。第 228 回

なかつたと判断した。(参照 11) [FAS23, p.8-9 (Everett et al., 1983)]

食品安全委員会動物用医薬品専門調査会は、本試験において、8.8 mg/kg 体重/日投与群で肝細胞内の脂肪蓄積、肝細胞の空胞化、腎尿細管における石灰化円柱の増加等がみられ、1.2 mg/kg 体重/日では投与による影響は意味のないもの (only marginal) であつたことから、NOAEL を 1.2 mg/kg 体重/日と設定した。

表 11 ~~ラットを用いた 13 週間亜急性毒性試験①~~における毒性所見

投与量 (mg/kg 体重/日)	雄	雌
8.8	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制 ・肝臓の相対重量、腎臓重量の軽度の増加 ・肝細胞内の脂肪蓄積、肝細胞の空胞化、腎尿細管における石灰化円柱 	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制 ・肝臓の相対重量、腎臓重量の軽度の増加 ・肝細胞内の脂肪蓄積、肝細胞の空胞化
1.2 以下	毒性所見なし*	毒性所見なし*

* JECFA は、1.2 mg/kg 体重/日投与群でみられた影響については、意味のないもの (only marginal) であるとした。(参照 11)

(5) 13 週間亜急性毒性試験 (ラット) ②<参考資料²⁰>

ラット (SD 系、体重約 80 g、雌雄各 20 匹/群) にゼラノールを 13 週間混餌投与 (0、0.025~8.575 mg/kg 体重/日で 4 用量) し、亜急性毒性試験が実施された。

毒性がない最高用量 (largest nontoxic dosage (NTEL)) は、0.175 mg/kg 体重/日であった。8.575 mg/kg 体重/日投与群では、雌雄において、体重増加抑制、肝機能試験の変化、肝臓の重量増加及び肝細胞の空胞化の増加がみられた。また、雄において、好中球数の減少及び腎臓の重量増加がみられた。(参照 5) [FDA; NADA_RALGRO®, 1989 p.3 A.1. (Everett et al., 1984)]

(6) 13 週間亜急性毒性試験 (ラット) ③<参考資料²¹>

ラット (系統及び匹数不明、雌雄) にゼラノールを 13 週間混餌投与 (0.25、1.25 又は 6.25 mg/kg 体重/日) し、亜急性毒性試験が実施された。

1.25 mg/kg 体重/日以上投与群において軽度の体重増加抑制が観察された。(参照 11) [FAS23, p.9 (Williams, 1982)]

(7) 26 週間亜急性毒性試験 (ラット) <参考資料²²>

ラット (系統及び匹数不明、雌雄) にゼラノールを 26 週間混餌²³投与 (0.1、0.8 又は 6.4 mg/kg 体重/日) し、亜急性毒性試験が実施された。

6.4 mg/kg 体重/日投与群において、雄で摂餌量の減少を伴う体重増加抑制及び Hb の

²⁰ 試験の詳細投が不明であることから、参考資料とした。第 228 回

²¹ 試験の詳細が不明であり、対照群が設定されていないことから、参考資料とした。第 228 回

²² 試験の詳細が不明であり、対照群が設定されていないことから、参考資料とした。第 228 回

²³ JECFA 評価書 (参照 11) では投与経路が確認できなかったが、参照 13 に基づいて記載した。事務局

1 低値傾向が、雌で肝細胞大小不同を含む軽度の肝臓の変化がみられた。(参照 11、13)
2 [FAS23, p. 9 (Williams, 1982)] [分科会報告]

4 (8) 6 週間亜急性毒性試験 (イヌ) <参考資料²⁴>

5 イヌ (雌雄各 1 匹/群) に、ゼラノールを 6 週間経口カプセル投与 (25、50、100、200
6 又は 400 mg/kg 体重/日、5 日/週) し、亜急性毒性試験が実施された。対照群は設定さ
7 れなかった。投与量を投与開始第 4 週から、100 mg/kg 体重/日投与群では 800 mg/kg
8 体重/日に (以下「100/800 mg/kg 体重/日」という。)、また、200 mg/kg 体重/日投与群
9 では 1,600 mg/kg 体重/日に増量した (以下「200/1,600 mg/kg 体重/日」という。)

10 投与第 2 週の初めに、雌の全例に外陰部の腫脹がみられた。また、雄の全例には精巢
11 の小型化がみられた。

12 血液学的検査では、100/800 mg/kg 体重/日以上投与群で、雌雄ともに WBC の軽度か
13 ら高度の増加及びリンパ球の相対的な減少が示された。

14 血液生化学的検査では、200/1,600 mg/kg 体重/日投与群で、Hb 及び Ht の軽度の減
15 少並びに赤血球沈降速度の増加がみられた。

16 病理組織学的検査では、複数の全投与群で、雌雄ともに乳管増殖がみられ、雌では膺
17 上皮の角化を伴う外陰部の腫脹及び卵巣萎縮がみられた。また、雄では精上皮及び前立
18 腺の萎縮並びに尿道前立腺部の過形成又は扁平上皮化生がみられた。400 mg/kg 体重/
19 日以上投与群では、骨髄細胞密度及び M/E (骨髄球系/赤芽球系) 比の上昇がみられた。

20 (参照 11) [FAS23, p. 9-10 (Williams, 1982)] 第 228 回

22 (9) 14 週間亜急性毒性試験 (イヌ) <参考資料²⁵>

23 イヌ (匹数不明、雌雄) に、ゼラノールを 14 週間経口カプセル投与 (0.25、1.25 又
24 は 6.25 mg/kg 体重/日) し、亜急性毒性試験が実施された。0.25 mg/kg 体重/日投与群
25 では、投与開始 31 日以降、投与量を 12.5 mg/kg 体重/日に増量した (以下「0.25/12.5
26 mg/kg 体重/日」という。)

27 雄の生殖器の小型化傾向及び子宮重量の増加傾向がみられた。

28 病理組織学的検査では、0.25/12.5 mg/kg 体重/日投与群の雄 1 例で、精子形成の停止
29 及び前立腺上皮の萎縮がみられた。(参照 11) [FAS23, p. 10 (Williams, 1982)]

31 (10) 29 週間亜急性毒性試験 (イヌ) <参考資料²⁶>

32 イヌ (匹数不明、雌雄) に、ゼラノールを 29 週間混餌投与 (10、100 又は 1,000ppm)
33 し、亜急性毒性試験が実施された。

34 1,000ppm 投与群では、雄 1 例に体重減少並びに雄 3 例に急速な赤血球沈降速度、Hb
35 の減少、WBC の増加及びリンパ球の減少がみられた。

36 病理組織学的検査では、1,000ppm 投与群において、精巢の萎縮、前立腺の扁平上皮

²⁴ 1 群当たりの匹数が少なく、対照群が設定されていないこと等から、参考資料とした。

²⁵ 試験に使用された匹数が不明であり、対照群が設定されていないこと等から、参考資料とした。

²⁶ 試験に使用された匹数が不明であり、対照群が設定されていないこと等から、参考資料とした。

1 化生、子宮内膜過形成及び卵巣萎縮がみられた。骨髓細胞密度増加及び膀胱粘膜の軽度
2 の扁平上皮化生もみられた。(参照 11) [FAS23, p.10 (Williams, 1982)]

3
4 (1 1) 皮下投与による亜急性毒性試験 <参考資料²⁷>

5 ① 14 日間亜急性毒性試験 (ラット)

6 ラット (SD 系、雌雄、匹数不明) にゼラノールを 14 日間皮下投与 (0、2.25 又は 9.0
7 mg/kg 体重/日) し、亜急性毒性試験が実施された。

8 投与群では体重増加抑制がみられた。雄では、精巣、前立腺及び胸腺の相対重量が減
9 少し、精嚢及び副腎の相対重量は増加した。雌では、卵巣及び胸腺の相対重量が減少し、
10 子宮及び副腎の相対重量が増加した。黄体数の有意な減少もみられた。(参照 11) [FAS23,
11 p.9 (IMC, 1980d)]

12
13 ② 150 日間亜急性毒性試験 (ラット)

14 幼若ラット (系統不明、雌 20 匹) にゼラノールのペレットを皮下移植投与 (12 mg/
15 匹) し、投与 150 日後に検討された。対照群として 5 匹を用いた。

16 体重増加抑制、卵巣嚢胞、乳腺及び体の他の部位の減少、卵巣及び子宮重量の減少、
17 黄体の欠如並びに子宮粘膜の高度な扁平上皮化生がみられた。(参照 11) [FAS23, p.9 (Huis
18 in' t & Kroes, 1974)]

19
20 6. 慢性毒性及び発がん性試験

21 (1) 104 週間慢性毒性/発がん性併合試験 (マウス)

22 マウス (CD1 系、雌雄各 50 匹/群) にゼラノールを 104 週間混餌投与 (0 (陰性対照)、
23 0.15、1.5 及び 15ppm) し、慢性毒性/発がん性併合試験が実施された。なお、陽性対照
24 群として、別のマウス (CD1 系、雌雄各 50 匹/群) にエストラジオール-17β を 104 週
25 間混餌投与 (2.5ppm) した。

26 病理組織学的検査を、試験期間中に死亡した全動物、陰性対照群、15ppm 投与群及び
27 陽性対照群の全動物に対し実施し、他の全動物に対しては部分的病理組織学的検査 (対
28 象器官・組織：副腎、腎臓、肝臓、肺、乳腺、子宮、膣、子宮頸部、前立腺、精嚢、精
29 巣、下垂体、皮膚及び肉眼的に観察された全ての腫瘍 (masses)) を実施した。

30 毒性所見を表 112 に示した。

31 死亡率は、投与群では陰性対照群に比べ僅かに高かったが、陽性対照群では明らかに
32 上昇し、特に雌で顕著であった。

33 体重は、投与群の雄で投与開始 52 週後まで陰性対照群に比べてやや低値であったが、
34 この影響は続く次の 52 週間において明確ではなかった。一方、陽性対照群の雄では試
35 験期間を通じて有意な体重の低値を示した。また、投与群の雌では陰性対照群と同様の
36 体重増加を示した。

37 摂餌量は、投与群の雌雄及び陽性対照群の雄は陰性対照群と同様であったが、陽性対
38 照群の雌では投与開始 80 週以降は陰性対照群に比べて多かった。

²⁷ 皮下投与で実施されていることから、参考資料とした。

1 血液学的検査では、投与群に試験期間を通じてパラメータの僅かな変化がみられた。
 2 陽性対照群では、雄で Hb 及び RBC が減少し、雌で白血球分画パターンの変化
 3 (differential white blood cell patterns) がみられた。

4 剖検では、15ppm 投与群で有意な変化が散見され、雄では下垂体の大型化増大腫大
 5 (pituitary enlargement) 及び精囊の拡張 (dilation) が、雌では脱毛症の発生頻度の
 6 増加がみられた。これらの所見の発生頻度は、陽性対照群において顕著に増加した。島
 7 田章則専門委員、事務局 (島田章則専門委員へ御確認済)

8 病理組織学的検査では、15ppm 投与群の雌雄に副腎の褐色変性 (brown degeneration)
 9 が、雄に顎下腺の雌型への転換 (conversion of the submaxillary salivary glands to the
 10 female type)、胸骨の骨梁形成 (trabeculation) 及び精囊の拡張 (dilation) がみられた。
 11 これらのエストロゲン様作用は、陽性対照群における作用と比較して非常に穏やかであ
 12 った。1.5ppm 投与群ではみられなかったが、0.15ppm 投与群では、雌の二次卵胞が欠
 13 如し黄体を伴う卵巣 (ovaries with corpora lutea present and no secondary follicles)
 14 及び雄の精囊の拡張 (dilatation ※ここより前は dilation) の発生頻度が、対照群と比
 15 較して有意に減少した。しかしながら、これらの作用は、(1) 卵巣に観察された変化対す
 16 る作用青山専門委員に用量依存性がなく、(2) 精囊の拡張 (dilatation) は老齢動物におい
 17 て一般的によくみられるものであり、また、投与群の動物における発生頻度の低さはお
 18 そらく、投与群の陰性対照群の平均生存期間がより長かったことと比較してより長い平
 19 均生存期間によるものと考えられることから、真のホルモン作用とはみなされなかった。

20 小川専門委員 15ppm 投与群で観察された他の有意な影響は、雌における子宮頸管及び膣
 21 上皮の粘液産生 (mucous cervical and vaginal epithelium) の増加 (15ppm 投与群：
 22 陰性対照群：陽性対照群=20/46：10/48：0/47) 並びに雄における副腎の被膜下細胞過
 23 形成 (subcapsular hyperplasia) の増加 (15ppm 投与群：陰性対照群=30/49：16/50)
 24 であった。

25 本試験におけるゼラノールの腫瘍原性作用 (tumourogenic effect) は、15ppm 群にお
 26 ける雄の下垂体のみでみられた。本試験でみ認められた下垂体前葉腺腫 (anterior lobe
 27 adenomas) 並びに前葉における過形成及び腫瘍 (hyperplasia plus tumours in the
 28 anterior lobe) の発生頻度を表 123 に示した。

29 これらの腫瘍がマウスで自然発生するのは稀である。しかしながら、Gardner (1941、
 30 1948) は、下垂体の腫瘍性変化 (neoplasia) はある系統のマウスへのエストロゲン投
 31 与と関連があり、エストロゲン様ホルモンの投与の結果生じたホルモンバランスの不
 32 均衡が崩れたことと関連があると考えられることを報告している。青山専門委員

33 陽性対照群では、投与群よりも高度なエストロゲン様作用が観察された。これらの作
 34 用には、副腎における褐色変性 (brown degeneration)、胸骨における骨梁形成
 35 (trabeculation) の増加、雄の顎下腺の雌型への変換 (conversion of male submaxillary
 36 salivary glands to the female type)、精囊の収縮 (shrinkage)、卵巣における二次卵胞
 37 及び黄体の欠乏 (scarcity)、子宮の炎症、子宮内膜症及び硝子化 (hyalinization)、子宮
 38 頸部腺症 (cervical adenosis)、膣上皮の角化 (vaginal epithelial keratinization) 並び
 39 に乳腺の発達が含まれていた。陽性対照群の腫瘍原性作用 (tumourogenic effect) には、
 40 雄における下垂体前葉腺腫 (anterior lobe tumours of the pituitary gland) 及び精巣間

1 細胞腫 (testicular interstitial cell tumours)、並びに雌における転移性腺癌
 2 (metastasizing adenocarcinomas) を伴う乳腺癌 (mammary gland carcinomas) が
 3 含まれていた。(参照 5、11) [FDA; NADA_RALGRO®, 1989 p.14-15 C.2.b. (Everett et al.,
 4 1987)] [FAS23, p.1-2 (Everett et al., 1987a)]

5
 6 JECFA は、15ppm 投与群の雄において、エストロゲン様作用がみられるとともに、
 7 エストロゲン様ホルモンの投与の結果生じることが知られている下垂体前葉腺腫
 8 (anterior lobe adenomas) の発生率が高かったことから、ゼラノールの発がん作用
 9 (carcinogenic effect) はエストロゲン様作用と関連しており、腫瘍発生に対するに関連
 10 したホルモン作用としての無作用量 (no-hormonal-effect level for tumours) を決定す
 11 ることによって、ばく露の安全レベル (safe levels of exposure) を推定することが可能
 12 であると結論付けた。青山専門委員なお、本試験において、NOAEL 等を設定していない。
 13 (参照 11) [FAS23, p.12-13 COMMENTS]

14
 15 FDA は、15ppm 投与群の雄において下垂体前葉腺腫 (anterior lobe pituitary
 16 adenomas) を含むエストロゲン様作用による病理組織学的変化がみられたが、15ppm
 17 投与群ではホルモン作用以外の統計的に有意な変化はみられなかったとした。また、0.15
 18 及び 1.5ppm 投与群の雌では黄体を伴う卵巣 (ovarian corpora lutea) の発生頻度のが
 19 増加にしたが、一貫性があるものではなく、また、雄におけるでは精囊の拡張 (dilatation)
 20 の発生頻度低下はがみられたが、~~老齢動物において一般的なものであっており、~~対照群の
 21 ~~動物の~~生存期間が延長したことが影響していると考えられることから、15ppm を下回
 22 る濃度では、ゼラノールのホルモン作用はみられなかったとした。小川専門委員、青山專
 23 門委員

24 FDA は、本試験において、ゼラノールの混餌投与により、ゼラノールがホルモン活性
 25 に起因する以外の統計的に有意な (significant) 影響を有するという証拠は得られず、
 26 ~~また、~~15ppm を下回る濃度でゼラノールのホルモン作用がみられるという証拠もは得ら
 27 れなかったことから、本試験における NOEL を 1.5ppm (約 0.225 mg/kg 体重/日) と
 28 設定した。青山専門委員 (参照 5) [FDA; NADA_RALGRO®, 1989 p.14-15 C.2.b. (Everett et al.,
 29 1987)]

30
 31 食品安全委員会動物用医薬品専門調査会は、本試験において、15ppm 投与群の雄で副
 32 腎の被膜下細胞過形成 (subcapsular hyperplasia) の増加等、雌で子宮頸管及び膈上皮
 33 の粘液産生 (mucous cervical and vaginal epithelium) の増加等がみられたことから、
 34 NOAEL を 1.5ppm (0.23 mg/kg 体重/日に相当²⁸) と設定した。~~本試験における発がん
 35 性は、~~15ppm 投与群の雄にみられたの下下垂体前葉腺腫の発生頻度の上昇は、発がん性を

²⁸ JECFA で用いられている換算値 (IPCS : EHC240) を用いて摂取量を推定。

動物種	最終体重 (kg)	摂餌量 (g/動物/日)	摂餌量 (g/kg 体重/日)
Mouse	0.02	3	150

示唆するものと判断したのみでみられた。青山専門委員

表 112 マウスを用いた 104 週間慢性毒性/発がん性併合試験における
毒性所見 (非腫瘍性病変)

投与量 (ppm)	雄	雌
15	<ul style="list-style-type: none"> 下垂体の大型化増大腫大、精嚢の拡張 副腎の褐色変性、顎下腺の雌型への転換、胸骨の骨梁形成 副腎の被膜下細胞過形成の増加 	<ul style="list-style-type: none"> 脱毛症 副腎の褐色変性 子宮頸管及び膈上皮の粘液産生の増加
1.5 以下	毒性所見なし	毒性所見なし

表 123 マウスを用いた 104 週間慢性毒性/発がん性併合試験における
下垂体前葉腺腫並びに前葉の過形成及び腫瘍の発生頻度 (雄) 事務局

所見	陰性対照	ゼラノール混餌濃度 (ppm)			陽性対照
		0.15	1.5	15	
下垂体前葉腺腫	1	0	0	8	28
前葉における過形成+腫瘍	1	2	2	12	33

n=50+100 陽性対照：エストラジオール-17β を混餌投与 (2.5ppm)

【事務局より】

- ① Report No.等から、JECFA と FDA の評価書 (参照 5、11) は、同一の試験の評価を記載していると判断しています。試験の概要は、主に JECFA 評価書の内容を基に記載していますが、FDA 評価書とは一部異なる点 (「黄体を伴う卵巣 (ovarian corpora lutea) の発生頻度」について、JECFA 評価書では「0.15ppm 投与群で有意に減少」、FDA 評価書では「0.15 及び又は 1.5ppm 投与群で増加」) がありますので、記載が妥当か、ご確認をお願いします。
- ② 事務局案として、表 12 に記載のとおり投与期間中にみられなくなった所見等を毒性所見から外し、NOAEL を 1.5ppm (0.225 mg/kg 体重/日に相当) と設定しました。
なお、FDA は、15ppm でホルモン作用 (下垂体前葉腺腫等) 以外の影響がみられず、15ppm を下回る濃度ではホルモン作用がみられなかったことから、NOEL を 1.5ppm (約 0.225 mg/kg 体重/日) としています。ご確認をお願いします。
- ③ NOAEL の根拠とした所見については「雄で副腎の被膜下細胞過形成の増加等、雌で子宮頸管及び膈上皮の粘液産生の増加等」とまとめているのですが、特記する内容について、ご確認をお願いします。
- ④ 表の記載については、以下のとおりとしています。併せてご確認をお願いします。
 - ・死亡率については、投与群で陰性対照群に比べ僅かに高かったとされたが詳細は不明であり、毒性所見として記載せず。
 - ・体重については、雄の投与群で陰性対照群に比べてやや低値であったが投与後半で明確でなくなったため、毒性所見として記載せず。
 - ・血液学的検査については、投与群でパラメータの僅かな変化があったとされたが詳細は不明であり、毒性所見として記載せず。
 - ・0.15ppm 投与群でみられた「雌の二次卵胞が欠如し黄体を伴う卵巣及び雄の精嚢拡張の発生頻度の減少」については、資料に記載のとおり用量依存性がなく老齢動物によくみられるものであることから、毒性所見として記載せず。一方、雄の精嚢拡張 (の発生増加) については

15ppm 投与群の所見として記載。

- ⑤ NOAEL の値については、IPCS : EHC240 の Mouse の値を用いて換算しています。ご確認をお願いします。

なお、JECFA 及び FDA 評価書 (参照 5、11) においても同じ換算値が使われています (FDA p.15 「1.5ppm in the diet (approximately 0.225 mg zeranol/kg body weight/day)」、JECFA p.13 「15ppm in the diet (equivalent to 2.25 mg/kg b.w./day)」)。

【小川専門委員】

- ① (「黄体を伴う卵巣の発生頻度」について)「黄体を伴う卵巣の発生頻度の増加に一貫性がなく、」と考えます。いずれにしても、15ppm での記載が無く、投与によるホルモンの影響としての評価が困難と考えます。
- ② ④にありますように、詳細が不明ですが、投与群の死亡率の増加、52 週までの雄の体重増加抑制をどのように考えるか、議論が必要と考えます。

【島田章則専門委員】

- ① (JECFA 評価書では) ホルモン作用としては判定していない (加齢性変化等?)。
(FDA 評価書では) 一定した変化ではなく誤差の範囲、所見とはとらえない。
- ② 確認しました。
- ・ 「enlargement」は「増大」(腫大 : swelling) → 「enlargement」を「大型化」と訳すことについて御確認済み (事務局)

【寺岡専門委員】

- ① 再現性がないということを行っているのではないのでしょうか?
同一試験について異なる記述と思われる以上は記載すべきでないと思います。
- ② (NOAEL 案について) 事務局案に賛成いたします。

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16

(2) 1 年間慢性毒性試験 (ラット) <参考資料²⁹⁾>

ラット (系統不明、雌雄各 25~35 匹/群) に、ゼラノールを 1 年間混餌投与 (0、0.1、0.8 又は 6.4 mg/kg 体重/日) し、慢性毒性試験が実施された。0.1 mg/kg 体重/日投与群では、試験開始第 36 週から、投与量を 20 mg/kg 体重/日に増量した (以下「0.1/20 mg/kg 体重/日」という。)

全ての投与群で体重増加抑制がみられた。0.1/20 mg/kg 体重/日投与群では、Hb の減少、血小板数の増加、プロトロンビン時間の延長、前立腺、卵巣及び精嚢の絶対及び相対重量の減少並びに子宮及び脳下垂体の絶対及び相対重量の増加がみられた。肝細胞グリコーゲン枯渇 (hepatic cell glycogen depletion) 及び肝細胞大小不同 (irregularity in hepatic cell size) は雄のみで観察された。この群では、ネフロンの変性変化 (nephron degenerative changes)、卵巣、精嚢及び前立腺の軽度~中程度の萎縮、成熟精子数の軽度の減少、骨髄細胞密度減少 (hypocellularity of the bone marrow) の事例もみられた。本試験期間中の死亡動物の肝臓には著しい退行性変化 (degenerative changes) がみられた。(参照 11) [FAS23, p. 10 (Williams, 1982)]

【事務局より】

事務局案として、試験に使用されたラットの系統が不明であり、投与期間中に用量が変更されたために実際の投与量が不明であることから、参考資料としました。本試験の取扱いについて、ご

²⁹⁾ 試験に使用されたラットの系統が不明であり、投与期間中に用量が変更されたために実際の投与量が不明であることから、参考資料とした。

確認をお願いします。

【小川専門委員】

下垂体の病理組織所見等が不明瞭で、NOAEL の設定は困難であり、参考資料とすることに異存ありませんが、全ての投与群で体重増加抑制が見られていることも考慮が必要かもしれません。

【島田章則専門委員】確認しました。

【寺岡専門委員】参考資料でよいと思います。

FDA が ADI を設定する根拠となった試験

(3) 104 週間慢性毒性/発がん性併合試験 (ラット)

ラット (SD 系、雌雄各 50 匹/群) にゼラノールを 104 週間混餌投与 (0 (陰性対照)、0.25、2.5 又は 25ppm) し、慢性毒性/発がん性併合試験が実施された。なお、混餌投与陽性対照群として、別に 2 群 (雌雄各 25 匹/群) を設定し、エストラジオール-17β を 104 週間混餌投与 (2.5ppm)、又は試験開始 8 週後まで 25ppm、毒性が発現したためそれ以降は 2.5ppm に減量して混餌投与した。さらに、別の 1 群 (雌 25 匹) を移植投与陽性対照群として設定し、試験開始時にエストラジオール-17β を皮下移植投与 (約 15 mg/匹) した。

血液学的検査、臨床化学的検査及び尿検査を投与開始 103 週後に各群雌雄各 15 匹に実施した。投与 104 週 (最終投与) 後には全生存動物を剖検に用いた。病理組織学的検査を、陰性対照群、25ppm 投与群及び陽性対照群の全動物に実施し、他の全動物に対しては部分的病理組織学検査 (対象器官・組織: 副腎、子宮頸部、卵巣、下垂体、前立腺、精囊、精巣、皮膚、腎臓、肝臓、肺、乳腺及び腫瘍 (masses)) を実施した。試験期間中の死亡動物は剖検し、病理組織学的検査を実施した。

毒性所見を表 134 に示した。

生存率は、陰性対照群と投与群では同様であった。混餌投与陽性対照群では、投与群より低かったが、死亡例の大部分は投与開始 80 週以降に生じた。移植投与陽性対照群では、死亡例は投与開始 20 週以降に生じ、試験 44 週において生存例はなかった。投与群において共通の死亡原因は示されなかったが、陽性対照群では陰性対照群に比べて大型化増大腫大化した下垂体 (enlarged pituitaries) の発生がより高頻度であった。島田

章則専門委員、事務局 (島田章則専門委員へ御確認済)

体重は、25ppm 投与群の雄で投与開始 52 週後まで陰性対照群に比較して軽度の増加抑制がみられたが、その後の試験期間においては陰性対照群と同程度となった。0.25ppm 投与群の雄並びに 0.25 及び 2.5ppm 投与群の雌において、軽度の減少がみられた。25ppm 投与群の雌では、減少が観察された投与開始後最初の 90 日間を除き、陰性対照群と同程度の増加量を示した。一方、陽性対照群では顕著な減少を示し、移植投与陽性対照群の雌で最大の減少がみられた。

摂餌量は、陰性対照群と投与群とで同様であった。陽性対照群で多少の減少がみられた。

血液学的検査では、0.25ppm 投与群の雌で赤血球パラメータ (Hb、RBC 及び Ht (packed cell volume)) 及び WBC が陰性対照群と比較して統計的に有意に増加したが事務局 (以下同様)、他の全ての投与群では陰性対照群と同様の結果が得られ、有意な用量

1 依存性はみられなかった。混餌投与陽性対照群の雌では WBC の増加を示し、移植投与
2 陽性対照群では赤血球パラメータの減少及び好中球数の増加を示した。

3 臨床化学的検査及び尿検査では、群間の有意な差はみられなかった。

4 臓器重量では、投与群の雄と陰性対照群の雄との間に有意差はみられなかった。

5 25ppm 投与群の雌の子宮重量は見かけ上明らかに (apparent) 増加したが、この群の卵
6 巣重量には大きなばらつきがあったため小川専門委員、統計的な有意差はみられなかった。
7 混餌投与陽性対照群では、陰性対照群と比較して、雄の腎臓重量の有意な減少及び雌の
8 卵巣の絶対重量の減少がみられた。

【小川専門委員】

(「統計的な有意差」の記載について) こちらは卵巣重量に係ると考えました。

9
10 病理組織学的検査では、投与群に投与による腫瘍の増加はみられなかった。雌の非腫
11 瘍性病変として、25ppm 投与群で子宮の拡張 (dilatation) の増加及び黄体嚢胞 (luteal
12 cysts) の減少が、2.5ppm 以上投与群で子宮頸部の重層扁平上皮細胞 (stratified
13 squamous epithelial cells) の増加がみられた。2.5ppm 投与群では、乳腺過形成
14 (mammary hyperplasia) の増加がみられたが、年齢補正分析を実施すると統計的に有
15 意ではなかった。0.25ppm 投与群の雌では、陰性対照群に比べて腎尿細管上皮のヘモジ
16 デリン沈着症 (kidney tubular epithelial haemosiderosis) がより高頻度にみられたが、
17 投与による影響とは考えられなかった。

18 また、陽性対照群の雌の全例で、卵巣、子宮 (扁平上皮化生 (squamous metaplasia)
19 及び上皮の異形成 (epithelial dysplasia) を含む)、膣及び子宮頸部並びに乳腺で高度な
20 エストロゲン様作用を呈した。投与による影響は脾臓、胸骨、胃、腎臓及び肺でも報告
21 された。陽性対照群の雄では、投与による影響は肝臓、膵臓、乳腺、心臓、精巣、腎臓
22 及び脾臓で観察された。移植投与陽性対照群における病理組織学的変化は、混餌投与陽
23 性対照群における変化より重篤であった。移植投与陽性対照群の動物では、陰性対照群
24 に比べて下垂体腺腫 (pituitary adenomas) (タイプ 3) の明らかな増加がみられた。(参
25 照 5、11) [FDA; NADA_RALGRO®, 1989 p. 12-13 C. 2. a. (Everett et al., 1987)] [FAS23, p. 2-3
26 (Everett et al., 1987b)]

27
28 FDA は、本試験において、ゼラノールの混餌投与により、腫瘍性変化 (neoplastic
29 change) の証拠及び毒性の明確な証拠は得られなかったとした。また、エストロゲン様
30 作用については 25ppm 投与群の雌には顕著なエストロゲン様作用がみられたものの、
31 2.5ppm 投与群の雌にみられた変化は意味のないものでは境界領域の変化 (marginal)
32 であったことから、本試験における NOEL を 2.5ppm (約 0.125 mg/kg 体重/日) と設
33 定し、本試験の結果を基に ADI を設定した。青山専門委員、事務局 (参照 5) [FDA; NADA_RALGRO®,
34 1989 p. 12-13 C. 2. a. (Everett et al., 1987)]

35
36 食品安全委員会動物用医薬品専門調査会は、本試験において、雄では全投与群で投与
37 による影響がみられず、雌の 2.5ppm 投与群でみられたエストロゲン様作用は境界領域
38 の変化 (marginal) であり、25ppm 投与群で子宮の拡張及び黄体嚢胞の減少がみられた

1 ことから、雄に対する~~の~~NOAEL を最高用量の 25ppm (1.3 mg/kg 体重/日に相当³⁰)、
 2 雌に対する~~の~~NOAEL を 2.5ppm (0.13 mg/kg 体重/日に相当³⁰) と設定した。発がん性
 3 はみられなかった。【青山専門委員】

4
 5 表 134 ラットを用いた 104 週間慢性毒性/発がん性併合試験における
 6 毒性所見 (非腫瘍性病変)

投与量 (ppm)	雄	雌
25	(25ppm 以下)	・子宮の拡張、黄体嚢胞の減少
2.5 以下	毒性所見なし	毒性所見なし ^a

7 ^a: FDA は、2.5ppm 投与群の雌でみられた影響については、意味のないもの境界領域の変化
 8 (marginal) であるとした。【事務局】(参照 5) [FDA: NADA_RALGRO®, 1989 p.13]

9 【事務局より】

- ① Report No.等から、JECFA と FDA の評価書 (参照 5、11) は、同一の試験の評価を記載している
と判断しています。試験の概要は、JECFA 評価書の記載をベースに FDA 評価書の内容を記載
していますが、一部異なる点 (FDA 評価書にのみ「Ht (packed cell volume) 増加」「黄体嚢胞
の減少」の記述あり) がありますので、記載が妥当か、ご確認をお願いします。
- ② 事務局案として、表 14 に記載のとおり用量依存性が認められない所見や統計学的有意差が
ないとされた所見を毒性所見から外し、2.5ppm 投与群の雌におけるエストロゲン様作用は意味
のないもの境界領域の変化 (marginal) であったことから雌の NOAEL を 2.5ppm と設定し
ました。ご確認をお願いします。
- ③ 表の記載は、以下のとおりとしています。併せてご確認をお願いします。
 - ・体重増加抑制は、雌雄ともに 25ppm 投与群で一貫性が認められず、雄では用量依存性もない
ため、毒性所見として記載せず。
 - ・0.25ppm 投与群の雌でみられた血液学的検査の所見 (Hb,RBC,Ht,WBC の増加) は、2.5ppm
以上投与群の雌では認められなかったことから、毒性所見として記載せず。
- ④ NOAEL の値については、IPCS : EHC240 の Rat(old)の値を用いて換算しています。なお、
FDA 評価書 (参照 5) においても同じ換算値が使われています。ご確認をお願いします。

【小川専門委員】

(③の体重増加抑制について) それぞれ 52 週まで 90 日までではありますが、25ppm では有意な
体重増加抑制について検討が必要と考えます。

【島田章則専門委員】(①について) 確認しました。

【寺岡専門委員】

- ① 原著で確認できないとすれば、矛盾している箇所は記載すべきではないと思います。
- ② バックグランドとの差がなかったということだと思います。有意差がないわけですので、境界
領域といえますか、そもそも影響がないとみるべきです。ご提案どおりの NOAEL に賛成で
す。

10

³⁰ JECFA で用いられている換算値 (IPCS : EHC240) を用いて摂取量を推定。

動物種	最終体重 (kg)	摂餌量 (g/動物/日)	摂餌量 (g/kg 体重/日)
Rat(old)	0.40	20	50

1 (4) 104~105 週間慢性毒性試験 (ラット) <参考資料³¹>

2 ラット (CD 系、雌雄各 25 匹/群) に、ゼラノールを 104~105 週間混餌投与 (0、0.1、
3 0.8 又は 6.4 mg/kg 体重/日) し、慢性毒性試験が実施された。0.1 mg/kg 体重/日投与群
4 では、試験開始第 28 週から投与量を 20 mg/kg 体重/日に増量した (以下「0.1/20 mg/kg
5 体重/日」という。)

6 6.4 及び 0.1/20 mg/kg 体重/日投与群の全例で体重増加抑制がみられた。また、6.4 及
7 び 0.1/20 mg/kg 体重/日投与群で極めて高頻度で脱毛がみられ、6.4 mg/kg 体重/日投与
8 群の 1 例及び 0.1/20 mg/kg 体重/日投与群の 4 例では、試験の最終四半期中に白内障
9 (cataracts) が発現した。

10 血液学的検査では、0.1/20 mg/kg 体重/日投与群で Hb 及び Ht が減少し、この変化は
11 雄よりも雌で顕著であった。

12 臓器重量では、0.1/20 mg/kg 体重/日投与群で、精囊、精巣、卵巣及び前立腺の絶対重
13 量がより低値であった。剖検におけるこれらの所見は老齢動物で一般的にみられるもの
14 であった。

15 病理組織学的検査では、投与群の全例で、肝臓、卵巣、子宮、精巣、前立腺及び精囊
16 に変化がみられた。肝臓における変化には、肝細胞の減少 (hepatic cell depletion)、肝
17 細胞大小不同 (irregularity in hepatic cell size)、実質細胞の空胞化 (parenchymal cell
18 vacuolation)、慢性炎症性細胞浸潤及び低頻度に見られる結節性過形成 (occasional
19 instances of nodular hyperplasia) が含まれた。卵巣、前立腺、精囊及び精巣では、軽
20 度~中程度の萎縮がみ認められた。子宮では、子宮内膜炎 (endometritis)、扁平上皮化
21 生 (squamous metaplasia) 及び子宮内膜の嚢胞性過形成 (cystic hyperplasia) がみら
22 れた。(参照 11) [FAS23, p.10-11 (Woodard, 1968)]
23

【事務局より】

- ① 事務局案として、投与期間中に用量が変更されたために実際の投与量が不明であることから、参考資料としました。本試験の取扱いについて、ご確認をお願いします。
- ② 極めて高頻度で脱毛がみられた「in the two highest dose groups」については、直前に記載がある体重増加抑制がみられた投与群と同様、「6.4 及び 0.1/20 mg/kg 体重/日投与群」と判断しています。ご確認をお願いします。

【小川専門委員】

- ① 参考資料としても異存ありませんが、病理所見が投与群の全例で見られているとあり、統計的な詳細が不明です。
- ② 確認しました。

【島田章則専門委員】(②について) 確認しました。

【寺岡専門委員】

- ① 参考資料でよいと思います。
- ② ご判断に賛成です。

【青山専門委員】

- ① JECFA/FDA はこの試験を評価に用いていないのでしょうか？
病理組織学的検査では全投与群の雌雄全例に異常が観察されていることから、NOAEL が得

³¹ 投与期間中に用量が変更されたために実際の投与量が不明であることから、参考資料とした。

られなかったとして「LOAEL を 0.8 mg/kg/日」と判断することも可能と思います。ADI を設定する上で (4) の結果と矛盾もありませんので、参考資料にするか否かについて議論が必要と考えます。
→事務局案に同意いたします。

1
2 (5) 1年間慢性毒性試験 (イヌ) <参考資料³²>

3 イヌ (匹数不明、雌雄) に、ゼラノールを 1年間混餌投与 (0.025、2.5 又は 25 mg/kg
4 体重/日) し、慢性毒性試験が実施された。

5 2.5 mg/kg 体重/日投与群において、軽度の精巣の萎縮、中等度の前立腺の萎縮及び扁
6 平上皮化生 (squamous metaplasia) がみ認められた。25 mg/kg 体重/日投与群でみら
7 れた投与による変化は、血小板の増加、リンパ球の減少、急速な赤血球沈降速度 (rapid
8 sedimentation rates)、WBC の増加及び膀胱上皮の高度の角化 (cornification) が含まれ
9 ていた。試験終了時の剖検及び病理組織学的検査では、25 mg/kg 体重/日投与群におい
10 て、生殖腺の高度の萎縮、前立腺及び子宮における扁平上皮化生 (squamous metaplasia)
11 及び炎症性変化、膀胱上皮 (urinary bladder epithelium) の扁平上皮化生 (squamous
12 metaplasia)、骨髄における骨髄細胞 (myeloid elements) の明らかな増加及び子宮内膜
13 過形成 (endometrial hyperplasia) であった。(参照 11) [FAS23, p.11 (Williams, 1982)]
14

15 【事務局より】

事務局案として、試験に使用された匹数が不明であり、対照群が設定されていないこと等から、
参考資料としました。本試験の取扱いについて、ご確認をお願いします。

【小川専門委員】参考資料として異存ありません。

【島田章則専門委員】確認しました。

【寺岡専門委員】参考資料でよいと思います。

16 (6) 104週間慢性毒性試験 (イヌ)

17 イヌ (ビーグル種、雌雄各 4 匹/群) にゼラノールを 104週間混餌投与 (0、1、100 又
18 は 1,000ppm) し、慢性毒性試験が実施された。

19 毒性所見を表 145 に示した。

20 体重は、全ての投与群の雄で、対照群に比べて軽度に高値を示した。

21 観察された変化の大部分は、1,000ppm 投与群でみられた。血液学的検査では、急速
22 な赤血球沈降速度 (rapid sedimentation rates)、WBC の増加及びリンパ球の減少がみ
23 られた。

24 臓器重量については、1,000ppm 投与群において、雄に前立腺及び下垂体の相対重
25 量の増加並びに生殖腺の相対重量の減少が、雌に子宮の相対重量の増加がみられ、雌雄
26 ともに肝臓、腎臓、副腎及び甲状腺の相対重量の増加がみられた。[青山専門委員]

27 剖検では、1,000ppm 投与群において、~~乳腺の大型化増大腫大 (enlarged...)~~ 精巣の
28 小型化、包皮の浮腫 (edematous prepuces) 並びに、外陰部の腫脹並びに乳腺、前立腺
29 及び子宮の大型化増大腫大 (enlarged...) が観察された。[島田章則専門委員、事務局 (島田

³² 試験に使用された匹数が不明であり、対照群が設定されていないこと等から、参考資料とした。

章則専門委員へ御確認済

病理組織学的検査では、1,000ppm 投与群において、生殖腺、特に嚢胞の減少を伴う卵巣の高度の萎縮、子宮及び前立腺における扁平上皮化生 (squamous metaplasia) 及び炎症性変化、並びに膀胱の慢性炎症性変化が観察された。100ppm 投与群の雄 2 例及び雌 1 例で、様々な程度の骨髓過形成 (myeloid hyperplasia) がみられ、また、雄 1 例では、骨髓の高度の萎縮を示した。(参照 5、11) [FDA; NADA_RALGRO®, 1989 p. 3-4 A. 2. (Woodard, 1968)] [FAS23, p. 11 (Woodard, 1968)]

FDA は、~~毒性がない最高用量 (largest nontoxic dosage) は 2.5 mg/kg 体重/日であり、~~寺岡専門委員外陰部の腫脹 (vulvar swelling) や体重増加のようなホルモン作用は毒性影響とは考えないとしてことから青山専門委員、毒性がみられなかった用量 (no effect dosage) は 100ppm (約 2.5 mg/kg 体重/日) であったとした。(参照 5) [FDA; NADA_RALGRO®, 1989 p. 3-4]

食品安全委員会動物用医薬品専門調査会は、本試験において、~~1,000ppm 投与群で嚢胞の減少を伴う卵巣の高度の萎縮、子宮及び前立腺における扁平上皮化生及び炎症性変化、並びに膀胱の慢性炎症性変化等骨髓過形成及び骨髓の萎縮~~がみられたことから、NOAEL を 100ppm (~~0.025 mg/kg 体重/日に相当³³⁾~~) と設定した。事務局

表 145 イヌを用いた 104 週間慢性毒性試験における毒性所見

投与量 (ppm)	雄	雌
1,000	<ul style="list-style-type: none"> 急速な赤血球沈降速度、WBC の増加及びリンパ球の減少 前立腺、下垂体、肝臓、腎臓、副腎及び甲状腺の相対重量の増加、生殖腺の相対重量の減少 精巣の小型化、包皮の浮腫、前立腺の大型化増大腫大島田章則専門委員、事務局 (島田章則専門委員へ御確認済) 前立腺における扁平上皮化生及び炎症性変化、膀胱の慢性炎症性変化 	<ul style="list-style-type: none"> 急速な赤血球沈降速度、WBC の増加及びリンパ球の減少 子宮、肝臓、腎臓、副腎及び甲状腺の相対重量の増加 乳腺、外陰部及び子宮の大型化増大腫大、外陰部の腫脹島田章則専門委員、事務局 (島田章則専門委員へ御確認済) 嚢胞の減少を伴う卵巣の高度の萎縮、子宮における扁平上皮化生及び炎症性変化、膀胱の慢性炎症性変化
100 以上	→ 骨髓過形成及び骨髓の萎縮	→ 骨髓過形成 事務局
100 以下	毒性所見なし	毒性所見なし

³³ JECFA で用いられている換算値 (IPCS : EHC240) を用いて摂取量を推定。

動物種	最終体重 (kg)	摂餌量 (g/動物/日)	摂餌量 (g/kg 体重/日)
Dog (餌のタイプ: ドライ)	10	250	25
Dog (餌のタイプ: モイスト)	10	750	75

【事務局より】

- ① 事務局案として、NOAEL を設定しています。なお、FDA 評価書（参照 5）では NOEL を 100ppm とされていますが、詳細な所見内容が記載されていないことから、JECFA 評価書（参照 11）に記載がある毒性所見の内容に基づき、NOAEL を 1ppm（0.025 mg/kg 体重/日に相当）と判断しています。ご確認をお願いします
- ② また、NOAEL の値については、IPCS : EHC240 の Dog の値を用いて換算しており、餌のタイプが不明のため、NOAEL が小さくなる「ドライ」の方の値を用いて算出しています。なお、FDA 評価書でも同じ換算値が使われています（p.3 「100ppm (approximately 2.5 mg/kg/day)」）。ご確認をお願いします。
- ③ 表の記載は、以下のとおりとしています。併せてご確認をお願いします。
 - ・全投与群の雄でみられた体重の軽度な高値は、毒性所見として記載せず（毒性所見とする場合は、1ppm を LOAEL とする案になります）。
 - ・血液学的検査の所見は、1,000ppm 投与群の雌雄両方に記載。
 - ・剖検及び病理組織学的検査の所見は 1,000ppm 投与群でみられたものと判断し、雌雄に書き分け。膀胱の慢性炎症性変化は雌雄両方に記載。

【小川専門委員】

- ・（「骨髄過形成及び骨髄の萎縮」について）1000 で見られているか不明です。
- ・（③の「体重の軽度な高値」について）程度が不明で毒性とは判断しにくいと考えます。

【島田章則専門委員】（①について）確認しました。

【寺岡専門委員】（①の NOAEL 案について）事務局案に賛成いたします。

【事務局より】

「骨髄過形成及び骨髄の萎縮」については、1,000ppm 投与群でみられたかが不明なため、毒性所見からは外し、NOAEL 案についても修正しました。（p.39,L28-31）

1

2 (7) 7年間慢性毒性試験（イヌ）

3 イヌ（ビーグル種、雌 16 匹/群）に、ゼラノールを循環法（cyclic manner）（21 日間
4 の連続投与後 7 日間の休薬を 1 サイクルとする）により 7 年間（91 サイクル）経口カ
5 プセル投与（0、15 又は 38 mg/kg 体重/日）し、慢性毒性試験が実施された。

6 毒性所見を表 156 に示した。

7 試験開始 3 年目に 15 及び 38 mg/kg 体重/日投与群で各 2 例が死亡し、試験開始 4 年
8 目に 15 mg/kg 体重/日投与群の 3 例が死亡又は瀕死状態のため安楽死処置された。これ
9 らの動物では、毒血症（toxaemia）の臨床徴候及び化膿性子宮炎（pyometritis）と関連
10 のある肉眼的病変がみられた。化膿性子宮炎（pyometritis）による更なる死亡を防ぐた
11 め、全生存動物は試験開始 3～3.5 年時に子宮を摘出された。子宮摘出前には、投与群に
12 において食欲不振（anorexia）及び嗜眠（lethargy）の発生頻度増加が認められた。

13 平均体重は、15 mg/kg 体重/日投与群では対照群に比べてやや低く、38 mg/kg 体重/
14 日投与群では対照群に比べて有意に低かった。

15 臓器重量では、試験開始 4 年の中間検査時に、15 mg/kg 体重/日投与群で副腎の絶対
16 及び相対重量の軽度だが一貫性のある減少がみられた。試験終了時には、全投与群で卵
17 巣の平均及び相対重量の有意な増加がみられた。

18 ゼラノールは子宮への作用（uterotropic effect）が相対的に強く、剖検及び病理組織
19 学的検査では、全投与群で、膣、子宮頸部及び外陰部の粘膜の増殖及び角化
20 （cornification）、嚢胞性子宮内膜過形成（cystic endometrial hyperplasia）、内性子宮

1 内膜症 (endometriosis interna) 及び化膿性子宮炎 (pyometritis) の著しい増加を引き
2 起こした。(参照 11) [FAS23, p. 11 (Hogan, 1981a)]

3
4 食品安全委員会動物用医薬品専門調査会は、本試験において、全投与群で卵巢の平均
5 及び相対重量の増加等がみられたことから、NOAELを設定できず、LOAELを15 mg/kg
6 体重/日と設定した。

8 表 156 イヌを用いた7年間慢性毒性試験における毒性所見

投与量 (mg/kg 体重/日)	雌
38	・平均体重の低値
15 以上	・(死亡又は安楽死処置例における) 毒血症の臨床徴候及び化膿 性子宮炎と関連のある肉眼的病変 ・(子宮摘出前の) 食欲不振及び嗜眠 ・卵巢の平均及び相対重量の増加 ・膣、子宮頸部及び外陰部の粘膜の増殖及び角化、嚢胞性子宮内 膜過形成、内性子宮内膜症及び化膿性子宮炎の増加

9 【事務局より】

- ① 事務局案として、表 16 に記載のとおり用量依存性がない所見を毒性所見から外し、LOAEL
を設定しています。ご確認をお願いします。
- ② LOAELの根拠とした所見については「卵巢の平均及び相対重量の増加等」とまとめていま
すが、特記する内容について、ご確認をお願いします。
- ③ 表の記載は、以下のとおりとしています。併せてご確認をお願いします。
- ・死亡例又は安楽死処置例にみられた所見及び子宮摘出前の所見は、毒性所見として15 mg/kg
体重/日以上投与群の項目に記載。
 - ・平均体重の低値は、38 mg/kg 体重/日投与群の所見として記載。
 - ・副腎の絶対及び相対重量の減少は、用量依存性が確認できないため、毒性所見として記載せ
ず。
 - ・剖検及び病理組織学的所見は、全用量でみられたものと判断。

【小川専門委員】(①について) 同意します。

【島田章則専門委員】(①について) 確認しました。

【寺岡専門委員】(①について) 賛成いたします。

10
11 (8) 10年間慢性毒性試験(サル)

12 性成熟後のサル(アカゲザル、雌16匹/群)に、ゼラノールを循環法(cyclic manner)
13 (21日間の連続投与後7日間の休薬を1サイクルとする)により10年間(131サイク
14 ル)強制経口投与(0(溶媒)、15又は75 mg/kg 体重/日、溶媒:エタノール及びメチル
15 セルロースの混合物)し、慢性毒性試験が実施された。投与1年後に2匹、2及び4年
16 後に各4匹を中間検査に用いた。試験開始後最初の9か月間に投与とは関連のない原因
17 により7匹が死亡したことから、各群の動物数を維持するために、別の7匹を導入した。

18 毒性所見を表167に示した。

19 眼科的变化として、網膜の黄斑及び黄斑周辺部位(perimacular regions)における両
20 側性脱色素巣(bilateral hypopigmented foci)、黄斑の粒状の外観(grainy appearance)

1 及び黄斑反射 (macular reflex) の減少又は欠落がみられた。

2 触知可能な乳房の小結節 (palpable mammary nodules) 及び又は腋窩リンパ節の大型化増大腫大 (enlarged axillary lymph nodes) が、数例に散見された。事務局、事務局
3 (島田章則専門委員へ御確認済) 75 mg/kg 体重/日投与群では、触知可能な子宮の腫瘤
4 (palpable uterine masses) が、対照群及び 15 mg/kg 体重/日投与群に比べて、極めて
5 高い発生頻度で観察された。

6 75 mg/kg 体重/日投与群で無月経の長期化がみられたが、これは、試験後期における
7 長期陰出血 (prolonged periods of vaginal bleeding) を引き起こすことに繋がった。

8 体重は、投与群で対照群と比較して試験期間を通じて増加抑制がみられ、試験終了時
9 における雌の平均体重は、15 mg/kg 体重/日投与群で対照群に比べて 15%低く、75
10 mg/kg 体重/日投与群で 25%低かった。

11 血液学的検査では、試験開始後最初の 1.5 年間に、投与群では対照群に比べて Hb、
12 Ht 及び RBC の一過性の低値がみられた。血液凝固時間 (measured clotting time) の
13 散発的延長が、試験期間を通じてみ認められた。その他の血液学的変化は、み認められ
14 なかった。寺岡専門委員

15 血液生化学的検査では、血清中 ALT 活性 (SGPT) の散発的な上昇が 15 mg/kg 体重
16 /日投与群でみられ、75 mg/kg 体重/日投与群では一貫してより高い ALT 活性が観察さ
17 れた。類似のパターンは、TG 及び Chol にもみられた。

18 臓器重量では、75 mg/kg 体重/日投与群で、対照群と比べて肝臓及び子宮の平均絶対
19 及び相対重量が一貫して高く、また、卵巣の平均絶対及び相対重量は常に低かった。同
20 様の所見は 15 mg/kg 体重/日投与群でもみられたが、その程度は 75 mg/kg 体重/日投
21 与群と比べて小さかった。試験終了時では、75 mg/kg 体重/日投与群の下垂体の平均相
22 対重量並びに副腎の平均絶対及び相対重量が、対照群に比べてより高かった。

23 剖検では、試験開始 1 及び 2 年後には、投与による変化はみ認められなかった。試験
24 開始 4 年後³⁴に、子宮内膜の増殖 (endometrial proliferation) の発生頻度及びその度
25 合に用量依存的な増加がみられた。最終検査時 (試験開始 10 年後) における投与による
26 変化として、子宮の大型化増大腫大 (enlarged uteri) 事務局、子宮内膜及び子宮筋層の
27 肥厚 (thickened endometrium and myometrium)、卵管の大型化増大肥大 (enlarged
28 oviducts) 島田章則専門委員及び外性子宮内膜症 (endometriosis externa) がみられた。

29 事務局 (島田章則専門委員へ御確認済)

30 病理組織学的検査では、試験開始 1 年後には、投与による変化はみ認められなかった。
31 試験開始 2 年後に、75 mg/kg 体重/日投与群で、1 例に良性の腺腫並びに相対的な乳腺
32 腺房組織 (mammary acinar tissue) の増加及び管形成発達 (duct development) がみ
33 認められた。試験開始 4 年後では、75 mg/kg 体重/日投与群において、発生頻度は低い
34 が嚢胞性に拡張した腺 (cystically dilated glands) を伴う子宮内膜過形成 (endometrial
35 hyperplasia) (4 例全て)、成熟卵胞及び黄体の欠如 (absence of mature follicles and
36 corpora lutea)、子宮頸管腺基底部分 (basilar portions of cervical glands) の扁平上皮化
37 生 (squamous metaplasia) を伴う頸部上皮 (cervical epithelium) の表在性萎縮
38 (superficial atrophy) 並びに乳腺小葉の形成発達 (lobular development) の増加及び
39 軽度な管上皮増殖 (ductular epithelial proliferation) がみられた。島田章則専門委員試験

1 開始 10 年後の検査においては、75 mg/kg 体重/日投与群の大部分の動物では、腔にお
 2 ける上皮結合組織 (subepithelial connective tissue) の硝子化 (hyalination)、子宮頸
 3 管腺基部 (basilar portions of cervical glands) の扁平上皮化生 (squamous
 4 metaplasia)、卵巣の萎縮及び黄体の欠如 (absence of corpora lutea)、並びに乳腺にお
 5 ける高度の乳管及び腺房 (acinar) の過形成がみられた。75 mg/kg 体重/日投与群の全
 6 例及び 15 mg/kg 体重/日投与群の 3 例で、嚢胞性子宮内膜過形成 (cystic endometrial
 7 hyperplasia)、子宮筋層肥大 (myometrial hypertrophy) 及び外性子宮内膜症
 8 (endometriosis externa) がみ認められた。対照群、15 及び 75 mg/kg 体重/日投与群
 9 における子宮/頸部の平滑筋腫 (leiomyomas) (子宮筋腫 (fibroids)) は、それぞれ 12 例
 10 中 1 例、7 例中 2 例及び 14 例中 2 例にみられた。(参照 11) [FAS23, p.11-12 (Hogan,
 11 1981b)]

12
 13 食品安全委員会動物用医薬品専門調査会は、本試験において、全投与群で体重増加抑
 14 制、外性子宮内膜症等がみられたことから、NOAEL を設定できず、LOAEL を 15 mg/kg
 15 体重/日と設定した。

16
 17 表 167 サルを用いた 10 年間慢性毒性試験における毒性所見

投与量 (mg/kg 体重/日)	雌
75	<ul style="list-style-type: none"> ・<u>触知可能な子宮の腫瘍</u> 小川専門委員 ・無月経の長期化、長期膣出血 ・下垂体の平均相対重量並びに副腎の平均絶対及び相対重量の増加 ・良性の腺腫並びに相対的な乳腺腺房組織の増加及び管形成発達 < 2 年後病理組織学的検査 > 島田章則専門委員 ・嚢胞性に拡張した腺を伴う子宮内膜過形成、成熟卵胞及び黄体の欠如、子宮頸管腺基部の扁平上皮化生を伴う頸部上皮の表在性萎縮、乳腺小葉の形成発達、管上皮増殖 < 4 年後病理組織学的検査 > 島田章則専門委員 ・腔における上皮結合組織の硝子化、子宮頸管腺基部の扁平上皮化生、卵巣の萎縮及び黄体の欠如、乳腺における高度の乳管及び腺房の過形成 < 10 年後病理組織学的検査 >
15 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制 ・Hb、Ht 及び RBC の一過性の低値、血液凝固時間の散発的延長 ・血清中 ALT 活性 (SGPT)、TG 及び Chol の上昇 ・肝臓及び子宮の平均絶対及び相対重量の増加、卵巣の平均絶対及び相対重量の低下 ・嚢胞性子宮内膜過形成、子宮筋層肥大、外性子宮内膜症 < 10 年後病理組織学的検査 >
不明	<ul style="list-style-type: none"> ・網膜の黄斑、黄斑周辺部位における両側性脱色素巣、黄斑の粒状の外観、黄斑反射の減少又は欠落 ・触知可能な乳房の小結節及び又は腋窩リンパ節の大型化増大腫大 島田章則専門委員、事務局 (島田章則専門委員へ御確認済)

	<ul style="list-style-type: none"> ・子宮内膜の増殖<4年後剖検³⁴> ・子宮の増大腫大<small>小川専門委員</small>、子宮内膜及び子宮筋層の肥厚、卵管の大型化増大肥夫、外性子宮内膜症<10年後剖検><small>事務局、事務局（島田章則専門委員へ御確認済）</small>
--	---

1

【事務局より】

- ① 事務局案として、眼科的变化及び一部の剖検における所見がみられた用量が不明ですが、最低用量で所見がみられているため LOAEL を設定しています。本試験の取扱いを含め、ご確認をお願いします。
- ② LOAEL の根拠とした所見については「体重増加抑制、外性子宮内膜症等」とまとめていますが、特記する内容について、ご確認をお願いします。
- ③ 表の記載は、以下のとおりとしています。併せてご確認をお願いします。
- ・血清中 ALT 活性については、散発的ではあるものの 15 mg/kg 体重/日投与群でも上昇がみられたことから、15 mg/kg 体重/日投与群の項目に記載。TG 及び Chol も同様に判断。
 - ・臓器重量の変化のうち、肝臓、子宮及び卵巣については、75 mg/kg 体重/日投与群に比べると程度は小さいものの 15 mg/kg 体重/日投与群でもみられたことから、15 mg/kg 体重/日投与群の項目に記載。
 - ・嚢胞性子宮内膜過形成、子宮筋層肥大及び外性子宮内膜症については、毒性所見として 15 mg/kg 体重/日投与群の項目に記載。一方、子宮/頸部の平滑筋腫については、用量依存性が無いと思われるため、毒性所見として記載せず。
 - ・剖検及び病理組織学的所見については、検査時期を記載。
 - ・剖検所見については、投与量不明の項目に記載。病理組織学的所見と重複する所見は削除してもよいでしょうか。

【小川専門委員】(③剖検と病理学組織学的の所見について) 重複している部分は削除で結構です。

【島田章則専門委員】

(①について) 確認しました。

- ・「hypertrophy」は「肥大」、「enlarged」は「増大」→「enlarged」を「大型化」と訳すことについて御確認済み (事務局)
- ・「development」は、「形成」としてはどうでしょうか？ 管→乳管 乳腺組織内での「腺房」構造および「乳管」構造としてとらえることが可能かと思います。

【寺岡専門委員】

- ① (7) 7年間慢性毒性試験(イヌ)でも循環法として休薬期間を設けた投与法を採用していますが、他でみたことがありません。しかし、10年という長期間ですし、毎日投与に比べて影響が弱くなることはあっても、強くなることは考え難いので、採用可能だと思います。また、試験中の死亡個体の補充として、別の7匹を導入したのも気になりますが、いずれにしても最初から投与した個体を含めて15以上で有害影響が認められております。LOAELに関する事務局案に賛成いたします。

2

3 7. 生殖発生毒性試験

4 (1) 1世代繁殖試験(ラット)

5 ラット(SD系、約7週齢、体重約200g、雌雄各10匹/群)に交配前4週から児動物
6 を離乳するまでゼラノールを混餌投与(0、0.25、1.77、12.5又は25ppm)し、1世代

³⁴ [JECFA 評価書 \(参照 11\)](#) には“at A years”と記載されているが、中間検査時の結果と考えられ、試験開始1及び2年後の結果は記載されていることから「試験開始4年後」と判断した。事務局

1 繁殖試験が実施された。母動物には、雌雄各 3 匹の児動物 (F₁) を哺育させた。児動物
2 (F₁) には、離乳後 3 週間³⁵にわたりゼラノールを混餌投与し、6 週齢で剖検した。雌雄
3 親動物 (F₀) は、投与終了後に剖検した。

4 毒性所見を表 17 に示した。

5 全投与群の雄親動物 (F₀) で、体重 (25ppm 投与群 (high-dose group) では 19%)
6 及び摂餌量が低下した。雌親動物 (F₀) では、摂餌量の低下は軽微であったが、12.5ppm
7 以上投与群では体重が有意に低下 (25ppm 投与群 (high-dose group) では 21%) した。

8 いずれの投与群でも、受胎率 (fertility index)、出産率 (gestation index)、出生率 (live
9 birth index)、哺育児生存率 (viability index) (生後 0~4 日) 及び哺育率 (lactation
10 index) (生後 4~21 日) に、投与の影響はみられなかった。しかし、25ppm 投与群 (high-
11 dose group) では哺乳期間中における児動物 (F₁) の体重増加が雌雄ともに著しく抑制
12 され、この状態は離乳後も持続した。児動物の体重増加抑制は 12.5ppm 投与群でも観察
13 されたが、1.77ppm 以下投与群ではみられなかった。 [事務局]

14 雌雄親動物 (F₀) の全投与群で、肝臓の絶対及び相対重量が低下した。また、投与群
15 の雄親動物 (F₀) 全例で精囊の絶対及び相対重量の低下が、雌親動物 (F₀) では卵巣の
16 絶対及び相対重量の低下がみられた。肉眼的剖検所見 (gross necropsy) では、いずれの
17 世代 (F₀ 及び F₁) の動物にも投与の影響はみられなかった。(参照 5, 11) [FDA; NADA_RALGR0®,
18 1989 p. 6-7 B. 3. (Everett & Perry, 1984)] [FAS 23, p. 5 (Everett & Perry, 1984)]

19
20 FDA は、いずれの用量でも生殖に及ぼす影響は認められず、児動物の生存率について
21 は 25ppm の用量でのみ影響がみられたとした。25ppm 投与群 (highest dose group)
22 で哺育児の離乳 (weaning of litters from the females) を延期したのは、哺乳期間中
23 における児動物の体重増加が極めて不十分で、離乳予定日である哺育 21 日の段階では母
24 動物の哺育なしで生存できるまで十分に発育していなかったためであるとした。また、
25 12.5ppm 投与群 (high dose group) では母動物の体重低下がみられ、これが同群の児動
26 物の体重増加不良の原因であると推察した。

27 ~~生殖に及ぼす影響がみられなかった用量 (reproduction no-effect dose) は 25ppm (約~~
28 ~~1.25 mg/kg 体重/日)、影響が何もみられなかった用量 (no-effect dose) は 12.5ppm (約~~
29 ~~0.625 mg/kg 体重/日) であったとした。~~ [青山専門委員] (参照 5) [FDA; NADA_RALGR0®, 1989
30 p. 6-7 B. 3. (Everett & Perry, 1984)]

31
32 食品安全委員会動物用医薬品専門調査会は、全投与群の親動物 (F₀) でみられた所見
33 (雄の体重及び摂餌量の低下並びに肝臓及び精囊の絶対及び相対重量の低下、雌の卵巣
34 の絶対及び相対重量の低下) については、いずれも JECFA 評価書 (参照 11) の記載で
35 は有意な変化であるかは不明であること、FDA 評価書 (参照 5) には言及されていない
36 こと、両評価書において 0.25ppm が LOAEL と判断されていないことから、重篤な所見
37 であったとは考えられないものの、生殖器における所見内容は投与に関係ないとは言
38 い切れないことから毒性所見と判断した。また、児動物 (F₁) については、1.77ppm 以

³⁵ JECFA 評価書 (参照 11) には 3~4 週間と記載されている。

下では毒性所見はみられず、12.5ppm 投与群でみられた体重増加抑制については、FDA 評価書（参照 5）では母動物の体重低下に起因する変化と判断されたが、体重増加抑制がみられたことは事実であることから毒性所見と判断した。

したがって、雌雄の親動物（F₀）の肝臓、雄親動物（F₀）の精囊及び並びに雌親動物（F₀）の卵巣の絶対及び相対重量が全投与群で低下したこと等から、親動物に対する NOAEL を設定できず、LOAEL を 0.25ppm（0.013 mg/kg 体重/日に相当³⁶）と設定した。児動物（F₁）については、12.5ppm 以上投与群で体重増加抑制がみられたことから、NOAEL を 1.77ppm（0.18 mg/kg 体重/日に相当³⁶）と設定した。事務局

表 17 ラットを用いた 1 世代繁殖試験における毒性所見事務局

投与量 (ppm)	親動物 (F ₀)		児動物 (F ₁)
	雄	雌	
12.5 以上	・ 体重低下 ・ 摂餌量低下	・ 体重低下	・ 体重増加抑制（哺乳期間～離乳後）
1.77 以上	・ 肝臓及び精囊の絶対及び相対重量低下	—	(1.77ppm 以下) 毒性所見なし
0.25 以上		・ 肝臓及び卵巣の絶対及び相対重量低下	

【事務局より】

- ① Report No.は異なりますが、著者名、実施施設、報告書作成年、試験内容・結果等から、JECFA と FDA の評価書（参照 5、11）は、同一の試験の評価を記載していると判断しています。試験の概要は、JECFA 評価書の記載をベースに FDA 評価書の内容を記載していますが、一部異なる点がありますので、記載が妥当か、ご確認をお願いします。
- ② 事務局案として、親動物について LOAEL を、児動物について NOAEL を設定しており、それぞれ換算値（IPCS：EHC240）の Rat(old), Rat(young)の値を用いています。親動物については体重に開きがありますが（試験開始時の体重は約 200g）、FDA 評価書（参照 5）でも Rat(old)と同じ換算値が使われています。ご確認をお願いします。
- ③ 親動物の LOAEL の根拠とした所見については「雌雄の親動物（F₀）の肝臓、雄の精囊並びに雌の卵巣の絶対及び相対重量が全投与群で低下したこと等」とまとめていますが、特記する内容について、ご確認をお願いします。
- ④ 表の記載は、以下のとおりとしています。併せてご確認をお願いします。
 - ・ 雌（F₀）の摂餌量は軽度の減少（only a slight reduction）とされたため、記載せず（本文を残す）。
 - ・ 体重減少の割合については記載せず。
- ⑤ 児動物（F₁）の 12.5ppm 投与群の体重増加抑制については、JECFA 評価書（参照 11）の以下の書き分けから、25ppm 投与群（high dose group）では有意な低下がみられたが、12.5ppm 群でみられた変化は有意差なしと読み取り、FDA 評価書（参照 5）における NOEL も考慮し、事務局案では毒性としないと判断しています。

一方で、FDA 評価書では、FDA の NOEL とは矛盾するものの、「12.5ppm 投与群（high

³⁶ JECFA で用いられている換算値（IPCS：EHC240）を用いて摂取量を推定。

動物種	最終体重 (kg)	摂餌量 (g/動物/日)	摂餌量 (g/kg 体重/日)
Rat(young)	0.10	10	100
Rat(old)	0.40	20	50

dose group) では母動物の体重低下がみられ、これが同群の児動物の体重増加不良の原因であると推察した」旨の記述があります。

JECFA 評価書においては、high dose group が 25ppm 投与群を指すと解釈される部分があります。FDA の評価書においても、母動物の体重低下がみられたとされる high dose group を 12.5ppm 投与群と解釈するか 25ppm 投与群と解釈するかを含め、専門調査会として 12.5ppm 投与群での変化を毒性とするか否か、ご検討をお願いします。

<JECFA 評価書>

Male and female pups in the high dose group showed a significant reduction in body-weight gain during the lactation period, and this was maintained during the post-weaning period. Decreased weight gain was also observed in the 12.5ppm group, but not in the lower-dose groups

<FDA 評価書>

The weaning of litters from the females receiving the highest doses of zeranol was delayed because the pups showed markedly poorer weight gains over days 1-21 of lactation and the pups were not developed enough to survive without maternal care. Parents of the high dose group experienced a reduction in body weight which is believed to be the cause of the poor weight gains in the pups of this group.

【青山専門委員】

JECFA 評価書について：

「significant reduction」は、「統計学的に有意な低下」ではなく、「離乳時期を遅らせなければならぬほどに著しい低下」と解釈すべきように思います（「statistically significant reduction」とは書いていませんし、FDA は「markedly poorer weight gains」と表現しています）。また、12.5 ppm 投与群の児動物についても明確に「Decreased weight gain」と記載されていますので、これを「統計学的に有意なものではなかった」と解釈することはできません。

FDA 評価書について：

「生殖に及ぼす影響が・・・」から始まる段落の記載は直前のパラグラフで述べたことを要約していると解釈すべきであり、FDA は「12.5ppm 群の哺育児に観察された体重増加量の抑制は母親への影響を介した二次的なものであると考えられるので、これを児動物に対する影響とは判断せず、この用量（12.5ppm）を児動物に対する無影響量と判断した。」と述べていると考えます。統計学的有意差の有無とは関係ありません。このように考えれば、FDA の評価書の記載に矛盾は生じません。しかし、当専門調査会は、二次的であろうが直接的であろうが哺育児に体重増加抑制があったことは事実ですので、これを根拠として、児動物に対する NOAEL は 1.77ppm と判断すべきと考えます。

【事務局】

ご指摘を踏まえ、児動物の体重増加抑制がみられた用量を修正しました。それに伴い、児動物の NOAEL を 1.77ppm へ変更しました。

1
2
3
4
5
6

（２）２世代繁殖試験（ラット）

ラット（CD 系、雌雄各 30 匹/群）にゼラノールを混餌投与（0、0.3、3 又は 30ppm）し、２世代繁殖試験が実施された。F₀ 世代の親動物への投与は、雄では交配前 10 週、雌では交配前 3 週に開始し、交配、妊娠、哺育（F_{1a}、F_{1b}）及び休養期間（rest interval）を通じてゼラノールを混餌投与した。無作為に選抜した F₁ 親動物（F_{1b}）には、F₀ 親動

1 物とほぼ同様に、交配前 14 週間、交配、妊娠及び哺育 (F_{2a}、F_{2b}) 期間を通じてゼラ
 2 ノールを混餌投与した。単位修正: 「ppb」 → 「ppm」

3 毒性所見を表 18 に示した。

4 0.3ppm 投与群では、親動物及び児動物に毒性所見はみられなかった。

5 3ppm 投与群では、生殖及び妊性に関わる指標 (reproduction/fertility indices)、同腹
 6 児数 (litter size data)、児動物の生存率 (pup survival indices)、児動物の体重、児動
 7 物及び親動物の肉眼的剖検所見 (gross postmortem finding) 並びに臓器重量に、投与
 8 の影響はみられなかった。雌親動物の体重には有意な低値がみられたが、その差は僅か
 9 であり、体重増加量は概ね対照群と同程度であった。

10 30ppm 投与群においても、F₀親動物の生殖に関する指標 (reproduction indices) は、
 11 対照群とほぼ同等であった。しかし、F₁親動物では、妊娠率及び雄の受胎率 (fertility
 12 indices) は低下した。これらの指標に観察された低値については、対照群との差は有意
 13 でなかったものの、二回の交配時に一貫して観察され、二度目の交配時にはより顕著で
 14 あった。この投与群では、交配前期間中における F₀及び F₁雄親動物の体重が対照群の
 15 値より有意に低く、剖検まで回復しなかった。F₀及び F₁雌親動物では、妊娠 0~20 日
 16 に体重増加抑制がみられ、出生時に生存児動物が少なく、離乳した児動物の哺乳 14 及
 17 び 21 日の体重が低かった。臓器重量 (F₀、F₁)、肉眼的剖検所見 (gross postmortem
 18 finding) (親動物及び児動物) 及び病理組織学的評価 (親動物) においては、投与による
 19 影響はみられなかった。

20 ~~催奇形性は全用量でみられなかった。~~青山専門委員 (参照 5) [FDA; NADA_RALGRO®, 1989
 21 p. 4-6 B. 1. (Schroeder&Daly, 1988)]

23 FDA は、0.3 及び 3ppm では毒性影響はみられず、生殖において毒性がみられなかつ
 24 た用量 (reproduction no-effect dose) は 3ppm (平均 0.25 mg/kg 体重/日) であり、生
 25 殖における無毒性量 (reproduction no-effect level) を 0.25 mg/kg 体重/日と設定した。

26 (参照 5) [FDA; NADA_RALGRO®, 1989 p. 4-6 B. 1. (Schroeder&Daly, 1988), p. 8 B. 5. Conclusion]

28 食品安全委員会動物用医薬品専門調査会は、30ppm 投与群で親動物及び児動物のいず
 29 れにも体重低下等の影響がみられたことから、NOAEL を 3ppm (親動物で 0.15 mg/kg
 30 体重/日、児動物で 0.3 mg/kg 体重/日に相当³⁷⁾) と設定した。

32 表 18 ラットを用いた 2 世代繁殖試験における毒性所見事務局

投与量 (ppm)	F ₀ 親動物及び F ₁ 児動物	F ₁ 親動物及び F ₂ 児動物
--------------	---	---

³⁷⁾ JECFA で用いられている換算値 (IPCS : EHC240) を用いて摂取量を推定。

動物種	最終体重 (kg)	摂餌量 (g/動物/日)	摂餌量 (g/kg 体重/日)
Rat(young)	0.10	10	100
Rat(old)	0.40	20	50

30	<ul style="list-style-type: none"> ・体重低下（交配前期間～剖検）＜F₀雄親動物＞ ・体重増加抑制（妊娠0～20日）＜F₀雌親動物＞ ・生存児数の減少、体重の低値（哺乳14,21日）＜F₁児動物＞ 	<ul style="list-style-type: none"> ・妊娠率及び雄の受胎率の減少＜F₁親動物＞ ・体重低下（交配前期間～剖検）＜F₁雄親動物＞ ・体重増加抑制（妊娠0～20日）＜F₁雌親動物＞ ・生存児数の減少、体重の低値（哺乳14,21日）＜F₂児動物＞
<u>3以下</u>	<u>毒性所見なし</u>	<u>毒性所見なし</u>

1

【事務局より】

- ① 事務局案として、30ppmにおける毒性所見を基に親動物・児動物についてNOAELを設定しています。また、それぞれ換算値（IPCS：EHC240）のRat(old),Rat(young)の値を用いています。ご確認をお願いします。
- ② NOAELの根拠とした所見については「体重低下等」とまとめていますが、特記する内容について、ご確認をお願いします。

2

3 (3) 3世代繁殖試験（ラット）＜参考資料³⁸＞

4 ラット（CD系、体重：雄69～113g、雌65～109g、雄10匹及び雌20匹）にゼラ
5 ノールを混餌投与（0、0.01、0.10又は0.20ppm）し、3世代繁殖試験が実施された。
6 いずれの世代においても交配前70日から妊娠期間が終了するまで投与を継続し、母動
7 物の出産から哺育期間を経て哺育児を離乳するまでは休業した。被験物質の投与は、離
8 乳後に試験開始時と同濃度で再開した。いずれの世代においても、2回目の交配で得ら
9 れた児動物（F_{1b}及びF_{2b}）から次世代の親動物を選抜して繁殖に及ぼす影響を評価し、
10 3回目の交配で得られた児動物（F_{1c}及びF_{2c}）を用いて発生毒性を評価した。

11 各世代の親動物及び児動物には、観察したいずれの指標にも投与による悪影響は観察
12 されなかった。（参照5、11）[FDA; NADA_RALGR0®, 1989 p.6 B.2. (Wazeter & Goldenthal, 1976)]
13 [FAS 23, p.7-8(Wazeter & Goldenthal, 1976)]

14

15 (4) 生殖毒性試験（ラット）＜参考資料³⁹＞

16 ラット（系統及び匹数不明、雌雄）にゼラノールを交配前に60日間経口投与（0.3125、
17 1.25又は5mg/kg体重/日）し、無処置の動物と交配した。

18 雄にゼラノールを投与した試験では、1.25mg/kg体重/日以上投与群で、同居開始か
19 ら交尾成立までの期間が延長した。また、雌にゼラノールを投与した試験においても、
20 1.25mg/kg体重/日以上投与群で、同居開始から交尾成立までの期間の延長、同腹児数
21 の減少、死産の増加及び生存新生児数の減少がみられた。雌雄のどちらにゼラノールを
22 投与した場合でも催奇形性はみられなかった。（参照5、11）[FDA; NADA_RALGR0®, 1989 p.7-
23 8 B.4. (Baldwin et al., 1983)] [FAS 23, p.8 (Williams, 1982)]

24

³⁸ 試験の詳細が不明であることから、参考資料とした。

³⁹ 試験の詳細が不明であることから、参考資料とした。

1 FDA は、本試験において、生殖における無毒性量 (reproductive no-effect-level
2 (RNEL)) を 0.3125 mg/kg 体重/日以下と設定した。(参照 5) [FDA: NADA_RALGRO®, 1989
3 p.7-8 B.4. (Baldwin et al., 1983)]

4
5 (5) 発生毒性試験 (マウス) <参考資料⁴⁰>

6 マウス (CD-1⁴¹系、雌、匹数不明) にゼラノールを皮下投与 (10~10,000 µg/kg 体重
7 /日の範囲の対数用量) し、発生毒性試験が実施された。投与は妊娠 6~10 日に行い、被
8 験動物の半数を通常分娩させ、残りの半数を帝王切開した。

9 1,000 µg/kg 体重/日以上投与群では、児が得られた腹の頻度が、対照群では 81%であ
10 ったのに対して 35%まで減少した。児動物の体重低下及び死産の増加が観察された。限
11 定的な剖検の結果、骨中の骨梁 (medullary trabeculae) の増加がみられた。(参照 11)
12 [FAS 23, p.7 (Davies et al., 1977)]

13
14 (6) 発生毒性試験 (ラット) ①<参考資料⁴²>

15 ラット (系統不明、雌 4 匹/群) にゼラノールを経口投与し、発生毒性試験が実施され
16 た。投与は、妊娠 1、2、3、4 又は 5 日に単回 (4 mg/匹)、妊娠 1~4 日に反復 (1 mg/
17 匹/日)、又は妊娠 6 日に単回 (8 mg/匹) で実施し、これらの被験動物は、妊娠 9 日に剖
18 検された。

19 投与 4 日後までの投与によって着床の障害が観察された。着床が成立した例では、妊
20 娠 9 日までに胎児の吸収がみられた。(参照 11) [FAS 23, p.7 (IMC, 1980a)]

21
22 (7) 発生毒性試験 (ラット) ②<参考資料⁴³>

23 ラット (系統及び匹数不明、雌) にゼラノールを経口投与 (0、2 又は 6 mg/kg 体重/
24 日) し、発生毒性試験が実施された。投与は妊娠 6~15 日に行い、妊娠 20 日に帝王切
25 開して胎児を調べた結果、生存胎児数の減少及び胚・胎児吸収 (resorption) 数の増加が
26 みられた。生存胎児の骨格及び内臓に奇形はみられなかった。(参照 5、11) [FDA:
27 NADA_RALGRO®, 1989 p.8 B.4. (Baldwin et al., 1983)] [FAS 23, p.8 (Williams, 1982)]

28
29 (8) 発生毒性試験 (ウサギ) <参考資料⁴⁴>

30 ウサギ (品種及び匹数不明、雌) にゼラノールを経口投与 (0、1 又は 5 mg/kg 体重/
31 日) し、発生毒性試験が実施された。投与は妊娠 6~18 日に行い、妊娠 28 日に帝王切
32 開して胎児を調べた結果、内臓及び骨格の異常はみられなかった。(参照 5、11) [FDA:
33 NADA_RALGRO®, 1989 p.8 B.4. (Baldwin et al., 1983)] [FAS 23, p.8 (Williams, 1982)]

34
【事務局より】

40 皮下投与で実施されていることから、参考資料とした。

41 JECFA 評価書 (参照 11) には“CDI-1”と記載されているが、“CD-1”の誤りであると判断した。

42 試験の詳細が不明であることから、参考資料とした。

43 試験の詳細が不明であることから、参考資料とした。

44 試験の詳細が不明であることから、参考資料とした。

事務局案として、(3)、(4)、(6)～(8)については、いずれも試験の詳細が不明であることから、(5)については、皮下投与で実施されていることから、参考資料としています。情報量が極めて少ないものもあることから、各試験の取り扱いについて、ご確認をお願いします。

【青山専門委員】

情報が極めて限定的ですので、参考資料とせざるを得ないように思います。

1

2 **8. ホルモン作用に関する試験**3 **(1) 13 週間投与試験 (サル) <参考資料⁴⁵>**

4 成熟サル (カニクイザル、雄 6 匹/群) にゼラノールを 13 週間経口投与 (0.05、0.5 又
5 は 5 mg/kg 体重/日に相当) し、ホルモン作用が検討された。臨床化学的検査、血液学的
6 検査及び尿検査は、投与前に 2 回並びに投与開始 1 及び 3 か月後に実施された。血清中
7 のインスリン、FSH 及びテストステロン濃度も測定された。投与期間終了 (最終投与)
8 後に精巣を生検し、病理組織学的検査が実施された。

9 試験期間中、体重増加量は正常であった。

10 臨床化学的検査、血液学的検査及び尿検査の各パラメータは、正常値の範囲内であっ
11 た。インスリン、TSH 及び FSH の血清中濃度に投与による変化はみられなかった。動
12 物によりテストステロン値の変動は非常に大きかったが、投与による影響はみられなか
13 った。精巣の生検では、精祖細胞 (spermatogonia)、一次及び二次精母細胞又は精子に
14 影響はみられなかった。ライディッヒ細胞は正常であった。(参照 11) [FAS 23, p. 4 (Singh
15 et al., 1984b)]

16

17 JECFA は、最高用量でもエストロゲン様作用がみられなかったことから、ホルモン
18 作用としての無作用量 (no-hormonal-effect level) は設定できなかったとしている。(参
19 照 11) [FAS23, p. 13 COMMENTS]

20

【事務局より】

対照群が設定されていないことから参考資料としました。本試験の取り扱いについて、ご確認
をお願いします。

【小川専門委員】 参考資料の扱いに同意します。

【寺岡専門委員】 参考資料でよいと思います。

21

22 **(2) 3 月経周期投与試験 (サル)**

23 性成熟したサル (カニクイザル、雌 6 匹/群) にゼラノールを 3 月経周期にわたり、毎
24 日経口投与 (0 (溶媒のみ)、0.05、0.5 又は 5 mg/kg 体重/日に相当、溶媒 : 0.2%CMC
25 水溶液) し、ホルモン作用が検討された。別の 1 群 (雌 6 頭) にはエストラジオール-17β
26 を投与 (0.01 mg/kg 体重/日に相当) した。血液学的検査、臨床化学的検査及び尿検査
27 を投与前、投与期間中及び休薬期間中に実施した。血清中のインスリン、TSH、FSH、
28 エストラジオール-17β 及びプロゲステロンの濃度を試験期間中 (3 月経周期のうちの 1
29 周期) に測定した。膣上皮の角化 (vaginal cornification) (成熟指数 (maturation index))

⁴⁵ 対照群が設定されていないことから、参考資料とした。

1 及び毎日の観察を実施し、性皮着色 (sex skin coloration) 又は腫脹 (swelling) の有無
2 について検討した。

3 動物の体重には、投与による影響は観察されなかった。

4 投与及び休薬期間中の性皮変化については、ゼラノール又はエストラジオール-17β 投
5 与群のいずれにおいても、投与の影響はみられなかった。

6 臨床化学又は血液学的検査のパラメータ及びインスリン又は TSH の血清中濃度に、
7 投与による有意な影響はみられなかった。いずれの群においても、FSH、エストラジ
8 オール又はプロゲステロンの血清中濃度又は周期的挙動 (cyclic behavior) に、投与の影
9 響はみられなかった。投与期間中における膈上皮細胞においても有意な変化はみられな
10 かった。(参照 11) [FAS 23, p.4-5 (Singh et al., 1984c; Singh & Griffin, 1984)]

11
12 JECFA は、本試験におけるホルモン作用としての無作用量 (no-hormonal-effect level)
13 を 5 mg/kg 体重/日と設定した。(参照 11) [FAS23, p. 13 COMMENTS]

14
15 食品安全委員会動物用医薬品専門調査会は、陽性対照と考えられるエストラジオール
16 -17β 投与群を含む全投与群で投与の影響がみられなかったことから、本試験条件下では
17 被験物質のエストロゲン様作用を検出することができなかったと判断した。

18
19 **【青山専門委員】**

陽性対照と考えられるエストラジオール-17β を投与しても影響が何も出ていないので、この試
験ではゼラノールのエストロゲン様作用は検出できなかった(試験は失敗した)と考えるべきと
思います。

20 **【事務局より】**

「いずれの群」という場合に、原文ではいくつかの異なる英語が使われています。陽性対照群に
おいて全く影響がなかったとして良いか、念のため再度ご確認をお願いします。

また、青山先生ご指摘のとおり本試験ではゼラノールのエストロゲン様作用が検出できず、(3)
としてほぼ同条件の試験の記載があることも踏まえ、参考資料とする、あるいは削除する等、本試
験の取扱についてもご検討をお願いします。

21 **【寺岡専門委員】**

削除でよいと思います。

22 **(3) 3 月経周期又は 111 日間投与試験 (サル)**

23 性成熟したサル (アカゲザル、雌 6 又は 8 匹/群) に、3 月経周期又は投与開始前の周
24 期後 (after a pretreatment control cycle) に 111 日間ゼラノールを経口投与 (0、0.5、
25 5 又は 50 mg/kg 体重/日に相当) し、ホルモン作用が検討された。動物の血液を、投与
26 開始前の月経周期中 (during the last pretreatment control cycle) は毎日、投与開始後
27 は最初の 2 月経周期中は 1 日おきに、最終月経周期中は毎日、採取して、血清中のエス
28 トラジオール、プロゲステロン、LH 及び FSH の濃度を RIA により測定した。

29 毒性所見を表 19 に示した。

0.5 及び 5 mg/kg 体重/日投与群では、月経周期に対する投与の影響はみられなかつ
た。一方、50 mg/kg 体重/日投与群では月経周期がほぼ完全に停止し、周期性が維持さ

1 れた場合であっても周期長が著しく延長した。

2 排卵率は、対照群、0.5 及び 5 mg/kg 体重/日投与群と同様であったが、50 mg/kg 体
3 重/日投与群では明確に抑制された。

4 対照群及び 5 mg/kg 体重/日投与群におけるエストラジオール分泌の定量的パターン
5 に、差異は観察されなかった。しかしながら、そのパターンは 50 mg/kg 体重/日投与群
6 で変化し、エストラジオール濃度は有意に低下した。対照群、0.5 及び 5 mg/kg 体重/日
7 投与群の LH 及び FSH 濃度並びに分泌パターンは、投与開始前の周期で観察されたも
8 のと同様であったが、50 mg/kg 体重/日投与群では濃度が高く、また、その分泌パター
9 ンも他の投与群と異なっていた。(参照 5、11) [FDA; NADA_RALGRO®, 1989 p. 15-16 D. 1. (Hess,
10 1986)] [FAS 23, p. 5 (Hess, 1986)]

11
12 JECFA は、本試験におけるホルモン作用としての無作用量 (no-hormonal-effect level)
13 を 5 mg/kg 体重/日と設定した。(参照 11) [FAS23, p. 13 COMMENTS]

14
15 FDA は、本試験において、5 mg/kg 体重/日投与群で生殖パラメータに影響がなかつ
16 たことから、本試験におけるホルモン作用としての無作用量 (hormonal no-effect level)
17 を 5 mg/kg 体重/日と設定した。(参照 5) [FDA; NADA_RALGRO®, 1989 p. 15-16 D. 1. (Hess,
18 1986)]

19
20 食品安全委員会動物用医薬品専門調査会は、本試験において、50 mg/kg 体重/日投与
21 群で月経周期の停止又は著しい延長、エストラジオール濃度の低下等がみられたことか
22 ら、NOAEL を 5 mg/kg 体重/日と設定した。

23
24 表 19 サルを用いた 3 月経周期又は 111 日間投与試験における毒性所見

投与量 (mg/kg 体重/日)	雌
50	<ul style="list-style-type: none"> ・月経周期の停止又は著しい延長 ・排卵率の抑制 ・エストラジオール濃度の低下、LH 及び FSH 濃度の上昇並びに分泌パターンの変化
5 以下	毒性所見なし

25 【事務局より】

- ① 著者、実施施設名等から、JECFA と FDA の評価書 (参照 5、11) は、同一の試験の評価を記載していると判断しています。試験の概要は、主に JECFA 評価書の内容を基に記載していますが、FDA 評価書とは一部異なる点がありますので、記載が妥当か、ご確認をお願いします。
- ② NOAEL の根拠とした所見については「月経周期の抑制、エストラジオール濃度の低下等」とまとめていますが、特記する内容について、ご確認をお願いします。

【寺岡専門委員】

- ① 両評価書で矛盾している場合は他の根拠がない限り記載しない方が無難と思います。もし整合性がとれるのであれば、それとわかるよう簡単な説明を加えることで記載していただきたいです。

【青山専門委員】

- ・高用量群では、多くの個体で月経周期が完全に停止したため、投与期間を月経周期数で表すことができなくなった結果、「3月経周期又は111日間投与」という表現になっていると思います。
- ・(月経周期における毒性について) 参照資料の記載は、「(50 mg/kg 群では6匹の個体でそれぞれ3月経周期を観察する計画であったが,) 延べ18周期中の2周期(約11%)で著しい月経周期の延長が観察されたに過ぎず、残る16周期(約89%)は欠落した」と解釈できます。恐らく、6匹中の2匹に極めて長い月経周期(周期長は76.5日)が1回ずつ観察されたのみで、残る4匹では月経周期が完全に停止したものと考えられます。これで数値もすべて辻褃が合います。

調査事業

(4) 生殖毒性メカニズムの解析に関する試験(マウス)

マウス(ICR系、雌7~9匹/群)にゼラノールを4日間(妊娠13.5~16.5日)強制経口投与(0、1、10、100 mg/kg 体重/日)する試験が実施された。

ゼラノールの投与は、母動物の肝臓重量には影響を及ぼさなかったが、体重増加量は10 mg/kg 体重/日以上投与群で有意に抑制された。マウス1匹当たりの平均出産児(live newborn)数は、10 mg/kg 体重/日以上投与群で有意に低下した。各投与群と対照群との比較では、胎児吸収(fetal resorption)及び早産が、有意かつ投与量に相関して増加した。

母体循環(maternal circulation)における血漿中のテストステロン、エストロゲン及びプロゲステロン量をELISAで測定したところ、10 mg/kg 体重/日以上投与群ではテストステロン濃度が対照群と比べて有意に低かった。また、エストラジオール濃度には各投与群と対照群の間に有意な差はなかったものの、100 mg/kg 体重/日投与群ではプロゲステロン濃度が対照群の値より有意に高かった。

妊娠17.5日に採取した胎盤では、細胞周期の調節に関与するCyclin D1及びCdk4並びにアポトーシスの誘導に関与するBcl-xLの有意な発現低下が、10 mg/kg 体重/日以上投与群で観察された。また、MAPキナーゼの活性化を調べたところ、100 mg/kg 体重/日投与群ではErk-1のリン酸化の促進が、10 mg/kg 体重/日以上投与群ではErk-2のリン酸化の抑制がそれぞれ観察された。(参照14) [(Wang et al., 2013)]

【事務局より】

調査事業の記載案に、エストラジオール濃度について追記しています。その他、各所見がみられた用量についても加筆修正等しています。

記載した所見に誤りや過不足等がないか、ご確認をお願いします。

<参考；H30 調査事業の検討委員会による留意点>

母マウスの肝重量などの非特異的な毒性がない用量で、吸収胚など特異的な発生毒性を見ている。NOAELの評価にも使える。ただし、病理組織を調べておらず、毒性メカニズムが胎盤に対する影響であるかについて、結論づけるには、足りない点がある。

【青山専門委員】

この試験は早産が引き起こされるメカニズムを解析しようとしたものであって、発生毒性試験とは言い難いと思います。また、投与期間が短くて器官形成期全体をカバーできていませんし、評価指標も限定的ですので、発生毒性に関する NOAEL/LOAEL を導くことはできないと思います。

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36

9. その他の試験

(1) 子宮肥大試験（マウス）及びエストロゲン受容体との親和性に関する特殊試験 (*in vitro*)

① 子宮肥大試験（マウス）

8週齢で卵巣を摘出して約1か月後のマウス（ICR系、6又は7週齢、体重約35g、10～11匹/群）にゼラノール（0.5、2、10、50、100 mg/kg 体重/日）又はエストラジオール-17β（0.5、10、100、1,000 ng/kg 体重/日）が3日間皮下投与された。事務局

ゼラノールの全投与群で、体重変化はみられなかった。

ゼラノールの全投与群及びエストラジオール-17βの100 ng/kg 体重/日以上投与群で、用量依存的に子宮の湿重量及び実質重量が有意に増加した。（参照15）[(Takemura et al., 2007)]

② エストロゲン受容体との親和性に関する特殊試験 (*in vitro*)

*in vitro*にて、ゼラノール及びエストラジオール-17βのヒトエストロゲン受容体α (ERα) 及びエストロゲン受容体β (ERβ) に対する結合親和性が検討された。ゼラノール及びエストラジオール-17βのERαとのIC₅₀は、それぞれ2.18及び~~×10⁻⁸~~、1.04×10⁻⁸ μmol/Lであった。また、ゼラノール及びエストラジオール-17βのERβとのIC₅₀はそれぞれ4.28及び~~×10⁻⁸~~、1.00×10⁻⁸ μmol/Lであった。ゼラノールのERα及びERβに対する相対結合性はそれぞれエストラジオール-17βの48及び~~%~~、23%に相当した。（参照15）[(Takemura et al., 2007)] 第228回

以上から、*in vitro*に比べ *in vivo*では、エストラジオール-17βと比較した場合のゼラノールのエストロゲン様作用は減弱すると考えた。 第228回

(2) エストロゲン様力価に関する特殊試験（ラット）

性的に未成熟なラット（系統及び匹数不明、雌）における子宮に対する反応により、エストラジオール-17βを用いて、ゼラノール並びにその代謝物であるゼアララノン及びタレラノールのエストロゲン様力価を比較検討した。

経口投与によるゼラノール、ゼアララノン及びタレラノールのエストロゲン様力価は、それぞれエストラジオール-17βの1/150、1/400及び1/350であった。皮下投与では、ゼラノールのエストロゲン様力価は、エストラジオール-17βの1/500であった。（参照11）[FAS 23, p.4 (Everett et al., 1987c)]

(3) 卵巣摘出サルを用いた試験

両側の卵巣を摘出して11週後のサル（カニクイザル、雌18匹）にゼラノール

1 (0.2%CMC 水溶液) を 13 週間経口投与 (0.05、0.5 又は 5 mg/kg 体重/日に相当) し、
 2 ホルモン作用が検討された。対照群は設定されなかった。臨床化学的検査、血液学的検
 3 査及び尿検査が、投与 1 か月前並びに投与開始 1 及び 3 か月後に実施された。血清中の
 4 インスリン及び TSH 濃度が、投与前、投与 1 及び 3 か月後に測定された。FSH 濃度は、
 5 最終投与 4 週間までの試験期間を通じて、基本的に毎週測定された。

6 臨床化学的検査、血液学的検査及び尿検査のパラメータは正常値の範囲内であった。

7 血清中のインスリン及び TSH の濃度に投与による影響は観察されなかった。FSH は
 8 初回投与後 24 時間にいくらかの変動を示したが、二相性反応はみられなかった。試験
 9 期間中に測定された FSH は変動し、一貫した減少は観察されなかった。

10 試験中のベースライン測定及び膺の上皮細胞による成熟指数測定では、0.5 mg/kg 体
 11 重/日以上投与群でエストロゲン様作用が示唆された。この影響は、0.05 mg/kg 体重/日
 12 投与群では明らかではなかった。(参照 11) [FAS 23, p. 4 (Singh et al., 1984a; CIC, 1985)]

13 JECFA は、ホルモン作用としての無作用量 (no-hormonal-effect level) を 0.05 mg/kg
 14 体重/日と設定し、本試験の結果を基に ADI を設定した。(参照 11) [FAS23, p. 13
 15 COMMENTS, EVALUATION]

16 17 ~~-(4) 精巣毒性に関する特殊試験 (マウス) 第 228 回 →削除~~

18 ~~マウス (Kunming 系、雄 10 匹/群) にゼラノールを 35 日間強制経口投与 (0、25、~~
 19 ~~50、100 mg/kg 体重/日) し、精巣毒性が検討された。~~

20 ~~摂餌量及び摂水量並びに一般状態については、投与群において特段の異常はみられな~~
 21 ~~かった。~~

22 ~~投与開始 8~15 日後、50 mg/kg 体重/日投与群 3 匹及び 100 mg/kg 体重/日投与群 4~~
 23 ~~匹で陰嚢が腫張 (pseudo scrotal swelling ※Result にのみ pseudo の記載あり) した。~~
 24 ~~陰嚢の腫張がみられた個体のうち、50 mg/kg 体重/日投与群 1 匹及び 100 mg/kg 体重/日~~
 25 ~~投与群 2 匹を、投与開始後 15 日目に剖検したところ、全ての個体で、腸の一部が陰嚢~~
 26 ~~に嵌入 (trapped in the scrotum) していた。その他の投与を続けた 4 匹では、35 日目~~
 27 ~~までに、腫張は消失した。~~

28 ~~最終投与から 24 時間後の剖検において、投与群の心臓、肝臓、肺及び腎臓に特段の異~~
 29 ~~常はみられなかった。~~

30 ~~体重は投与期間中に週 1 回測定され、対照群においては均等に増加した。投与群にお~~
 31 ~~いては、投与後半に増加量が緩やかになったが、対照群と有意な差はみられなかった。~~

32 ~~精子形成への影響が検討された。全投与群で、精巣上体の精子数が有意に減少した。~~
 33 ~~50 mg/kg 体重/日以上投与群では、精子の運動性が有意に低下した。投与群において、~~
 34 ~~精子の奇形発現率は増加傾向を示したものの有意差はなかった。~~

35 ~~精巣及び精嚢への影響が検討された。全投与群で、大きさ及び重さの減少を伴う精嚢~~
 36 ~~の萎縮 (少量の精子と精嚢腺液を含む) がみられた。また、精嚢の重量及び重量の体重~~
 37 ~~比は、全投与群で対照群と比べ有意に減少した。精巣の重量及び重量の体重比は、100~~
 38 ~~mg/kg 体重/日投与群で有意に減少したが、精巣上体の重量及び重量の体重比は、投与群~~
 39 ~~と対照群に有意差はなかった。~~

40 ~~HE 染色による精巣の組織所見では、対照群と比較して、25 mg/kg 体重/日以上投与~~

1 群で精上皮の減少がみられた。50 mg/kg 体重/日以上投与群では、精子形成細胞の不規
2 則な配列がみられ、精巣精細管内部において、剥離細胞塊が発現し、成熟精子の減少が
3 みられた。100 mg/kg 体重/日投与群では、精巣精細管内部のタンパク様液の貯留がみら
4 れた。

5 対照群及び100 mg/kg 体重/日投与群の各3例について、透過型電子顕微鏡を用いて
6 精巣組織の病理学的変化を観察したところ、100 mg/kg 体重/日投与群で、セルトリ細胞
7 及びライディッヒ細胞に、核膜の崩壊を伴った傷害や、脂質滴の増加による核周囲領域
8 及び細胞隙間の拡大がみられたが、精子の微細構造について異なる変化は見られなかつ
9 た。

10 投与開始35日後に、血清のホルモンレベル (T、FSH、LH) について、RIAにより
11 検出した。血清T及びFSHについては50 mg/kg 体重/日以上投与群で、血清LHにつ
12 いては100 mg/kg 体重/日投与群で、対照群と比べて有意に低下した。また、精巣Tに
13 ついても検討され、全投与群において対照群と比べて有意に低下した。(参照16)

10. ヒトにおける知見

16 ヒトにおける知見及び一般薬理試験の成績は得られていない。寺岡専門委員

1 Ⅲ. 国際機関等における評価 事務局

2 1. JECFA の評価

3 JECFA は、第 26 回会合（1982 年）でゼラノールについて検討したが、~~必要な~~残留
4 データ、ゼラノール使用に関連した適正家畜飼育（good animal husbandry）及び分析
5 方法の詳細が得られていなかったため、その時点では評価ができなかった。第 27 回会
6 合（1983 年）において、JECFA は適正家畜飼育行動規範（good animal husbandry
7 practice）に従~~って~~、食用肉生産のため~~に~~の同化剤として~~の~~ゼラノール~~を~~の使用~~するこ~~
8 ~~と~~を暫定的に受け入れ、(1)非ヒト霊長類~~（non-human primates）~~におけるホルモン~~作~~
9 ~~用としての活性に対する~~NOEL（no-effect level for hormonal activity）を~~確~~設定する
10 ために実施中であった試験及び(2)~~2 種類~~のげっ歯類 ~~2 種~~を用いた十分な発がん性試験
11 の結果の提出を求めた。

12 第 32 回会合（1988 年）では、~~牛に使用する~~ゼラノール~~の牛における使用~~についての
13 ~~み~~が評価が行われ、ゼラノールの発がん作用は、そのエストロゲン様作用に関係してお
14 り、また、腫瘍に関連したホルモン~~作用としての~~NOEL（no-hormonal-effect
15 level）を決定することにより、ゼラノールのばく露に対する安全レベル（safe levels of
16 exposure）の推定が可能となると結論した。

17 JECFA は、卵巣を摘出したサルがエストロゲン様物質に高い感受性を示すことから、
18 卵巣を摘出したサルにおけるホルモン~~作用としての~~NOEL（level causing no
19 hormonal effect）0.05 mg/kg 体重/日を根拠に、安全係数として 100 を適用し、ADI を
20 0.5 µg/kg 体重/日と設定した。Ⅱ. 9. (3)（参照 11、17）[FAS 23, p. 13 COMMENTS, EVALUATION]
21 [TRS763, p. 26-28]

22

23 2. EU 欧州の評価

24 1989 年に、EC は、成長促進を目的とする、抗甲状腺、エストロゲン又は黄体ホルモ
25 ン活性を有する物質の家畜への投与を禁止~~した~~。~~結果としてであり~~、食肉の生産におい
26 て成長促進を目的として、エストラジオール-17β、プロゲステロン、テストステロン、
27 ゼラノール、酢酸トレンボロン及び酢酸メレンゲステロールを単独又は併用で使用す
28 ること~~が~~を禁止~~された~~している。1999 年に、SCVPH は、~~1999 年に~~これら 6 種類のホル
29 モンのいずれにも閾値を設定することはできないとの意見を取りまとめた。ゼラノール
30 については、利用可能な情報はゼラノールを投与された動物由来の食肉及び食肉製品
31 の消費者に対するリスクを定量的に推定するには不十分であるとされた（参照 18）[EC
32 Opinion 1999, p.1, 72-73]。その後、この意見について、EC は 2000 及び 2002 年の 2 度
33 にわたって再検討したが、結論は変わらないとした。（参照 19、20）[EC Review 2000]
34 [EC Opinion 2002, p. 21-22]

35 EFSA は、2007 年に、エストラジオール-17β を除く 5 種類のホルモンについて、
36 2000 年から 2007 年はじめまで EC による再検討以降に得られた科学文献の評価を行
37 った。リスクの特徴付け（risk characterization）に必要な定量的情報が不十分であっ
38 たことから、SCVPH の意見の改訂は行われなかった。（参照 21）[EFSA Journal 2007]
39

1 3. 米国の評価

2 FDA では、1989年に、ゼラノールの総全残留量に対する組織ごとの安全濃度 (tissue
3 safe concentrations for total residue) が設定され、連邦規則集 (CFR) 第 21 巻に示さ
4 れていたが、2001 年の新規動物用医薬品の承認時に、これらの値は時代遅れの組織ごと
5 の消費率を用いて計算されていたものである (calculated using the now obsolete tissue
6 consumption factor) とされ、2002 年 2 月に CFR 第 21 巻の記載が削除され、代わり
7 に 1989 年に評価済みであった ADI が示された。(参照 22、23) [67 FR 6867, Feb. 14,
8 2002] [FDA; NADA_RALGRO® LA, 2001 p.5]

9 ゼラノールの ADI は、ラットを用いた 104 週間慢性毒性/発がん性併合試験において、
10 エストロゲン様作用がみられたことから NOEL を 0.125 mg/kg 体重/日とし、安全係数
11 100 を適用し、1.25 µg/kg 体重/日と設定されている。II. 6. (3) (参照 3、23、24)
12 [FDA; NADA_RALGRO®, 1989 p.13] [FDA; 21eCFR556.760, 2019] 寺岡専門委員

13

14 4. 豪州の評価

15 豪州政府は、1985 年、1986 年及び 1988 年に、ゼラノールの評価を行った。ラット
16 を用いた 2 年間の混餌投与試験 (試験の詳細不明) において、子宮頸部の重層扁平上皮
17 (cervical stratified squamous epithelium) がみられたことから NOAEL⁴⁶を 0.015
18 mg/kg 体重/日とし、安全係数 100 を適用し、ゼラノールの ADI を 0.2 µg/kg 体重/日と
19 設定している。(参照 25、26) [Australia; ADI LIST, 2019] [Australia; Review, 2003, p28-
20 30]

21

22

23

⁴⁶ 参照 26 には「NOEL」と記載されている。

1 IV. 食品健康影響評価

2 ホルモン剤であるゼラノールについて食品健康影響評価を実施した。

3 各動物種を用いた代謝試験の結果から、ゼラノールはゼアララノン及びタレラノール
4 に代謝され、その後、遊離体及び抱合体（グルクロン酸及び又は硫酸抱合体）として排
5 泄されることが示された。II. 1. (4)

6 牛を用いた残留試験の結果から、³H 標識ゼラノールを耳下に皮下移植投与（30 mg/
7 頭）した牛の可食組織中の残留濃度は、投与後のいずれの時点においても極めて低く、
8 最も高い肝臓でも 10 ng eq/g を超えなかった。各組織中の残留濃度は、いずれも投与 5
9 ～15 日後に最高値に達し、その後投与 65 日後まで漸減した。II. 2. (1) ①

10 ~~マウスを用いた子宮肥大試験の結果、ゼラノールの全投与群 (0.5 mg/kg 体重/日以上)~~
11 ~~及びエストラジオール-17β の 100 ng/kg 体重/日以上投与群で、子宮の湿重量 (wet~~
12 ~~weight) 及び実質重量 (blotted weight) が有意に増加した。また、in vitro でゼラノ~~
13 ~~ール及びエストラジオール-17β の ERα 及び ERβ に対する結合親和性を検討した結果、ゼ~~
14 ~~ラノールの ERα 及び ERβ に対する相対結合性はそれぞれエストラジオール-17β の 48%~~
15 ~~23% に相当した。II. 9. (1) さら~~、~~ラットを用いて子宮に対する反応 (uterotropic~~
16 ~~response) によりエストロゲン力価 (estrogenic potency) を検討した結果では、ゼラノ~~
17 ~~ールのエストロゲン様力価は、エストラジオール-17β と比較して、経口投与では 1/150、~~
18 ~~皮下投与では 1/500 であった。II. 9. (2) 事務局~~

19 各種遺伝毒性試験においては、ゼラノールの *B. subtilis* を用いた Rec アッセイで陽性
20 の結果が得られたが、DNA 結合試験 (DNA binding assay) 及び SOS-クロモ試験では陰
21 性であり、*in vivo* の細胞遺伝学的試験 (Bone marrow cytogenic assay) でも陰性の結果が
22 得られたことから、ゼラノールは生体にとって特段問題となる遺伝毒性はないと考えた。
23 よって、ADI を設定することは可能であると判断した。II. 3.

24 ゼラノールの投与による主な影響として、生殖器の機能的又は器質的な所見等、ホル
25 モン影響を示唆する所見が各種毒性試験に共通してみられ、ゼラノールは弱いエストロ
26 ゲンであることが示された。催奇形性はみられなかった。

27 マウスを用いた慢性毒性/発がん性併合試験では、2.3 mg/kg 体重/日投与群の雌雄で
28 エストロゲン様作用がみられ、雄では下垂体前葉腺腫の発生頻度が上昇における腫瘍原
29 性作用 (tumourogenic effect) を示した。この下垂体でみられた腫瘍性変化はある系
30 統のマウスへのエストロゲン投与と関連することが報告されており、エストラジオール
31 -17β を投与した陽性対照群では、投与群又は陰性対照群より発生頻度が高かったことか
32 ら、ゼラノールの発がん作用はエストロゲン様作用と関連しており、腫瘍に関連したホル
33 モン作用としての無作用量を決定することによって、食品を介した安全性について推
34 定を行い、ADI を設定することが可能であると判断した。II. 6. (1) 事務局

35 ラットを用いた 104 週間試験慢性毒性/発がん性併合試験において、雄では毒性所見
36 はみられなかったが、1.3 mg/kg 体重/日投与群の雌で子宮の拡張及び黄体嚢胞の減少が
37 みられたことから、雌の NOAEL を 0.13 mg/kg 体重/日とした。II. 6. (3)

38 ラットを用いた 1 世代繁殖試験では、親動物の全投与群で、~~雌雄の肝臓~~、雄の精囊及
39 び雌の卵巣の絶対及び相対重量の低下等がみられたことから、親動物に対する LOAEL
40 を 0.013 mg/kg 体重/日とした。また、児動物については 12.5ppm 以上投与群で体重増

1 加抑制がみられたことから、NOAELを0.18 mg/kg/日とした。 Ⅱ. 7. (1) 事務局

2

3

※ 以降は議論を踏まえ追記予定

4

5

【事務局より】

- ① 事務局案として、最も低いLOAELを採用の上で安全係数を200としています。
 - ・ADI設定根拠とする試験が妥当か（他試験のNOAEL等を採用するか、その場合の理由は）
 - ・安全係数は妥当か（追加の安全係数2～10(計200～1000)を付与するか）という観点から、ご確認をお願いします。
- ② エストラジオールとの比較に係るその他の試験（Ⅱ.9.(1)及び(2)）においては、記載位置及び記載内容の過不足（分量が少し多いかもしれません）等について、ご確認をお願いします。

【寺岡専門委員】

おおむね事務案に賛成いたします。ただ、P.55Ⅱ. 9. (1)に係る一文（また、*in vitro*で...相当した。）は食品健康影響評価の記述としては特に必要でないかもしれません。

【事務局より】

24-26 行目にゼラノールの主な影響についてまとめて記載をしているため、その他の試験に係る記載を削除しました。

6

7

1 表 20 JECFA 及び食品安全委員会動物用医薬品専門調査会における各種試験の無毒性量等
2 の比較

動物種	試験	投与量 (mg/kg 体重/日)	無毒性量 (mg/kg 体重/日)		
			JECFA (1988)	FDA (1989)	食品安全委員会 動物用医薬品専門調査会
マウス	8週間亜急性毒性 5. (1)	0、1、5、25、50、 100ppm (混餌投与)	—	/	雄：15 毒性所見なし 雌：0.75 卵巣の絶対及び相対重量の減少
	104週間慢性毒性/ 発がん性併合 6. (1)	0、0.15、1.5、15ppm (混餌投与)	—	0.225 ホルモン 作用	0.23 雄で副腎の被膜下過形成の増加等、 雌で子宮頸管及び膈上皮の粘液産 生の増加等
ラット	104週間慢性毒性/ 発がん性併合 6. (3)	0、0.25、2.5、25ppm (混餌投与)	—	0.125 エストロ ゲン様作 用	雄：1.3 毒性所見なし 雌：0.13 子宮の拡張、黄体嚢胞の減少
	1世代繁殖 7. (1)	0、0.25、1.77、12.5、 25ppm (混餌投与)	—	—	親：0.013 (LOAEL) 雌雄の肝臓 、雄の精囊及び雌の卵 巣の絶対及び相対重量の低下等 児： 0.18 事務局 体重増加抑制
	2世代繁殖 7. (2)	0、0.3、3、30ppm (混餌投与)	—	0.25(repro duction no-effect level)	親：0.15 児：0.3 体重低下等
イヌ	104週間慢性毒性 6. (6)	0、1、100、1,000ppm (混餌投与)	—	—	2.5 嚢胞の減少を伴う卵巣の高度の萎 縮、子宮及び前立腺における扁平上 皮化生及び炎症性変化、並びに膀胱 の慢性炎症性変化等
	7年間慢性毒性 6. (7)	0、15、38 (循環法 91 サイク ル：経口カプセル投 与) ※雌のみ	—	/	15 (LOAEL) 卵巣の平均及び相対重量の増加等
サル	10年間慢性毒性 6. (8)	0、15、75 (循環法 131 サイク ル：強制経口投与) ※雌のみ	—	/	15 (LOAEL) 体重増加抑制、外性子宮内膜症等
	3月経周期投与 8. (2)	0、0.05、0.5、5 (経口投与) ※雌のみ	5 ^c	/	— ^a
	3月経周期又は111 日間投与 8. (3)	0、0.5、5、50 (経口投与) ※雌のみ	5 ^c	5 ^c	5 月経周期の停止又は著しい延長、エ ストラジオール濃度の低下等

動物種	試験	投与量 (mg/kg 体重/日)	無毒性量 (mg/kg 体重/日)		
			JECFA (1988)	FDA (1989)	食品安全委員会 動物用医薬品専門調査会
	卵巣摘出サルを用いた試験 9. (3)	0.05、0.5、5 (経口投与) ※卵巣摘出雌	0.05 ^c エストロ ゲン様作 用		— ^b
	毒性学的 ADI		0.0005 mg/kg NOEL : 0.05 SF : 100	0.00125 mg/kg NOEL : 0.125 SF : 100	
	毒性学的 ADI 設定根拠資料		サル (卵巣 摘出雌) の 13 週間経 口投与試 験	ラットの 104 週間慢 性毒性/発 がん性併 合混餌投 与試験	
	ADI		0.0005	0.00125	

- 1 a : 陽性対照を含む全投与群で投与の影響がみられなかったことから、本試験条件下では被験物質の
2 エストロゲン作用を検出できなかったと判断した。
3 b : 卵巣摘出サルを用いてホルモン作用を検討した試験であることから、9. その他の試験とした。
4 c : ホルモン作用としての無作用量 (no-hormonal-effect level/hormonal no-effect level)
5 — : 評価書に報告なし

6
7

1 <別紙 1 : 代謝物名称>

一般名	化学名
Zearalanone	(3 <i>S</i>)-3,4,5,6,9,10,11,12-octahydro-14,16-dihydroxy-3-methyl-1 <i>H</i> -2-benzoxacyclotetradecin-1,7(8 <i>H</i>)-dione
Taleranol (β-zearalanol)	(3 <i>S</i> ,7 <i>S</i>)-3,4,5,6,7,8,9,10,11,12-decahydro-7,14,16-trihydroxy-3-methyl-1 <i>H</i> -2-benzoxacyclotetradecin-1-one

2

3

4

1 <別紙2：検査値等略称>

略称等	名称
ADI	Acceptable Daily Intake：許容一日摂取量
ALT	Alanine transaminase：アラニンアミノトランスフェラーゼ [=Glutamic Pyruvic Transaminase：グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ（GPT）]
CMC	Carboxymethyl cellulose：カルボキシルメチルセルロース
CYP	Cytochrome P450：チトクローム P450
EC	European Commission：欧州委員会
EFSA	European Food Safety Authority：欧州食品安全機関
FDA	Food and Drug Administration：米国食品医薬品庁
FSH	Follicle stimulating hormone：卵胞刺激ホルモン
Glu	Glucose：グルコース（血糖）
HPLC	High pressure liquid chromatography：高速液体クロマトグラフィー
Hb	Hemoglobin：ヘモグロビン量（血色素量）
Ht	Hematocrit：ヘマトクリット値
JECFA	The Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives：FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議
LC-DAD-MS	Liquid Chromatography - Diode Array Detector - Mass Spectrometry：液体クロマトグラフィー・ダイオードアレイ検出器・質量分析
LD ₅₀	Lethal Dose 50：半数致死量
LH	Luteinizing hormone：黄体形成ホルモン
LOAEL	Lowest Observed Adverse Effect Level：最小毒性量
NOAEL	No Observable Adverse Effect Level：無毒性量
NOEL	No Observable Effect Level：無作用量
RBC	Red blood cell：赤血球数
RIA	Radioimmunoassay：放射免疫測定法
SCVPH	The Scientific Committee on Veterinary Measures relating to Public Health
T	Testosterone：テストステロン
T.Chol	Total Cholesterol：総コレステロール
TG	Triglyceride：トリグリセリド
TSH	Thyroid stimulating hormone：甲状腺刺激ホルモン
UGT	UDP (uridine 5'-diphosphate) glucuronosyltransferase：UDP - グルクロン酸転移酵素
WBC	White blood cell：白血球数

2

3

1 <参照>

- 2 1. 食品、添加物等の規格基準（昭和 34 年厚生省告示第 370 号）の一部を改正する件
3 （平成 17 年 11 月 29 日付、厚生労働省告示第 499 号）
- 4 2. The Merck Index, 15th Ed., 2013. [Merck Index]
- 5 3. JECFA: Zeranol: Residues of some veterinary drugs in foods and animals. FAO
6 Food and Nutrition Paper, 41-1, 1987. [FNP41]
- 7 4. 食品安全委員会: 牛の成長促進を目的として使用されているホルモン剤（肥育ホルモ
8 ン剤）。ファクトシート, 2007. [食安委 ファクトシート]
- 9 5. FDA: XI. Freedom of information summary, Ralgro® brand of zeranol implants:
10 NADA38-233 V, 1989 [FDA: NADA_RALGRO®, 1989]
- 11 6. Migdalof BH, Dugger HA, Heider JG, Coombs RA, Terry MK: Biotransformation of
12 zeranol: disposition and metabolism in the female rat, rabbit, dog, monkey and man.
13 Xenobiotica, 1983; 13(4): 209-221 [(Migdalof, et al., 1983)]
- 14 7. Bories G, Suarez AF: Profiling of free and conjugated [³H] zeranol metabolites in pig
15 plasma. J Chromatogr, 1989; 489(1): 191-197 [(Bories et al., 1989)]
- 16 8. Pfeiffer E, Hildebrand A, Mikula H, Metzler M: Glucuronidation of zearalenone,
17 zeranol and four metabolites *in vitro*: Formation of glucuronides by various
18 microsomes and human UDP-glucuronosyltransferase isoforms. Mol Nutr Food Res,
19 2010; 54(10): 1468-1476 [(Pfeiffer et al., 2010)]
- 20 9. Bories GF, Perdu-Durand EF, Sutra JF, Tulliez JE: Evidence for glucuronidation
21 and sulfation of zeranol and metabolites (taleranol and zearalanone) by rat and pig
22 hepatic subfractions. Drug Metab Dispos, 1991; 19(1): 140-143 [(Bories et al., 1991)]
- 23 10. Hildebrand A, Pfeiffer E, Metzler M: Aromatic hydroxylation and catechol
24 formation: A novel metabolic pathway of the growth promotor zeranol. Toxicol Lett,
25 2010; 192(3): 379-86 [(Hildebrand et al., 2010)]
- 26 11. JECFA: Zeranol: Toxicological evaluation of certain veterinary drug residues in food.
27 WHO Food Additives Series, No. 23. Cambridge University Press, 1988, nos 646 on
28 INCHEM. [FAS23]
- 29 12. Pylkkanen L, Jahnukainen K, Parvinen M, Santti R: Testicular toxicity and
30 mutagenicity of steroidal and non-steroidal estrogens in the male mouse. Mutat Res,
31 1991; 261(3): 181-191 [(Pylkkanen et al., 1991)]
- 32 13. 厚生労働省: 畜水産食品中に残留する動物用医薬品の基準設定に関する分科会報告
33 [分科会報告]
- 34 14. Wang Y, Li L, Wang CC, Leung LK: Effect of zeranol on expression of apoptotic and
35 cell cycle proteins in murine placentae. Toxicology, 2013; 314(1): 148-154 [(Wang et
36 al., 2013)]
- 37 15. Takemura H, Shim JY, Sayama K, Tsubura A, Zhu BT, Shimoi K: Characterization
38 of the estrogenic activities of zearalenone and zeranol in vivo and in vitro. J Steroid
39 Biochem Mol Biol, 2007; 103(2): 170-177 [(Takemura et al., 2007)]
- 40 16. Bo C, Zhao W, Jia Q, Yang Z, Sai L, Zhang F, Du Z, Yu G, Xie L, Zhang Z: Effects of

- 1 α -zearalanol on spermatogenesis and sex hormone levels of male mice. *Int J Clin*
2 *Exp Med*, 2015; 8(11): 20002-20013 [[Bo et al., 2015](#)]
- 3 17. JECFA: Zeranol: Evaluation of certain veterinary drug residues in food. Thirty-
4 second report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. WHO
5 Technical Report Series, 1988; 763 [[TRS763](#)]
- 6 18. EUROPEAN COMMISSION: Opinion of the scientific committee on veterinary
7 measures relating to public health. Assessment of potential risks to human health
8 from hormone residues in bovine meat and meat products. 1999 [[EC opinion 1999](#)]
- 9 19. EUROPEAN COMMISSION: Review of specific documents relating to the SCVPH
10 opinions of 30 April 99 on the potential risks to human health from hormone
11 residues in bovine meat and meat products. 2000 [[EC review 2000](#)]
- 12 20. EUROPEAN COMMISSION: Opinion of the scientific committee on veterinary
13 measures relating to public health on review of previous SCVPH opinions of 30 April
14 1999 and 3 May 2000 on the potential risks to human health from hormone residues
15 in bovine meat and meat products. 2002 [[EC opinion 2002](#)]
- 16 21. EFSA: Opinion of the scientific panel on contaminants in the food chain on a request
17 from the European Commission related to hormone residues in bovine meat and
18 meat products. *The EFSA Journal*, 2007; 510: 1-62. [[EFSA Journal2007](#)]
- 19 22. FDA: Federal Register, 2002; Vol.67,No.31: 6867 [[67 FR 6867, Feb. 14, 2002](#)]
- 20 23. FDA: Freedom of information summary, Original new animal drug application:
21 NADA141-192, Zeranol Long Acting (Ralgro® LA), 2001 [[FDA: NADA_RALGRO® LA,](#)
22 [2001](#)]
- 23 24. FDA: Title 21, Electronic Code of Federal Regulations, part 556.760, 2019 [[FDA;](#)
24 [21eCFR556.760, 2019](#)]
- 25 25. Australian Government. Australian Pesticides and Veterinary Medicines
26 Authority: Acceptable Daily Intakes (ADI) for agricultural and veterinary chemicals
27 used in food producing crops or animals. Edition 1/2019, current as of 31 March
28 2019 [[Australia: ADI LIST, 2019](#)]
- 29 26. Department of Health and Ageing (Australia): A review to update Australia's
30 position on the human safety of residues of hormone growth promotants (HGPs)
31 used in cattle. 2003 [[Australia: Review, 2003](#)]
- 32