

（案）

動物用医薬品評価書

ゼラノール

【事務局より】

赤字：第 229 回開催前の修正（未審議分）。

青字：第 229 回資料からの修正。

2020年5月

食品安全委員会動物用医薬品専門調査会

目 次

	頁
○ 審議の経緯	6
○ 食品安全委員会委員名簿	6
○ 食品安全委員会動物用医薬品専門調査会専門委員名簿	6
○ 要約	8
I. 評価対象動物用医薬品の概要	9
1. 用途	9
2. 有効成分の一般名	9
3. 化学名	9
4. 分子式	9
5. 分子量	9
6. 構造式	9
7. 使用目的及び使用状況	9
II. 安全性に係る知見の概要	11
1. 薬物動態試験	11
(1) 代謝試験 (ラット)	11
(2) 代謝試験 (サル)	12
(3) 代謝試験 (牛)	12
(4) 各動物種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)	13
(5) <i>in vitro</i> 代謝試験	14
2. 残留試験	15
(1) ゼラノールの単剤投与	15
(2) 酢酸トレンボロンとの複合投与	18
(3) 残留物	18
3. 遺伝毒性試験	18
4. 急性毒性試験	21
(1) 急性毒性試験 (マウス及びラット)	21
(2) 急性毒性試験 (ラット)	21
5. 亜急性毒性試験	21
(1) 8週間亜急性毒性試験 (マウス)	21
(2) 4日間亜急性毒性試験 (ラット) <参考資料>	22
(3) 6週間亜急性毒性試験 (ラット) <参考資料>	22
(4) 13週間亜急性毒性試験 (ラット) ①<参考資料>	23
(5) 13週間亜急性毒性試験 (ラット) ②<参考資料>	23
(6) 13週間亜急性毒性試験 (ラット) ③<参考資料>	23
(7) 26週間亜急性毒性試験 (ラット) <参考資料>	24

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>	25
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>	27
8	(3) 104 週間慢性毒性/発がん性併合試験 (ラット)	28
9	(4) 104~105 週間慢性毒性試験 (ラット) <参考資料>.....	30
10	(5) 1 年間慢性毒性試験 (イヌ) <参考資料>	31
11	(6) 104 週間慢性毒性試験 (イヌ)	31
12	(7) 7 年間慢性毒性試験 (イヌ)	32
13	(8) 10 年間慢性毒性試験 (サル) 事務局	33
14	7. 生殖発生毒性試験.....	34
15	(1) 1 世代繁殖試験 (ラット) 事務局	34
16	(2) 2 世代繁殖試験 (ラット)	35
17	(3) 3 世代繁殖試験 (ラット) <参考資料>	37
18	(4) 生殖毒性試験 (ラット) <参考資料>	37
19	(5) 発生毒性試験 (マウス) <参考資料>	38
20	(6) 発生毒性試験 (ラット①) <参考資料> 第 229 回	38
21	(7) 発生毒性試験 (ラット②) <参考資料> 第 229 回	38
22	(8) 発生毒性試験 (ウサギ) <参考資料>	38
23	8. ホルモン作用に関する試験.....	39
24	(1) 13 週間投与試験 (サル) <参考資料>	39
25	(2) 3 月経周期投与試験 (サル)	39
26	(3) 3 月経周期又は 111 日間投与試験 (サル)	40
27	(4) 生殖毒性メカニズムの解析に関する試験 (マウス)	41
28	9. その他の試験	41
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>)	41
31	(2) エストロゲン様力価に関する特殊試験 (ラット)	42
32	(3) 卵巣摘出サルを用いた試験.....	42
33	10. ヒトにおける知見.....	42
34		
35	III. 国際機関等における評価.....	43
36	1. JECFA の評価.....	43
37	2. EU の評価.....	43
38	3. 米国の評価	43
39	4. 豪州の評価	44
40		

1	IV. 食品健康影響評価.....	45
2	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	
3	の比較	48
4		
5	・ 別紙 1：代謝物名称	50
6	・ 別紙 2：検査値等略称事務局	51
7	・ 参照	52
8		

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

[2020 年 5 月 18 日 第 230 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)

熊谷 進（委員長*）
佐藤 洋（委員長代理）
山添 康（委員長代理）
三森 国敏（委員長代理）
石井 克枝
上安平浏子
村田 容常

(2017 年 1 月 6 日まで)

佐藤 洋（委員長）
山添 康（委員長代理）
熊谷 進
吉田 緑
石井 克枝
堀口 逸子
村田 容常

(2018 年 6 月 30 日まで)

佐藤 洋（委員長）
山添 康（委員長代理）
山本 茂貴
吉田 緑
石井 克枝
堀口 逸子
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）
小川久美子（座長代理）
青木 博史
石川さと子

島田 美樹
下地 善弘
須永 藤子
辻 尚利

舞田 正志
宮田 昌明
吉田 敏則
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	

(2020 年 4 月 1 日から)

<u>青山 博昭 (座長)</u>	<u>島田 章則</u>	<u>寺岡 宏樹</u>
<u>小川久美子 (座長代理)</u>	<u>島田 美樹</u>	<u>中西 剛</u>
<u>青木 博史</u>	<u>下地 善弘</u>	<u>能美 健彦</u>
<u>石川さと子</u>	<u>須永 藤子</u>	<u>宮田 昌明</u>
<u>石塚真由美</u>	<u>辻 尚利</u>	<u>山本 昌美</u>

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 <第 230 回動物用医薬品専門調査会専門参考人名簿>

9 舞田 正志 (東京海洋大学大学院海洋科学技術研究科教授)

要 約

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. 評価対象動物用医薬品の概要

1. 用途

ホルモン剤

2. 有効成分の一般名

和名：ゼラノール (α -ゼアラノール)

英名：Zeranol (α -zearalanol)

3. 化学名

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

CAS No. : 26538-44-3

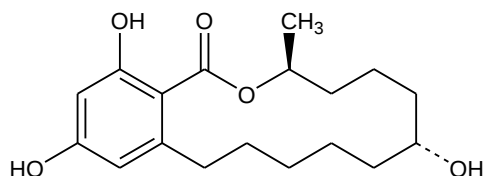
4. 分子式

$C_{18}H_{26}O_5$

5. 分子量

322.40

6. 構造式



(参照 2) [Merck Index]

7. 使用目的及び使用状況

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 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。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ラノール (α -ゼアラノール) を主成分とし、タレラノール (β -ゼアラノール、1.5%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]

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 (クローバー又はアルファルファ) から分離された。[FNP41, p. 38-39]

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、他のホルモン剤と併用される。(参照 3) [FNP41, p. 40]

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）

II. 安全性に係る知見の概要

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な知見を整理した。(参照 3、5～16)

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。

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] 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) [FNP41, p. 40]

1. 薬物動態試験

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。

(1) 代謝試験 (ラット)

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]

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、尿及び糞中の代謝物を同定した。

試験結果を表 1 に示した。

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。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, 1985a)]

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

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。

⁴ 原文「0.1-0.3 mg/kg」をそのまま単位換算した。

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

a : 加水分解前の尿における解析結果

b : 逆相 HPLC カラムにおいて早期に溶出する物質

c : 測定せず

(2) 代謝試験 (サル)

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、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 を用いて肝臓、尿及び糞中の代謝物を同定した。

試験結果を表 2 に示した。

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 3) [FNP41, p. 41 (Mulkey, 1985b)]

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

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%	—

n=4

a : 加水分解後

b : 逆相 HPLC カラムにおいて早期に溶出する物質

c : 測定せず

(3) 代謝試験 (牛)

① ゼラノールの単剤投与

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 標識ゼラノール製剤を皮下移植投与 (36 mg/頭⁶) し、投与 2、5、15、30、45 及び 65 日後の排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。

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。

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 に示した。(参照 3、5) [FNP41, p. 41-42 (Tarr et al., 1984)] [FDA: NADA_RALGRO®, 1989 p. 17-18 F.1. (Tarr et al., 1984)]

⁵ 原文「5 mg/kg」をそのまま単位換算した。

⁶ JECFA 評価書 (参照 3) には「30 mg」と記載されている。

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た。

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）

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る。（参照 3、5） [FNP41, p. 43 (Tarr, et al., 1984; Mulkey, 1985a; Mulkey, 1985b; Migdalof,

et al., 1983)] [FDA; NADA_RALGRO®, 1989 p.17-18,20-21 (F1.Tarr, et al., 1984; F3.Migdalof, et al., 1983; F4.Mulkey, 1985(Project No.905); F5.Mulkey, 1985(Project No.914); F6. H.L.Kim, 1985)]

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 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) [(Migdalof, et al., 1983)]

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及び硫酸抱合体として存在していた。(参照 7) [(Bories et al., 1989)]

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., 1984)] [FDA; NADA_RALGRO®, 1989 p.17-18,20-21 (F1.Tarr, et al., 1984; F6. H.L.Kim, 1985)]

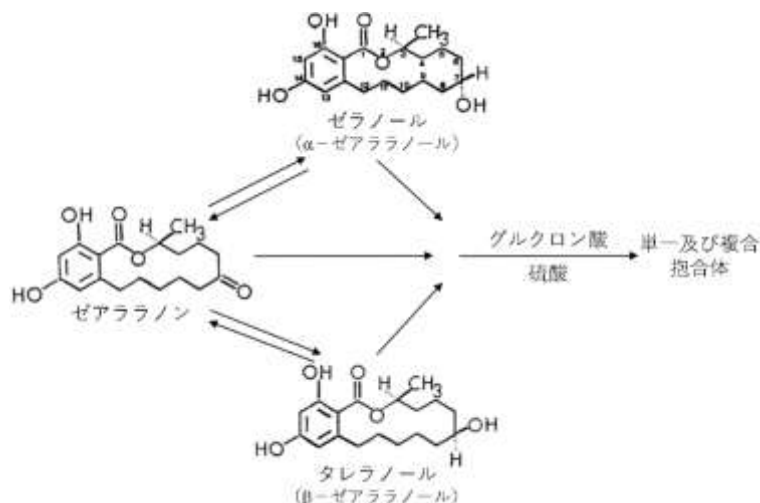


図 1 哺乳動物におけるゼラノールの推定代謝経路⁸

(5) *in vitro* 代謝試験

ラット、牛、豚及びヒトの肝ミクロソーム、ヒトの腸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ールがそれぞれモノグルクロン酸

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。

抱合及びモノ硫酸抱合されることが確認された。(参照 8、9) [(Pfeiffer et al., 2010; Bories et al., 1991)]

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) とともに 37°C でインキュベートされた。

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安定であることが示唆された。

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、ミクロソームに、*N*-acetylcysteine (NAC) を添加したところ、数種のゼラノールの代謝物の NAC 付加体が検出された。

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 (Wistar 系統、雄)、子牛 (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。

また、ゼラノールとヒトリコンビナント CYP (1A1、1A2、1B1、2A6、2B6、2C8、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 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、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)]

2. 残留試験

(1) ゼラノールの単剤投与

① 残留試験 (牛、単回移植⁹)

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 標識ゼラノール製剤を皮下移植投与 (36 mg/頭⁹) し、投与 2、5、15、30、45 及び 65 日後の組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。

結果を表 4 に示した。

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。

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)

[FNP41, p.41-42 (Tarr et al., 1984)] [FDA: NADA_RALGRO®, 1989 p.17-18 F.1. (Tarr et al., 1984)]

⁹ JECFA 評価書 (参照 3) には「30 mg」と記載されている。

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

n=3

a：腎周囲脂肪

b：資料中では空欄

② 残留試験 (牛、単回移植②)

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 0.121 ng/g、肝臓 0.373 ng/g、腎臓 0.110 ng/g) により測定された。

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 及び 0.157 ng/g であった。(参照 3) [FNP41, p. 44(Dixon & Russell, 1986)]

③ 残留試験 (牛、単回移植③)

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、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 日後の各組織中のゼラノール濃度が測定された。

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 ± 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., 1986)]

④ 残留試験 (牛、単回移植④)

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。

結果を表 5 に示した。

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。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 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 F.2. (Wilkes et al., 1984)]

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。

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

n=6

⑤ 残留試験 (牛、反復移植)

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) 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 (検出限界 : 0.5 ng/g) により分析した。

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った。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 (IMC, undated)]

⑥ 残留試験 (牛、単回移植又は反復静脈内)

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 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。

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

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

NA : 分析せず

a : 投与 5 日後に試料採取
b : 最終投与 3 日後に試料採取

(2) 酢酸トレンボロンとの複合投与

① 残留試験 (牛) ①

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 Dixon 及び Russell (1983) の RIA により測定された。

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った¹¹。(参照 3) [FNP41, p. 44 (O'Keefe, 1984)]

② 残留試験 (牛) ②

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 (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。

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)]

(3) 残留物

[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、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. 38-39 (Richardson et al., 1985)]

3. 遺伝毒性試験

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, p6-7] [(Pylikkanen et al., 1991)]

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
<i>in vitro</i>	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]

¹¹ 複合投与群又は単剤投与群のいずれか不明。

		<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)	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]
<i>in vivo</i>	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]
	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			

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。

<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 (<i>Tk</i> +/-)	3.13~300 µg/mL (±S9 ¹⁴)	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	1~10,000 µg/plate ¹⁵ (±S9)	陰性 (参照 5、11) [DeGraff, 1983]
	遺伝子突然変異試験	マウスリンフォーマ L5178Y 細胞 (<i>Tk</i> +/-)、-3.7.2C 細胞	20~160 µg/mL (±S9 ¹³)	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]
	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]

¹⁴ JECFA 評価書 (参照 11) には記載がない。

¹⁵ JECFA 評価書 (参照 11) には「1-5,000 µg/plate」と記載されている。

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、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。

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。

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

(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

(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少、雌の子宮重量の増加がみられた。

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れた。(参照 11) [FAS23, p.9 (Albany Medical College, 1980)]

(3) 6 週間亜急性毒性試験 (ラット) <参考資料¹⁸>

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/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/日に増量した。

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る外陰部の腫脹) がみられた。

過敏性、無気力、脱毛、頻尿及び体重増加抑制もみられた。

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、グラーフ

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。

¹⁸ 対照群が設定されていないことから、参考資料とした。

卵胞の欠如、子宮内膜過形成、精嚢の扁平上皮化生及び腎尿細管に石灰化円柱がみられた。(参照 11) [FAS23, p. 9 (IMC, 1980c)]

(4) 13 週間亜急性毒性試験 (ラット) ①<参考資料¹⁹>

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、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施した。

毒性所見を表 11 に示した。

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。

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。

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なかった。

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の増加がみられた。

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/日投与群の雄で腎尿細管に石灰化円柱の有意な増加がみられた。

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 marginal) であり、0.18 mg/kg 体重/日投与群では、投与による影響は観察されなかったと判断した。(参照 11) [FAS23, p. 8-9 (Everett et al., 1983)]

(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)

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。

²⁰ 試験の詳細が不明であることから、参考資料とした。

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。

[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）

[FAS23, p.9 (Williams, 1982)][分科会報告]

(8) 6 週間亜急性毒性試験（イヌ）＜参考資料²⁴＞

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 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 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。）。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、雄の全例には精巢の小型化がみられた。

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 の軽度から高度の増加及びリンパ球の相対的な減少が示された。

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 の軽度の減少並びに赤血球沈降速度の増加がみられた。

病理組織学的検査では、複数の投与群で、雌雄ともに乳管増殖がみられ、雌では膺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/日以上投与群では、骨髓細胞密度及び M/E（骨髓球系/赤芽球系）比の上昇がみられた。（参照 11）

[FAS23, p.9-10 (Williams, 1982)]

(9) 14 週間亜急性毒性試験（イヌ）＜参考資料²⁵＞

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 mg/kg 体重/日」という。）。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。

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、精子形成の停止及び前立腺上皮の萎縮がみられた。（参照 11）

[FAS23, p.10 (Williams, 1982)]

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。

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。

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。

(10) 29 週間亜急性毒性試験 (イヌ) <参考資料²⁶>

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) し、亜急性毒性試験が実施された。

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 の減少、WBC の増加及びリンパ球の減少がみられた。

病理組織学的検査では、1,000ppm 投与群において、精巣の萎縮、前立腺の扁平上皮化生、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の扁平上皮化生もみられた。(参照 11) [FAS23, p. 10 (Williams, 1982)]

(11) 皮下投与による亜急性毒性試験 <参考資料²⁷>

① 14 日間亜急性毒性試験 (ラット)

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 mg/kg 体重/日) し、亜急性毒性試験が実施された。

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、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, p. 9 (IMC, 1980d)]

② 150 日間亜急性毒性試験 (ラット)

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/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。

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、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 (Huisin' t & Kroes, 1974)]

6. 慢性毒性及び発がん性試験

(1) 104 週間慢性毒性/発がん性併合試験 (マウス)

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)、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 週間混餌投与 (2.5ppm) した。

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、精巣、下垂体、皮膚及び肉眼的に観察された全ての腫瘍) を実施した。

毒性所見を表 11 に示した。

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

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。

²⁷ 皮下投与で実施されていることから、参考資料とした。

上昇し、特に雌で顕著であった。

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、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体重増加を示した。

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。

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。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がみられた。

剖検で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

病理組織学的検査では、15ppm 投与群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、雌の二次卵胞が欠如し黄体を伴う卵巣及び雄の精囊の拡張の発生頻度が、対照群と比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に用量依存性がなく、(2) 精囊の拡張は老齢動物におい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そらく、陰性対照群の平均生存期間がより長かったこと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。

本試験でみられた下垂体前葉腺腫並びに前葉における過形成及び腫瘍の発生頻度を表 12 に示した。

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、1948) は、下垂体の腫瘍性変化はある系統のマウスへのエストロゲン投与と関連があり、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均衡と関連があると考えられることを報告している。

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。これらの作用には、副腎における褐色変性、胸骨における骨梁形成の増加、雄の顎下腺の雌型への変換、精囊の収縮、卵巣における二次卵胞及び黄体の欠乏、子宮の炎症、子宮内膜症及び硝子化、子宮頸部腺症、膈上皮の角化並び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には、雄における下垂体前葉腺腫及び精巣間細胞腫、並びに雌における転移性腺癌を伴う乳腺癌が含まれていた。(参照 5、11) [FDA: NADA_RALGRO®, 1989 p. 14-15 C.2.b. (Everett et al., 1987)] [FAS23, p. 1-2 (Everett et al., 1987a)]

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、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の発生率が高かったことから、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、腫瘍発生に対するホルモン作用としての無作用量 (no-hormonal-effect level for tumours) を決定することによってばく露の安全レベルを推定することが可能であると結論付けた。なお、本試験において、NOAEL 等を設定していない。(参照 11) [FAS23, p. 12-13 COMMENTS]

FDA は、15ppm 投与群の雄において下垂体前葉腺腫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 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 及び 1.5ppm 投与群の雌では黄体を伴う卵巣の発生頻度の増加に一貫性がなく、雄における精嚢の拡張の発生頻度低下は老齢動物において一般的なものであって対照群の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。

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に起因する以外の統計的に有意な影響を有するという証拠は得られず、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得ら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) と設定した。(参照 5) [FDA: NADA_RALGRO®, 1989 p.14-15 C.2.b. (Everett et al., 1987)]

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 投与群の雄で副腎の被膜下細胞過形成の増加等、雌で子宮頸管及び膣上皮の粘液産生の増加等がみられたことから、NOAEL を 1.5ppm (0.23 mg/kg 体重/日に相当²⁸) と設定した。15ppm 投与群の雄にみられた下垂体前葉腺腫の発生頻度の上昇は、発がん性を示唆するものと判断した。

表 11 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	- 下垂体の大型化、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	- 脱毛症 - 副腎の褐色変性 - 子宮頸管及び膣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 12 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)

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 陽性対照：エストラジオール-17β を混餌投与 (2.5ppm)

(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、

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

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

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及び肝細胞大小不同は雄のみで観察された。この群では、ネフロンの変行性変化、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、骨髓細胞密度減少の事例もみられた。本試験期間中の死亡動物の肝臓には著しい退行性変化がみられた。(参照 11) [FAS23, p.10 (Williams, 1982)]

(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-17 β 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-17 β 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、精嚢、精巣、皮膚、腎臓、肝臓、肺、乳腺及び腫瘍) 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 13 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した下垂体の発生がより高頻度であった。

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

が不明であることから、参考資料とした。

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) 及び WBC が陰性対照群と比較して有意に増加したが、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。

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。

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。25ppm 投与群の雌の子宮重量は見かけ上増加したが、この群の卵巣重量に大きなばらつきがあったことと関連しておりため、有意差はみられなかった。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卵巣の絶対重量の減少がみられた。第 229 回

[第 229 回の宿題①]

【事務局】

第 229 回において、「見た目は増加しようにみえたけれども、それは優位ではないという趣旨の文章に改める」こととなっております。また、「見かけ上」という文言が議論になりました。

「見かけ上」という文言については、適切な訳が見つからず、削除の方がすっきりするので削除しました。

ご確認ください。

There was an **apparent** increase in uterus weight in females in the highest-dose group, but because of the large variation in ovary weights in this group, this was not statistically significant.

【島田（章）委員】

確認しました。削除でよいと思います。

補足：229 回欠席して経緯をよく理解しておりません。「明らかな増加」が見られたが、統計上は有意差が無かった、という選択肢があったのでしょうか？

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。雌の非腫瘍性病変として、2.5ppm 以上投与群で子宮頸部の重層扁平上皮細胞の増加がみられた。2.5ppm 投与群では、乳腺過形成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デリン沈着症がより高頻度に見られたが、投与による影響とは考えられなかった。

また、陽性対照群の雌の全例で、卵巣、子宮（扁平上皮化生及び上皮の異形成を含む）、膣及び子宮頸部並びに乳腺で高度な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された。陽性対照群の雄では、投与による影響は肝臓、脾臓、乳腺、心臓、精巣、腎臓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、陰性対照群に比べて下垂体腺腫（タイプ 3）の明らかな増加がみられた。（参照 5、11）[FDA; NADA_RALGRO®, 1989 p.12-13 C.2.a. (Everett et al., 1987)] [FAS23, p.2-3 (Everett et al., 1987b)]

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、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、2.5ppm 投与群の雌にみられた変化は意味のないもの (marginal) 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) とし、本試験の結果を基に ADI を設定した。(参照 5) [FDA: NADA_RALGRO®, 1989 p.12-13 C.2.a. (Everett et al., 1987)]

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、25ppm 投与群で子宮の拡張及び黄体嚢胞の減少がみられたことから、雄に対する NOAEL を最高用量の 25ppm (1.3 mg/kg 体重/日に相当³⁰)、雌に対する NOAEL を 2.5ppm (0.13 mg/kg 体重/日に相当³⁰) と設定した。発がん性はみられなかった。

表 13 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
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

^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 (marginal) であるとした。(参照 5) [FDA: NADA_RALGRO®, 1989 p.13]

(4) 104～105 週間慢性毒性試験 (ラット) <参考資料³¹>

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、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 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 体重/日」という。)

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が発現した。

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、この変化は雄よりも雌で顕著であった。

臓器重量では、0.1/20 mg/kg 体重/日投与群で、精嚢、精巣、卵巣及び前立腺の絶対重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であった。

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

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。

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、前立腺及び精嚢に変化がみられた。肝臓における変化には、肝細胞の減少、肝細胞大小不同、実質細胞の空胞化、慢性炎症性細胞浸潤及び低頻度にみられる結節性過形成が含まれた。卵巣、前立腺、精嚢及び精巣では、軽度～中程度の萎縮がみられた。子宮では、子宮内膜炎、扁平上皮化生及び子宮内膜の嚢胞性過形成がみられた。(参照 11) [FAS23, p. 10-11 (Woodard, 1968)]

(5) 1 年間慢性毒性試験 (イヌ) <参考資料³²⁾>

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 体重/日) し、慢性毒性試験が実施された。

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平上皮化生がみられた。25 mg/kg 体重/日投与群でみら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、WBC の増加及び膀胱上皮の高度の角化が含まれていた。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及び炎症性変化、膀胱上皮の扁平上皮化生、骨髄における骨髄細胞の明らかな増加及び子宮内膜過形成であった。(参照 11) [FAS23, p. 11 (Williams, 1982)]

(6) 104 週間慢性毒性試験 (イヌ)

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 又は 1,000ppm) し、慢性毒性試験が実施された。

毒性所見を表 14 に示した。

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。

病理組織学的検査では、100ppm 投与群の雄 2 例及び雌 1 例で、様々な程度の骨髄過形成がみられ、また、雄 1 例では、骨髄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、外陰部の腫脹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、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がみられたことから、NOAEL を 100ppm (2.5 mg/kg 体重/日に相当³³⁾) と設定した。

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。

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。事務局

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

表 14 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	- 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 - 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	- 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 - 乳腺及び子宮の大型化、外陰部の腫脹 - 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 以下	毒性所見なし	毒性所見なし

(7) 7 年間慢性毒性試験 (イヌ)

イヌ (ビーグル種、雌 16 匹/群) に、ゼラノールを循環法 (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 7 年間 (91 サイクル) 経口カプセル投与 (0、15 又は 38 mg/kg 体重/日) し、慢性毒性試験が実施された。

毒性所見を表 15 に示した。

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。化膿性子宮炎による更なる死亡を防ぐため、全生存動物は試験開始 3～3.5 年時に子宮を摘出された。

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かった。

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及び相対重量の軽度だが一貫性のある減少がみられた。(参照 11) [FAS23, p. 11 (Hogan, 1981a)]

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、全投与群で卵巣の平均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 体重/日と設定した。

表 15 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 - 卵巣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

(8) 10 年間慢性毒性試験 (サル) 事務局

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 (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セルロースの混合物) し、慢性毒性試験が実施された。試験開始投与 1 年後に 2 匹、2 及び 4 年後に各 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により 7 匹が死亡したこと、各群の動物数を維持するために、別の 7 匹を導入した。

毒性所見を表 16 に示した。

~~試験終了時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 mg/kg 体重/日投与群で 25% 低かった。~~

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られなかった。

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られなかった。試験開始 10 年後の検査においては、対照群、15 及び 75 mg/kg 体重/日投与群における子宮/頸部の平滑筋腫 (子宮筋腫) は、それぞれ 12 例中 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, 1981b)]

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 体重/日と設定した。

表 16 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	・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<2 年後病理組織学的検査> ・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、子宮頸管腺基底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、管上皮増殖<4 年後病理組織学的検査> ・腔における上皮結合組織の硝子化、子宮頸管腺基底部の扁平上皮化生、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	・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 ・<u>子宮内膜の増殖<4 年後剖検³⁴></u> ・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>

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。

不明	・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 ・<u>子宮内膜の増殖<4年後剖検></u> ・子宮内膜及び子宮筋層の肥厚、卵管の大型化、外性子宮内膜症<10年後剖検>
----	---

【事務局】

試験開始 4 年後に、子宮内膜の増殖の発生頻度及びその割合に用量依存的な増加がみられた。との記載なので 15,75 でみられたと判断可能であり、不明→15 以上へ移動しました

7. 生殖発生毒性試験

(1) 1 世代繁殖試験 (ラット) 事務局

ラット (SD 系、約 7 週齢、体重約 200 g、雌雄各 10 匹/群) に交配前 4 週から児動物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。雄及び雌の親動物 (F₀) は、それぞれ交配後及び離乳後に剖検した。児動物 (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。雌雄親動物 (F₀) は、投与終了後に剖検した。

毒性所見を表 17 に示した。

雌親動物 (F₀) では、摂餌量の低下は軽微であった。

いずれの投与群でも、受胎率、出産率、出生率、哺育児生存率 (生後 0~4 日) 及び哺育率 (生後 4~21 日) に、投与の影響はみられなかった。児動物の体重増加抑制は 1.77ppm 以下投与群ではみられなかった。

肉眼的剖検所見では、いずれの世代 (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_RALGRO®, 1989 p.6-7 B.3. (Everett &Perry, 1984)] [FAS 23, p.5 (Everett &Perry, 1984)]

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は 25ppm の用量でのみ影響がみられたとした。25ppm 投与群で哺育児の離乳を延期したのは、哺乳期間中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、12.5ppm 投与群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。(参照 5) [FDA: NADA_RALGRO®, 1989 p.6-7 B.3. (Everett &Perry, 1984)]

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 (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

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

見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無関係~~ない~~とは言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、雄親動物（F₀）の精囊及び雌親動物（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 (0.0890.18 mg/kg 体重/日に相当³⁶) と設定した。

【事務局】

児動物での体重増加抑制が親からの影響か離乳後の混餌投与の影響か不明な場合、親の混餌投与による児への影響として親の摂餌量から計算する必要はないかご確認をお願いします。

【青山専門委員】

この試験はやや変則的で、児動物への暴露は離乳後 3 週間と短期間であり、最終解剖時（6 週齢の離乳児）には特に異常が検出されていません。したがって、児動物への影響は「哺育期間中における体重低下」だけですので、残念ながら、換算は「Rat (old)」とすべきように思います（もしも 6 週齢の児動物に影響がみられていたら話は異なるかもしれませんが、哺育期間中は母乳経由の暴露を前提としますので、母親への暴露量を基に議論せざるを得ません）。児に対する NOAEL が 0.089 mg/kg/day になってはしまいますが、この値は当該試験における親に対する LOAEL (0.013 mg/kg/day) より十分に高いので、リスク評価上の懸念はないと思います。

【事務局】

Rat(old)の摂餌量 50 g/kg 体重/日から計算し直し、NOAEL 0.089 mg/kg 体重/日と修正しました。

表 17 ラットを用いた 1 世代繁殖試験における毒性所見

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	

(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）

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

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}) 期間を通じてゼラノールを混餌投与した。

毒性所見を表 18 に示した。

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。

3ppm 投与群では、生殖及び妊性に関わる指標、同腹児数、児動物の生存率、児動物の体重、児動物及び親動物の肉眼的剖検所見並びに臓器重量に、投与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、その差は僅かであり、体重増加量は概ね対照群と同程度であった。

30ppm 投与群においても、F₀ 親動物の生殖に関する指標は、対照群とほぼ同等であった。臓器重量 (F₀、F₁)、肉眼的剖検所見 (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、投与による影響はみられなかった。

全用量で哺育児の外表面に異常はみられなかった。 **第 229 回** (参照 5) [FDA; NADA_RALGRO®, 1989 p. 4-6 B. 1. (Schroeder&Daly, 1988)]

FDA は、0.3 及び 3ppm では毒性影響はみられず、生殖に対するにおいて毒性がみられなかった用量 (reproduction no-effect dose) は 3ppm (平均 0.25 mg/kg 体重/日) であり、生殖に対するにおける無毒性量 (reproduction no-effect level) を 0.25 mg/kg 体重/日と設定した。(参照 5) [FDA; NADA_RALGRO®, 1989 p. 4-6 B. 1. (Schroeder&Daly, 1988), p. 8 B. 5. Conclusion]

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 (親動物及び児動物で 0.15 mg/kg 体重/日、児動物で 0.3 mg/kg 体重/日に相当³⁷⁾) と設定した。 **事務局**

【事務局】

児動物は混餌投与されていない場合に、児動物の摂餌量で換算できるのかご確認をお願いいたします。(例えば F1 が「児動物」として毒性所見がみられているのは出生から哺乳の間で、F1 が 30ppm を投与され始めるのは、F1 親動物としての交配前投与から。)

【青山専門委員】

こちらは標準的な 2 世代試験であり、児動物への影響は「哺育児の体重低下」だけですので、哺育期間の最終週 (14 日齢～21 日齢) には自ら飼料を摂取していると思われるものの、換算は上記同様に「Rat (old)」とすべきように思います。

【事務局】

親動物及び児動物の NOAEL として、ともに Rat(old)の摂餌量に基づき 0.15 mg/kg 体重/日と修正しました。

また、同じく 3ppm の換算を行っているにも関わらず、19 行目と 14 行目において異なる数値

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

が記載されている件について、14 行目は原書を引用したもの、19 行目は JECFA で用いられる換算値を用いて計算したものであることを考慮し、19 行目の記載を優先し、14 行目の換算値を削除しました。
ご確認ください。

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
30	・体重低下（交配前期間～<u>剖検</u>）、<u>体重増加抑制（交配～剖検）</u>＜F₀ 雄親動物＞ ・体重増加抑制（妊娠 0～20 日）＜F₀ 雌親動物＞ ・<u>出生生存</u>児数の減少、体重の低値（哺乳 14,21 日）＜F₁ 児動物＞	・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～<u>剖検</u>）、<u>体重増加抑制（交配～剖検）</u>＜F₁ 雄親動物＞ ・体重増加抑制（妊娠 0～20 日）＜F₁ 雌親動物＞ ・<u>出生生存</u>児数の減少、体重の低値（哺乳 14,21 日）＜F₂ 児動物＞
3 以下	毒性所見なし	毒性所見なし

（3）3 世代繁殖試験（ラット）＜参考資料³⁸＞

ラット（CD 系、体重：雄 69～113 g、雌 65～109 g、雄 10 匹及び雌 20 匹）にゼラノールを混餌投与（0、0.01、0.10 又は 0.20ppm）し、3 世代繁殖試験が実施された。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薬した。被験物質の投与は、離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、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。

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されなかった。（参照 5、11）[FDA; NADA_RALGRO®, 1989 p. 6 B. 2. (Wazeter & Goldenthal, 1976)] [FAS 23, p. 7-8(Wazeter & Goldenthal, 1976)]

（4）生殖毒性試験（ラット）＜参考資料³⁹＞

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、1.25 又は 5 mg/kg 体重/日）し、無処置の動物と交配した。

雄にゼラノールを投与した試験では、1.25 mg/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、1.25 mg/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_RALGRO®, 1989 p. 7-8 B. 4. (Baldwin et al., 1983)] [FAS 23, p. 8 (Williams, 1982)]

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。

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

(5) 発生毒性試験（マウス）＜参考資料⁴⁰＞

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/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。

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。限定的な剖検の結果、骨中の骨梁の増加がみられた。（参照 11）[FAS 23, p.7 (Davies et al., 1977)]

(6) 発生毒性試験（ラット①）①＜参考資料⁴²＞[第 229 回](#)

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/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 日に剖検された。

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)]

(7) 発生毒性試験（ラット②）②＜参考資料⁴³＞[第 229 回](#)

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/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・胎児吸収数の増加がみられた。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; NADA_RALGRO®, 1989 p.8 B.4. (Baldwin et al., 1983)] [FAS 23, p.8 (Williams, 1982)]

(8) 発生毒性試験（ウサギ）＜参考資料⁴⁴＞

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/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; NADA_RALGRO®, 1989 p.8 B.4. (Baldwin et al., 1983)] [FAS 23, p.8 (Williams, 1982)]

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。

8. ホルモン作用に関する試験

(1) 13 週間投与試験 (サル) <参考資料⁴⁵>

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) 後に精巣を生検し、病理組織学的検査が実施された。

試験期間中、体重増加量は正常であった。

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った。精巣の生検では、精祖細胞、一次及び二次精母細胞又は精子に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 et al., 1984b)]

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。(参照 11) [FAS23, p. 13 COMMENTS]

(2) 3 月経周期投与試験 (サル)

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 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 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、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 周期) に測定した。膣上皮の角化 (成熟指数) 及び毎日の観察を実施し、性皮着色又は腫脹の有無について検討した。

動物の体重には、投与による影響は観察されなかった。

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 投与群のいずれにおいても、投与の影響はみられなかった。

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、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に、投与の影響はみられなかった。投与期間中における膣上皮細胞においても有意な変化はみられなかった。(参照 11) [FAS 23, p. 4-5 (Singh et al., 1984c; Singh & Griffin, 1984)]

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) を 5 mg/kg 体重/日と設定した。(参照 11) [FAS23, p. 13 COMMENTS]

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-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~~

⁴⁵ 対照群が設定されていないことから、参考資料とした。

5 mg/kg 体重/日までの用量では被験物質のエストロゲン様作用はを検出されることができなかったと判断した。第 229 回

[第 229 回の宿題②]

【事務局】

第 229 回において、青山専門委員の意見（下記記載）を検討した結果、少なくとも「5 mg/kg 体重/日までの用量では被験物質のエストロゲン様作用は検出されなかったと判断した」とまではいえるのではないかというコメントがあり、それを踏まえて修正をしたものです。

ご確認ください。

【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）と考えるべきだと思います。

(3) 3 月経周期又は 111 日間投与試験（サル）

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期後に 111 日間ゼラノールを経口投与（0、0.5、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、投与開始前の月経周期中は毎日、投与開始後は最初の 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。

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った。

排卵率は、対照群、0.5 及び 5 mg/kg 体重/日投与群で同様であった。

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に、差異は観察されなかった。対照群、0.5 及び 5 mg/kg 体重/日投与群の 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のと同様であった。（参照 5、11）[FDA: NADA_RALGRO®, 1989 p. 15-16 D.1. (Hess, 1986)] [FAS 23, p. 5 (Hess, 1986)]

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) を 5 mg/kg 体重/日と設定した。（参照 11）[FAS23, p. 13 COMMENTS]

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ったことから、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) 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, 1986)]

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ら、NOAEL を 5 mg/kg 体重/日と設定した。

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	・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

(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〕

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 35 g、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。

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〕

① 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 1.04 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 1.00 $\mu\text{mol/L}$ であった。ゼラノールの $\text{ER}\alpha$ 及び $\text{ER}\beta$ 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)]

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。

(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 (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、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、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。

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。

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。

試験中のベースライン測定及び膣の上皮細胞による成熟指数測定では、0.5 mg/kg 体重/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)]

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 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 COMMENTS, EVALUATION]

10. ヒトにおける知見

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。

Ⅲ. 国際機関等における評価

1. JECFA の評価

JECFA は、第 26 回会合（1982 年）でゼラノールについて検討したが、残留データ、ゼラノール使用に関連した適正家畜飼育及び分析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 回会合（1983 年）において、JECFA は適正家畜飼育行動規範に従って、食用肉生産のために同化剤としてゼラノールを使用することを暫定的に受け入れ、(1)非ヒト霊長類におけるホルモン作用としての NOEL (no-effect level for hormonal activity) を設定するため実施中であった試験及び(2)げっ歯類 2 種を用いた十分な発がん性試験の結果の提出を求めた。

第 32 回会合（1988 年）では、牛に使用するゼラノールについてのみ評価が行われ、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り、また、腫瘍に関連したホルモン作用としての NOEL (no-hormonal-effect 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の推定が可能となると結論した。

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、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 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 0.5 µg/kg 体重/日と設定した。（参照 11、17）[FAS 23, p. 13 COMMENTS, EVALUATION] [TRS763, p. 26-28]

2. EU の評価

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、食肉の生産におい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、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うことが禁止された。1999 年に、SCVPH は、これら 6 種類のホル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 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] [EC Opinion 2002, p.21-22]

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、2000 年から 2007 年はじめまでに得られた科学文献の評価を行った。リスクの特徴付けに必要な定量的情報が不十分であったことから、SCVPH の意見の改訂は行われなかった。（参照 21）[EFSA Journal2007]

3. 米国の評価

FDA では、1989 年に、ゼラノールの総残留量に対する組織ごとの安全濃度が設定され、連邦規則集（CFR）第 21 巻に示されていたが、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の消費率を用いて計算されていたものであるとされ、2002 年 2 月に CFR 第 21 巻の記載が削除され、代わりに 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, 2002] [FDA; NADA_RALGRO® LA,

2001 p. 5]

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、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100を適用し、1.25 µg/kg 体重/日と設定されている。(参照 3、23、24) [FDA; NADA_RALGRO®, 1989 p.13] [FDA; 21eCFR556.760, 2019]

4. 豪州の評価

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（cervical stratified squamous epithelium）がみられたことからNOAEL⁴⁶を0.015 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/日と設定している。(参照 25、26) [Australia; ADI LIST, 2019] [Australia; Review, 2003, p28-30]

⁴⁶ 参照 26 には「NOEL」と記載されている。

IV. 食品健康影響評価

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。

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）として排泄されることが示された。Ⅱ. 1. (4)

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/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、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 5～15 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

~~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) 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 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%、23% に相当した。Ⅱ. 9. (1) さらに、ラットを用いて子宮に対する反応 (uterotropic 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、皮下投与では 1/500 であった。Ⅱ. 9. (2) 事務局~~

【事務局】

前回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Ⅱ. 9. (2)）に関し、その記載位置及び記載内容の過不足についてコメントを募集いたしました。寺岡専門委員のご意見及び、26-28 行目（「ゼラノールの投与～催奇形性はみられなかった。」）にゼラノールの主な影響についてまとめて記載をさせていただいたことから、その他の試験に係る記載を削除いたしました。

【寺岡専門委員】

おおむね事務局案に賛成いたします。ただ、p 55、Ⅱ. 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。

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。よって、ADI を設定することは可能であると判断した。Ⅱ. 3.

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ゲンであることが示された。催奇形性はみられなかった。

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

1 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
2 -17 β 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ら、
3 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
4 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
5 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

6 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
7 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
8 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)

9 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
10 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
11 を 0.013 mg/kg 体重/日とした。また、児動物については 1.3 mg/kg /日 12.5ppm 以上
12 投与群で体重増加抑制がみられたことから、NOAEL を 0.0890.18 mg/kg /日とした。

13 Ⅱ. 7. (1)

14 ラットを用いた 2 世代繁殖試験では、1.5 mg/kg 体重/日投与群で親動物及び児動物に
15 おける体重低下又は体重増加抑制、F₁ 親動物における妊娠率及び雄の受胎率の減少、児
16 動物における出生児数の減少及び体重の低値がみられたことから、親動物及び児動物に
17 対する NOAEL を 0.15 mg/kg 体重/日とした。Ⅱ. 7. (2) 事務局

18
19 各種毒性試験の結果、最も低い用量でみられた影響は、ラットを用いた 1 世代繁殖試
20 験Ⅱ. 7. (1) の親動物における雄の精囊及び雌の卵巣の絶対及び相対重量の低下等で
21 あり、LOAEL は 0.013 mg/kg 体重/日であった。しかしながら、本試験ではいずれの投
22 与群においても受胎率、出生率等、生殖に関する影響はみられず、みられた影響はいず
23 れも親動物における一般毒性であったが、本試験は雌雄各 10 匹/群と少数で実施されて
24 おり、病理組織学的検査は行われていなかった。一方、類似する系統のラットを用いて
25 より長期の 2 世代にわたって行われた繁殖試験Ⅱ. 7. (2) においては、雌雄各 30 匹
26 /群が用いられ、親動物について病理組織学的検査が実施されたが、投与による影響はみ
27 られなかった。生殖については、F₁ 親動物における妊娠率及び雄の受胎率の減少並びに
28 児動物における出生児数の減少等の繁殖への影響がみられ、親動物での体重低下又は体
29 重増加抑制を根拠に NOAEL を 0.15 mg/kg 体重/日と判断した。よって、生殖に関する
30 NOAEL を考えるに当たっては、より長期で大規模かつ病理組織学的検査も行われてい
31 るラットを用いた 2 世代繁殖試験の結果を用いることがより適切であると考え、0.15
32 mg/kg 体重/日と判断した。

33 また、さらに長期のラットを用いた 104 週間慢性毒性/発がん性併合試験Ⅱ. 6. (3)
34 においては、ラットを用いた 2 世代繁殖試験よりやや低い用量で子宮の拡張及び黄体嚢
35 胞の減少がみられたことより、雌の NOAEL を 0.13 mg/kg 体重/日相当と判断した。

36 以上を踏まえ、食品安全委員会動物用医薬品専門調査会は、ゼラノールの ADI の設定
37 に当たっては、ラットを用いた 104 週間慢性毒性/発がん性併合試験の NOAEL である
38 0.13 mg/kg 体重/日を ADI の設定根拠とすることが適当と考えた。しかしながら、生殖
39 に関する NOAEL の設定には情報が十分とはいえないことから、追加の安全係数として
40 2 を付し、安全係数は 200 を適用し、ADI を 0.65 μ g/kg 体重/日と設定することが適当

1 と考えた。

2
3 以上から、ゼラノールの食品健康影響評価については、ADI として次の値を採用する
4 ことが適当と考えた。

5
6 ゼラノール 0.65 µg/kg 体重/日

7
8 ばく露量については、当該評価結果を踏まえ暫定基準値の見直しを行う際に確認する
9 こととする。

10 **【事務局】**

事務局案として、NOAEL0.13 mg/kg 体重/日（ラットの 104 週間慢性毒性/発がん性併合試験）を採用の上で安全係数を 200 としています。これは、以下を考慮したところです。

- 1 世代繁殖試験において見られた影響がいずれも親動物における一般毒性であったこと。また、雌雄 10 匹/群と少数で実施されており、病理組織学的検査は行われていないこと。
- 長期の 2 世代繁殖試験においては、雌雄 30 匹/群を用いて、親動物について病理組織学的検査を実施し、いずれの投与群においても投与の影響は見られず。生殖については、F1 親動物における生殖への影響がみられ、親動物での体重低下/体重増加抑制を根拠に NOAEL を 0.15 mg/kg 体重/日と判断。
- さらに長期のラットを用いた 104 週間慢性毒性/発がん性併合試験においては、2 世代繁殖試験よりやや低い用量で、子宮の拡張や黄体嚢胞の減少がみられたため、NOAEL を 0.13 mg/kg 体重/日相当と判断。

ADI 設定根拠とする試験が妥当か、また、安全係数は妥当か、という観点から、ご確認をお願いいたします。

【島田（章）専門委員】

確認しました。

【寺岡専門委員】

（追加の安全係数として 2 を付す根拠である「生殖に関する NOAEL の設定には情報が充分とはいえない」との文言に対し）

情報が不十分とは、ラットを用いた 1 世代繁殖試験による LOAEL が他と大幅に異なるということでしょうか？ いずれにしても、「情報不十分」の内容を簡単に説明する句、ないしは文章を付け加えた方がわかりやすいと思います。

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) 雄の精嚢及び雌の卵巣の絶対及 び相対重量の低下等 児： <u>0.0890-18</u> 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)	<u>親・児：親÷0.15</u> <u>児÷0.3</u> 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	

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エストロゲン作用を検出できなかったと判断した。

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。

c : ホルモン作用としての無作用量 (no-hormonal-effect level/hormonal no-effect level)

— : 評価書に報告なし

1 <別紙 1 : 代謝物名称>

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

2
3
4

1 <別紙 2：検査値等略称> [事務局](#)

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

＜参照＞

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
（平成 17 年 11 月 29 日付、厚生労働省告示第 499 号）
2. The Merck Index, 15th Ed., 2013. [Merck Index]
3. JECFA: Zeranor: Residues of some veterinary drugs in foods and animals. FAO
Food and Nutrition Paper, 41-1, 1987. [FNP41]
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
ン剤）。ファクトシート, 2007. [食安委 ファクトシート]
5. FDA: XI. Freedom of information summary, Ralgro® brand of zeranol implants:
NADA38-233 V, 1989 [FDA: NADA_RALGRO®, 1989]
6. Migdalof BH, Dugger HA, Heider JG, Coombs RA, Terry MK: Biotransformation of
zeranol: disposition and metabolism in the female rat, rabbit, dog, monkey and man.
Xenobiotica, 1983; 13(4): 209-221 [(Migdalof, et al., 1983)]
7. Bories G, Suarez AF: Profiling of free and conjugated [³H] zeranol metabolites in pig
plasma. J Chromatogr, 1989; 489(1): 191-197 [(Bories et al., 1989)]
8. Pfeiffer E, Hildebrand A, Mikula H, Metzler M: Glucuronidation of zearalenone,
zeranol and four metabolites *in vitro*: Formation of glucuronides by various
microsomes and human UDP-glucuronosyltransferase isoforms. Mol Nutr Food Res,
2010; 54(10): 1468-1476 [(Pfeiffer et al., 2010)]
9. Bories GF, Perdu-Durand EF, Sutra JF, Tulliez JE: Evidence for glucuronidation
and sulfation of zeranol and metabolites (taleranol and zearalanone) by rat and pig
hepatic subfractions. Drug Metab Dispos, 1991; 19(1): 140-143 [(Bories et al., 1991)]
10. Hildebrand A, Pfeiffer E, Metzler M: Aromatic hydroxylation and catechol
formation: A novel metabolic pathway of the growth promotor zeranol. Toxicol Lett,
2010; 192(3): 379-86 [(Hildebrand et al., 2010)]
11. JECFA: Zeranor: Toxicological evaluation of certain veterinary drug residues in food.
WHO Food Additives Series, No. 23. Cambridge University Press, 1988, nos 646 on
INCHEM. [FAS23]
12. Pylkkanen L, Jahnukainen K, Parvinen M, Santti R: Testicular toxicity and
mutagenicity of steroidal and non-steroidal estrogens in the male mouse. Mutat Res,
1991; 261(3): 181-191 [(Pylkkanen et al., 1991)]
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
[分科会報告]
14. Wang Y, Li L, Wang CC, Leung LK: Effect of zeranol on expression of apoptotic and
cell cycle proteins in murine placentae. Toxicology, 2013; 314(1): 148-154 [(Wang et
al., 2013)]
15. Takemura H, Shim JY, Sayama K, Tsubura A, Zhu BT, Shimoi K: Characterization
of the estrogenic activities of zearalenone and zeranol in vivo and in vitro. J Steroid
Biochem Mol Biol, 2007; 103(2): 170-177 [(Takemura et al., 2007)]
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