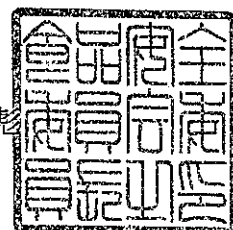




府食第460号
平成19年5月10日

厚生労働大臣
柳澤 伯夫 殿

食品安全委員会
委員長 見上 彪



食品健康影響評価の結果の通知について

厚生労働省発食安第1023008号(平成18年10月23日付け)をもって貴省から当委員会に対し意見を求められたトルトラズリルの食品健康影響評価の結果は下記のとおりですので通知します。

なお、食品健康影響評価の詳細は別添のとおりです。

記

トルトラズリルの1日摂取許容量を0.01mg/kg体重/日と設定する

動物用医薬品評価書

トルトラズリルの食品健康影響評価について

2007年5月

食品安全委員会

<目次>

	頁
1. 薬剤の概要	4
2. 毒性試験の概要	4
2-1. 吸収・分布・代謝・排泄	4
2-2. 毒性試験	8
(1) 急性毒性試験	8
(2) 亜急性毒性試験	8
(3) 慢性毒性試験／発がん性試験	9
(4) 生殖発生毒性試験	11
(5) 遺伝毒性試験	13
(6) 一般薬理試験	14
(7) その他	16
3. 食品健康影響評価について	17
4. 参考文献	20

<審議の経緯>

平成18年10月23日

厚生労働大臣から食品健康影響評価について要請、関係書類の接受

平成18年10月26日

第165回食品安全委員会（要請事項説明）

平成18年11月17日

第64回動物用医薬品専門調査会

平成18年12月15日

第65回動物用医薬品専門調査会

平成19年 2月23日

第69回動物用医薬品専門調査会

平成19年 3月15日

第182回食品安全委員会（報告）

平成19年 3月15日

国民からの意見情報の募集

— 4月13日

動物用医薬品専門調査会座長から食品安全委員会委員長へ報告

平成19年 5月 9日

第189回食品安全委員会委員会（報告）

平成19年 5月10日

同日付で食品安全委員会委員長から厚生労働大臣に通知

<食品安全委員会委員>

平成18年12月20日まで

平成18年12月21日から

寺田 雅昭（委員長）

見上 彪（委員長）

見上 彪（委員長代理）

小泉 直子（委員長代理*）

小泉 直子

長尾 拓

長尾 拓

野村 一正

野村 一正

畑江 敬子

畑江 敬子

廣瀬 雅雄**

本間 清一

本間 清一

*平成19年2月1日から

**平成19年4月1日から

〈食品安全委員会動物用医薬品専門調査会専門委員〉

平成19年2月12日から

三森	国敏(座長)			三森	国敏(座長)		
井上	松久(座長代理)			井上	松久(座長代理)		
青木	宙	津田	修治	青木	宙	寺本	昭二
明石	博臣	寺本	昭二	明石	博臣	長尾	美奈子
江馬	眞	長尾	美奈子	江馬	眞	中村	政幸
大野	泰雄	中村	政幸	小川	久美子	林	眞
小川	久美子	林	眞	渋谷	淳	平塚	明
渋谷	淳	藤田	正一	嶋田	甚五郎	藤田	正一
嶋田	甚五郎	吉田	緑	鈴木	勝士	吉田	緑
鈴木	勝士			津田	修治		

要約

抗コクシジウム剤である「トルトラズリル(Toltrazuril)」について、食品健康影響評価を実施した。

評価に供した試験成績は動物代謝・残留(ラット、豚、牛、羊、鶏、七面鳥)、急性毒性(ラット)、亜急性毒性(ラット及びイヌ)、慢性毒性/発がん性(マウス及びラット)、2世代繁殖(ラット)、発生毒性(ラット及びウサギ)、遺伝毒性試験等である。

トルトラズリルは動物体内で代謝され、通常トルトラズリルスルホンが主要な存在形態であることが判明している。このため、トルトラズリルスルホンについても急性毒性(ラット)、亜急性毒性(ラット及びイヌ)、発生毒性(ラット及びウサギ)、遺伝毒性試験等が実施されているが、いずれもトルトラズリルと比較して弱い毒性影響しか示さなかった。

トルトラズリルには雌ラットで子宮内膜の腫瘍発生頻度の増加が認められている。この腫瘍発生の明らかな作用機序は不明であるものの、遺伝毒性試験、内分泌系への影響に関する試験の結果から、遺伝毒性ではなくホルモンバランスの変調が関与している可能性が示唆されている。繁殖への影響及び催奇形性は認められなかった。

各試験の無毒性量の最小値はラットを用いた 30 ヶ月慢性毒性/発がん性併合試験、ラットを用いた催奇形性試験の 1mg/kg 体重/日であった。トルトラズリルの食品健康影響評価については、これを根拠として、安全係数 100 で除した 0.01mg/kg 体重/日を ADI として設定した。

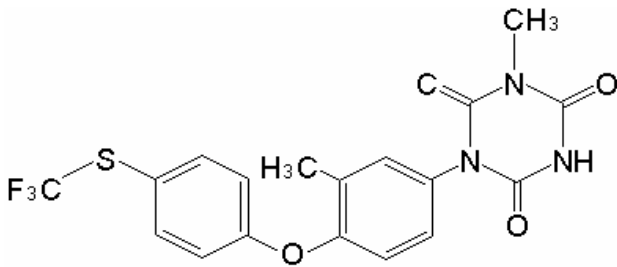
トルトラズリルの食品健康影響評価について

1. 薬剤の概要

(1) 物質名

トルトラズリル (Toltrazuril)

(2) 構造式



(3) 分子式: $C_{18}H_{14}F_3NO_4S$

(4) 分子量: 425.38

(5) 常温における性状: 白色の結晶性の粉末

(6) 融点: $193-196^{\circ}C$

(7) 溶解度: 測定温度 $25^{\circ}C$ での各溶媒に対する溶解度 (%)

酢酸エチル (9.7%)、1,2-ジクロロエタン (3.2%)、メタノール (1.3%)、水 ($1.9 \times 10^{-4}\%$)、1 mol/L 塩酸 ($4.2 \times 10^{-4}\%$)

(8) 効能・効果

トルトラズリルはトリアジントリオン誘導体に属し、コクシジウム病の予防及び治療のための抗コクシジウム薬として、鶏、七面鳥、豚及び牛で経口的経路により広く使用されている。EMEA の Summary Report にはトルトラズリルの効果について「コクシジウム原虫の発育ステージの微細構造における変化、主として小胞体の腫脹及びゴルジ装置の腫脹並びに核膜腔の異常を引き起こし、核分裂を阻害する。また寄生虫の呼吸酵素の活性低下を導く。さらにアイメリア属コクシジウム類のマクロガモントのオーシスト壁形成小体^aの阻害を引き起こす。トルトラズリルの生化学的作用機序については、現在のところ説明することができない。」と記されている。

(9) その他

トルトラズリルを主剤とする動物用医薬品はこれまで国内での使用はない。諸外国においては EU をはじめオーストラリア、ニュージーランド及びアジア等で家禽、豚、牛等を対象として使用されている。米国では承認された製剤はない。なお、カナダでは 2005 年に承認が取り消されている。

2. 毒性試験の概要

2-1. 吸収・分布・代謝・排泄

^a Wall forming bodies; オーシスト壁を形成する前のマクロガモント(マクロガモトサイト)の細胞質内、特に細胞膜近くに見られる顆粒小体

【ラットにおける投与試験】

ラットに ^{14}C 標識トルトラズリルを単回経口投与 (20mg/kg 体重) し、血漿中濃度、尿及び糞中排泄率、糞中排泄における未変化体及び代謝物の割合を測定した。血漿中濃度の C_{\max} は雌雄それぞれ 25、36 $\mu\text{g}\cdot\text{eq}/\text{mL}$ 、 T_{\max} は 24、8 時間で、 $T_{1/2}$ は 76.0、23.7 時間であった。投与後 168 時間までに投与された量のほとんどが糞を主要経路として排泄され、糞便中への排泄は 80% 以上、尿中への排泄は 2-6% 程度であった。糞および胆汁中の代謝物が解析されたところ、主要なものは未変化体であったが、その他には未変化体と 4 つの代謝物がみられ、トルトラズリルスルホキシド(以降; T スルホキシド)、同スルホン(以降; T スルホン)、同ヒドロキシメチル化合物、同ヒドロキシメチル化合物のスルホン(雄のみ)、同ヒドロキシメチル化合物のスルホキシドが同定された。存在比は T スルホンが 4.6-16.0%、ヒドロキシメチル化合物のスルホンが 12.1%、T スルホキシド及びヒドロキシメチル化合物のスルホキシドは 1% 未満であった。組織中の分布では肝臓が最も高い濃度を示した。⁽¹⁾

【鶏における投与試験】

雄ブロイラー4羽に ^{14}C 標識トルトラズリルを2日間経口投与 (4 mg/kg 体重を1日2回) し、体内動態を調べた。また、最終投与後 0.5、4.5、8.5、15.5 日後に各1羽が剖検され組織中濃度が測定されている。最終投与後 4.5 日までに投与量の約 72% が排泄され、15.5 日では約 94% が排泄された。血漿中濃度の C_{\max} は 21.0~28.9 $\mu\text{g}\cdot\text{eq}/\text{mL}$ の範囲で、 T_{\max} は最終投与後 0.5 日であった。血漿中の消失は 15.5 日に剖検された1羽を用いて解析されており、2相性の消失を示した。0.5 から約8日までの $T_{1/2}$ は 1.19 日、8 から 15.5 日までの $T_{1/2}$ は 3.27 日であった。組織中の分布では肝臓、腎臓がやや高めであったが、各組織とも2日前後の $T_{1/2}$ で減少し、特に残留は認められていない。⁽²⁾

【七面鳥における投与試験】

七面鳥(雌雄不明)にトルトラズリルを 25ppm の濃度で2日間飲水投与(目標は 7mg/kg 体重/日) し、最終投与後120時間までの血液が採取され、未変化体、Tスルホキシド、Tスルホンをマーカーとして血漿中濃度が測定されている。未変化体、T スルホキシドの C_{\max} はそれぞれ約 0.6 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ で T_{\max} は最終投与直後であった。T スルホンでは最終投与後 24 時間まで約 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ を示したがその後低下し、120 時間には 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 程度まで減少した。⁽³⁾

【豚における投与試験】

新生ブタ(雌雄各14頭)に ^{14}C 標識トルトラズリルを単回経口投与 (20mg/kg 体重) し、70 日までの血液、組織中濃度、21 日までの尿、糞が調べられている。血漿中放射活性の C_{\max} は雌雄とも約 14 $\mu\text{g}\cdot\text{eq}/\text{g}$ で、 T_{\max} は雄 72 時間~6 日^b、雌 48 時間であった。雌雄いずれとも投与後 70 日には検出されなくなった。代謝物別の解析は雌雄平均して実施されているが、72 時間まではトルトラズリルが最も多く、その後は T スルホンが主要となり、28 日ではほぼ 100% となった。排泄率は雌雄平均で、21 日までに糞中に約 36%、尿中に約 12% が排泄され、この他ケージ洗浄液、ケージ残屑が合わせて 10% であった。投与 14 日後の組織中残留濃度は肝臓で雄 10.7 $\mu\text{g}\cdot\text{eq}/\text{g}$ 、雌 8.4 $\mu\text{g}\cdot\text{eq}/\text{g}$ 、腎臓で雄 5.7 $\mu\text{g}\cdot\text{eq}/\text{g}$ 、雌 6.0 $\mu\text{g}\cdot\text{eq}/\text{g}$ 、筋肉で雄 3.1 $\mu\text{g}\cdot\text{eq}/\text{g}$ 、雌 3.2 $\mu\text{g}\cdot\text{eq}/\text{g}$ 、皮膚で雄 4.8 $\mu\text{g}\cdot\text{eq}/\text{g}$ 、雌 3.9 $\mu\text{g}\cdot\text{eq}/\text{g}$ 、脂肪で雄 5.8 $\mu\text{g}\cdot\text{eq}/\text{g}$ 、雌 6.1 $\mu\text{g}\cdot\text{eq}/\text{g}$ で、ほとんどが T スルホン由来であった。70 日後には 0.1 $\mu\text{g}\cdot\text{eq}/\text{g}$ 程度かそれ未満に減少した。⁽⁴⁾

^b 72 時間の次の採取が 6 日

子ブタ(6頭/群;雌雄未分別)にトルトラズリルを単回静脈内又は強制経口投与(各20mg/kg体重)し、28日までの血液を採取してトルトラズリル、Tスルホキシド、Tスルホンの体内動態が調べられている。トルトラズリルの C_{max} は静脈、経口投与でそれぞれ約20.0、9.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、 T_{max} は10.2、34.7時間、 $T_{1/2}$ は3.1、3.0日、Tスルホキシドの C_{max} は約5.4、3.4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、 T_{max} は2.7、2.5日、 $T_{1/2}$ は3.0、2.8日、Tスルホンの C_{max} は約12.9、7.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、 T_{max} は8.7、8.3日、 $T_{1/2}$ は10.3、16.9日であった。AUCから求められた生物学的利用率はそれぞれ69、66、63%であった。⁽⁵⁾

雌子ブタ3頭に ^{14}C トルトラズリルを単回経口投与(20mg/kg体重)し、投与後24及び72時間に2頭、1頭から、腎臓、肝臓、筋肉、脂肪を採取した。1頭について72時間までの血液、尿及び糞を採取した。血漿中放射活性の C_{max} は22.3 $\mu\text{g}\text{-eq}/\text{mL}$ 、 T_{max} は24時間後であった。投与後72時間までに尿中に3.4%、糞中に47.4%が排泄された。投与後24時間の各組織中で血漿より高かったのは肝臓、脂肪、腎臓であった。代謝物の比較では未変化体が主要で64-79%、Tスルホキシドは4-20%、Tスルホンは4-13%であった。⁽⁶⁾

子ブタ(8頭/群;雌雄未分別)に ^{14}C トルトラズリルを単回静脈内又は強制経口投与(各20mg/kg体重)し、60日までの血液を採取してトルトラズリル、Tスルホキシド、Tスルホンの体内動態が調べられている。トルトラズリルの C_{max} は静脈、経口投与でそれぞれ約29.1、14.9 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、 T_{max} は、投与直後、13.4時間、 $T_{1/2}$ は43.1、54.6時間、平均滞留時間(MRT)は62.2、83.5時間、Tスルホキシドの C_{max} は約6.79、5.52 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、 T_{max} は36.5、36.8時間、 $T_{1/2}$ は39.5、47.6時間、MRTは81.7、90.7時間、Tスルホンの C_{max} は約16.1、12.9 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、 T_{max} は154、156時間、 $T_{1/2}$ は215、246時間、MRTは398、439時間であった。AUCから求められた生物学的利用率はそれぞれ76.2、84.9、86.4%であった。⁽⁷⁾

【牛における投与試験】

子ウシ(雌雄各8頭)に ^{14}C 標識トルトラズリルを単回経口投与(15mg/kg体重)し、28、56、84、91日に雌雄各2頭から組織を採取した。さらに21日までの尿及び糞、28日までの血液が採取され、体内動態が調べられている。血漿中濃度の C_{max} は雄27.08 $\mu\text{g}\text{-eq}/\text{L}$ 、雌39.74 $\mu\text{g}\text{-eq}/\text{L}$ であり、 T_{max} は雌雄とも120時間、 $T_{1/2}$ は雄155時間、雌154時間であった。投与168時間までの排泄率は尿で雄3.5、雌3.1%、糞で5.2%、5.4%、ケージ洗浄液で雄1.0%、雌1.1%であった。血漿、排泄物及び組織における標識物は当初主に未変化体であったが、経時的に代謝され、血漿、尿、糞では7日以降はTスルホンが主要となった。投与後28日における組織の比較で放射活性が最も高濃度に分布したのは雌雄とも肝臓、次いで腎臓、脂肪で、そのほとんどはTスルホンであった。⁽⁸⁾

3-4ヶ月齢の子ウシ(雌雄各5頭)にトルトラズリル5%懸濁液を単回経口投与(15mg/kg体重)し、投与後80日までの血液が採取され、血漿中濃度が測定されている。トルトラズリルの血清中濃度の C_{max} は雄37.3、雌36.5mg/L、 T_{max} は雄31.7、雌36.4時間、MRTは雄126、雌127時間、 $T_{1/2}$ は雄65.9、雌62.6時間で投与後0.5時間-37日まで血清中に検出された。投与後60日以降は血清試料中から検出されなくなった。⁽⁹⁾

【鶏における残留試験】

12日齢の雄ブロイラーにトルトラズリルを7mg/kg体重/日になるように16-28ppmの濃度に調製し

た飲料水を2日連続投与(実際の投与量は7.7-10.8mg/kg 体重/日)し、最終投与後20日までの動態がTスルホンをマーカーとして測定されている。最終投与後1日におけるTスルホン濃度は組織の比較では肝臓、腎臓、皮膚/脂肪、筋肉の順であった。14日後には全組織が定量限界(筋肉:0.05、皮膚/脂肪:0.1、肝臓:0.3、腎臓:0.2ppm)未満となった。⁽¹⁰⁾

【七面鳥における残留試験】

雄七面鳥にトルトラズリルを2日間飲水投与(目標は7mg/kg 体重/日)し、1、4、8、10、12、14、18、20日後に10羽から肝臓、腎臓、筋肉、脂肪を採取し、Tスルホンの消長が測定されている。最も高い濃度が認められたのは投与1日後で、組織の比較では肝臓、腎臓、皮膚/脂肪、筋肉の順であった。これらは経時的に減少し、14日後には全て定量限界(筋肉:0.05、皮膚/脂肪:0.1、肝臓:0.3、腎臓:0.2ppm)未満となった。⁽¹¹⁾

【豚における残留試験】

5日齢のブタ24頭(雌雄不明)にトルトラズリルを単回経口投与(20mg/kg 体重)し、投与後14、28、49、70及び91日に組織を採取しトルトラズリル、Tスルホキシド、Tスルホンの濃度を測定した。試験期間を通じてTスルホンが最も主要な残留物で、組織別では肝臓が最も高く、筋肉が最も低かった。いずれも経時的に低下し、91日には定量限界(0.01-0.02ppm)未満となった。⁽¹²⁾

3日及び5日齢のブタにトルトラズリルを単回経口投与(20mg/kg 体重)し、投与後28、49、70及び91日に雌雄各2頭から組織を採取しトルトラズリル、Tスルホキシド、Tスルホンの濃度を測定した^c。2試験が実施されているが、いずれも雌雄共に試験期間を通じてTスルホンが最も主要な残留物で、組織別では肝臓が最も高く、筋肉が最も低かった。Tスルホン濃度も経時的に低下し、70あるいは91日には定量限界(0.02ppm)未満となった。^{(13), (14)}

【牛における残留試験】

子ウシにトルトラズリルを単回経口投与(15mg/kg 体重)し、28、42、56、70、84日後に4頭^dから試料が採取され主要な残留物であるTスルホンの濃度が測定されている。組織中濃度の比較では雌雄共に肝臓、腎臓、脂肪、筋肉の順であったが、70日には全試料が定量限界(0.03-0.04ppm)未満となった。⁽¹⁵⁾

2~3週齢のホルスタイン交雑種の子ウシにトルトラズリルを単回経口投与(15mg/kg 体重)し、投与後28、42、56及び70日に組織を採取しトルトラズリル、Tスルホキシド、Tスルホンの濃度を測定した^e。2試験^fが実施されているが、試験期間を通じて雌雄ともTスルホンが最も主要な残留物で、組織別では肝臓が最も高く、筋肉が最も低かった。未変化体、代謝物とも濃度は経時的に低下し、70日までにはTスルホンを除き、定量限界(0.01ppm)未満となった。^{(16), (17)}

【ヒツジにおける残留試験】

子ヒツジ(雄2-3頭/群、雌3-4頭/群)にトルトラズリルを単回経口投与(20mg/kg 体重)し、35、38、

^c 対照群1頭は投与後28日に測定

^d 28日は雌4頭、他は雌雄各2頭あるいは雄3雌1頭

^e 対照群1頭は投与後28日に測定

^f 1試験は雌雄同数、1試験は雄のみ

40、42、44、46、48、50 日後に主要な残留物である T スルホンの組織中濃度が測定されている。試験期間を通じて雌雄とも肝臓が最も高く、筋肉が最も低かった。濃度は経時的に低下したが、一部の個体では、50 日においても 0.04~0.18ppm 程度の残留が認められた。⁽¹⁸⁾

2-2.毒性試験

(1)急性毒性試験

Wistar 系雌ラットにトルトラズリルを経口投与した急性毒性試験が実施された。LD₅₀は 2000 mg/kg 以上であった。^{(19), (20)}

雌雄ラットに T スルホンを経口投与した急性毒性試験が実施された。LD₅₀ は雌雄で 5000 mg/kg 以上であった。⁽²¹⁾

(2)亜急性毒性試験

【ラットを用いた 3 ヶ月亜急性毒性試験】⁽²²⁾

Wistar 系ラット(雌雄各 15 匹/群)を用いたトルトラズリルの混餌投与(雄:0、1.1、4.2、16.6mg/kg 体重/日、雌:0、1.2、4.7、17.4mg/kg 体重/日)における 3 ヶ月亜急性毒性試験において認められた毒性所見は以下のとおりであった。

試験期間中の投与に関連した死亡は認められなかった。

一般的な臨床症状観察、飲水量に異常は認められなかった。

摂餌量、体重変化では高用量群の雌雄で低値が認められた。

眼検査では異常は認められなかった。

血液学的検査では高用量群の雄、中用量群以上の雌で軽度な RBC、Hb および Ht の低値が試験期間中一貫してみられ、高用量群の雌雄に白血球数の低値、網状赤血球の高値がみられた。血液像では高用量群雌に分節核球の高値とリンパ球の低値がみられた。

雌の低用量群において、投与 8 週の検査時に RBC、Hb および Ht の軽度の低値が認められたが、その他の検査項目において貧血を示唆するような毒性変化は認められず、またより長期の 30 ヶ月の試験においても同用量では影響は認められていなかったことから、これらの血液学的検査における変動が投与に関連している可能性は低いと考えられた。

血液生化学的検査では、中用量群以上の雄及び高用量群の雌に総たん白質の低値、高用量群雄にビリルビン、尿素の高値、高用量群雌にコレステロールの高値が認められた。中用量群以上の雌で Cl⁻濃度の低値がみられた。

尿検査では高用量群でケトン体排泄の増加が認められた。潜血便は認められなかった。

臓器重量では中用量群以上の雌及び高用量群の雄で肝臓及び腎臓の相対重量の高値、高用量群の雄で精巣の相対重量の高値が認められた。

剖検では異常は認められなかった。

病理組織学的検査では全投与群の数例に肝細胞のグリコーゲン蓄積に関連すると考えられる変化が認められ、高用量群で程度が増加した。しかし、同様の変化は対照群の雌数例にも認められ、ほぼ同じ投与量を同系統に投与した後述の慢性毒性・発癌試験の 12 ヶ月中間計画殺では観察されなかったことから、投与に関連した変化ではないと考えられた。

本試験における NOAEL は雄で 1.1 mg/kg 体重/日、雌で 1.2 mg/kg 体重/日であった。

【ラットを用いた 15 週間亜急性毒性試験】⁽²³⁾

Wistar 系ラット(雌雄各 10 匹/群)を用いた T スルホンの混餌投与(雄:0、3.8、11.2mg/kg 体重/日、雌:0、4.8、14.7mg/kg 体重/日)における 15 週間亜急性毒性試験において認められた毒性所見は以下のとおりであった。

試験期間中投与に関連した死亡は認められなかった。
一般的な臨床症状観察、体重変化に異常は認められなかった。
摂餌量、飲水量では高用量群の雌で高値がみられた。
血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、臓器重量、剖検に異常は認められなかった。
眼検査、病理組織学的検査は実施されなかった。

本試験における NOAEL は雄で 11.2 mg/kg 体重/日、雌で 14.7 mg/kg 体重/日であった。

【イヌを用いた 13 週間亜急性毒性試験】⁽²⁴⁾

ビーグル犬(雌雄各 4 頭/群)を用いたトルトラズリルの経口投与(0、1.5、4.5、13.5mg/kg 体重/日)における 13 週間亜急性毒性試験において認められた毒性所見は以下のとおりであった。

試験期間中に 13.5 mg 投与群で雄の 1 例が投与 5 週目に腸重積のため切迫屠殺された。
一般的な臨床症状観察に異常は認められなかった。
体重変化、摂餌量、飲水量は 13.5 mg 投与群で低値がみられた。
眼検査、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査では異常は認められなかった。
臓器重量では 13.5 mg 投与群雌で心臓の絶対重量の高値、13.5 mg 投与群雌雄の平均値での心臓の相対重量の高値が認められた。4.5 mg 以上投与群の雄で前立腺の絶対・相対重量の低値、13.5 mg 投与群で精巣の絶対・相対重量の低値がみられた。
剖検では異常は認められなかった。
病理組織学的検査では未成熟な前立腺(0、1.5、4.5、13.5 mg 投与群でそれぞれ 1/4、1/4、3/4、3/3 例)、未成熟な精巣(0/4、0/4、0/4、2/3 例)が認められた。未成熟期の検査では、精巣・前立腺の成熟度は個体差が大きいことが知られている。本試験での前立腺および精巣の変化も個体差による可能性も考えられたが、本試験では体重増加抑制の観察されなかった中間投与量群にもこれらの変化が認められていることから、投与との関連性を否定できなかった。

本試験における NOAEL は 1.5 mg/kg 体重/日であった。

【イヌを用いた 13 週間亜急性毒性試験】⁽²⁵⁾

ビーグル犬(雌雄各 4 頭/群)を用いた T スルホンの混餌投与(0、200、1000、5000ppm; 雄 8.3、41.2、209.2、雌 8.6、43.3、203.3mg/kg 体重/日)における 13 週間亜急性毒性試験において認められた毒性所見は以下のとおりであった。

試験期間中に死亡例は認められなかった。
一般的な臨床症状観察、飲水量に異常は認められなかった。
摂餌量は 5000ppm 投与群で減少が認められた。
体重変化は 1000ppm 以上投与群で体重増加量の低値が認められた。
血液学的検査、血液生化学的検査、体温、脈拍数、反射、眼検査、尿検査、臓器重量、剖検、病理組織学的検査では異常は認められなかった。
本試験における NOAEL は雄 8.3、雌 8.6 mg/kg 体重/日であった。

(3)慢性毒性/発がん性試験

【マウスを用いた 24 ヶ月慢性毒性/発がん性試験】⁽²⁶⁾

B6C3F₁系マウス(雌雄各 50 匹/群)を用いたトルトラズリルの混餌投与(0、20、80、180 ppm; 雄:0、9.9、41.4、95.2mg/kg 体重/日、雌:0、11.9、47.2、106.1mg/kg 体重/日)における 24 ヶ月慢性毒性/発がん性試験において認められた毒性所見は以下のとおりであった。なお、衛星群(雌雄各 10 匹/群)は 12 ヶ月投与の後、中途剖検に供した。

死亡率、一般的な臨床症状観察、摂餌量、飲水量に異常は認められなかった。

体重変化では、中用量群以上の雄で体重増加量の低値が認められた。

血液学的検査では、中用量群以上で雌雄とも赤血球数、Ht 値、Hb 値の低値が認められた。

血液生化学的検査では、中用量群以上で雌雄とも総ビリルビンの高値が認められた。

臓器重量では、投与 12 及び 24 ヶ月において高用量群雌雄に肝臓絶対及び相対重量の高値が認められた。

剖検では異常は認められなかった。

病理組織学的検査では、高用量群の雄にリンパ腫がみられたが、背景対照の範囲内であった。

本試験における NOAEL は雄で 9.9mg/kg 体重/日、雌で 11.9mg/kg 体重/日であった。また発がん性は認められなかった。

【ラットを用いた 30 ヶ月慢性毒性/発がん性試験】⁽²⁷⁾

Wistar 系ラット(雌雄各 50 匹/群)を用いたトルトラズリルの混餌投与(0、20、60、180 ppm; 雄:0、1.0、3.0、10.3mg/kg 体重/日、雌:0、1.3、4.3、16.2mg/kg 体重/日)における 30 ヶ月慢性毒性/発がん性試験において認められた毒性所見は以下のとおりであった。なお、衛星群(雌雄各 10 匹/群)は 12 ヶ月投与の後、中途剖検に供した。

死亡率は高用量群雌に高値が認められた。

一般的な臨床症状観察では高用量群雌に一般状態の悪化、膣出血、蒼白及び被毛の乱れが認められた。雄では後躯の筋力低下が進行した。

摂餌量は高用量群の雌雄で増加がみられた。飲水量に異常は認められなかった。

体重変化では、中用量群以上の雌雄で体重増加量の低値が認められた。

血液学的検査では、高用量群雄で白血球数、雌で赤血球数、Hb 値、Ht 値の低値が認められた。

血液生化学的検査では、高用量群雄でグルコース濃度、トリグリセライド濃度、雌で総たん白質、Alb の低値が認められた。投与群雌雄に AP 活性の高値傾向が認められた。

尿検査では、高用量群雌雄でケトン体の増加が認められた。

眼検査では、高用量群雄でレンズ混濁の増加傾向が認められた。

剖検では、12 ヶ月での中途剖検では特に異常は認められなかった。死亡時、瀕死時、試験終了後に実施した剖検では、中用量群以上の雌で、腹腔内及び子宮腔内の結節性病変の出現、拡張及び貯留液の増加、子宮脂肪組織の増加、削瘦を示す動物が増加した。高用量群雌の膣では 2 例に液体貯留がみられた。

臓器重量について、投与 12 ヶ月において、高用量群雌雄に肝臓相対重量の高値、雄に精巣相対重量の高値、中用量群以上の雄に腎臓相対重量の高値が認められた。投与 30 ヶ月において高用量群雌雄に脳及び腎臓絶対・相対重量の高値、雄に脾臓絶対・相対重量の低値、雌に肝臓相対重量の高値、中用量群以上の雄で精巣絶対・相対重量の高値が認められた。

病理組織学的検査では、非腫瘍性病変について、投与 12ヶ月では、高用量群雄に脾臓及び肝臓のヘモジデリン沈着減少が認められた。中用量群以上の雌で小黄体の増加が認められた。投与 30ヶ月では、中用量群以上の雄に肝臓の小葉中心性の肝細胞肥大、胃の腺管拡張、精巣に間細胞の限局性過形成が認められた。高用量群雄に副腎皮質過形成の減少、網膜変性の増加が認められた。高用量群雌に黄体数の増加、乳腺、下垂体及び副腎に過形成の減少、乳腺の乳汁分泌の低下（高用量群 3 例、有意差なしのため削除）が認められた。中用量群以上の雌に大腿、胸骨及び脊椎の骨髓過形成の増加が認められた。腫瘍性病変について、投与 12ヶ月では異常は認められなかった。投与 30ヶ月では、高用量群の雌で子宮腺腫、腺癌の増加、未分化癌の増加傾向が認められた。良性、悪性をあわせた子宮内膜の総腫瘍発生数は高用量群で有意に高かった。これら腫瘍の発生は対照群、投与群とも投与 631 日以降に増加する傾向がみられ、特に高用量群雌で投与 631-720 日に多く認められた。また、雌で下垂体腺腫、乳腺腫瘍、雄で副腎褐色細胞腫、甲状腺の C-細胞腺腫の減少が認められた。

本試験における NOAEL は雄で 1.0 mg/kg 体重/日、雌で 1.3 mg/kg 体重/日であった。

【ラットの内分泌系への影響を検討した特殊試験】

ラット 30ヶ月慢性毒性/発がん性試験高用量群雌に下垂体、乳腺、副腎、甲状腺で自然腫瘍発生率の低下、乳腺で分泌活性の低下、子宮内膜の上皮系腫瘍頻度の増加が認められことから、内分泌系への影響を検討するために複数の試験が実施されている。

15ヶ月齢の高齢 Wistar 系雌ラットを用いた 49 週間混餌投与試験では 180ppm(16.9mg/kg 体重/日)群で血漿中プロゲステロン濃度、エストロゲン濃度及びプロラクチン濃度の低下等が認められ、特にエストロゲン濃度に比較し、プロゲステロン濃度の低下が明らかであった。また 180ppm 群では卵巣重量の増加も認められた⁽²⁸⁾。妊娠 Wistar 系ラットを用いた約 4 週間の混餌投与試験(妊娠 20 日に解剖)では 180ppm 群でプロラクチン濃度の低下が認められている⁽²⁹⁾。しかし、14 週齢の Wistar 系雌ラットを用いた 12 週間混餌投与試験ではプロラクチンの変化は認められず、180ppm(10.9mg/kg 体重/日)群以上で LH、エストロゲン濃度の低下が認められている⁽³⁰⁾。これらの LH、エストロゲン、プロゲステロン、プロラクチンの低下、及びラットを用いた 30ヶ月慢性毒性/発がん性試験で認められた乳腺等の変化は、本剤による下垂体及び卵巣ホルモンの変調を示している。特に 15ヶ月齢の高齢 Wistar 系雌ラットを用いた 49 週間混餌投与試験におけるエストロゲン、プロゲステロンの低下、特にプロゲステロンの低下は、エストラジオール/プロゲステロン比のシフトをもたらし、エストロゲンが優位となるため、エストロゲン標的臓器である子宮内膜の上皮系腫瘍発生増加をもたらす可能性がある。一方、トルトラズリルの経口投与はラット子宮の DNA に付加体形成を起こさない⁽³¹⁾。これらのことを考慮すると、明らかな作用機序は不明であるもののトルトラズリルの子宮内膜発がん作用として、ホルモンバランスの変調が関与している可能性が示唆された。また、げっ歯類に認められるプロラクチンの卵巣への影響はヒトでは認められないことが知られている⁽³⁰⁾。

さらに、*in vitro* でヒトのエストロゲン受容体及びアンドロゲン受容体にトルトラズリル及び T スルホンは作用しないことが報告されている⁽³²⁾。

(4) 生殖発生毒性試験

【ラットを用いた 2 世代繁殖毒性試験】

CD ラットを用いた混餌(0、4、15、60ppm)投与による 2 世代繁殖試験が実施されている。交配は F₀

および F₁ 世代で各 2 回行い、それぞれ F_{1a}、F_{1b} 児および F_{2a}、F_{2b} 児を得た。被験物質の投与は、F₀ 世代の親動物(雌雄各 30 匹/群)には交配開始 14 日前から 2 回目の交配終了後または F_{1b} 児離乳後まで行い、F_{1b} 世代の親動物(雌雄各 25 匹/群)には離乳時から 2 回目の交配終了後または F_{2b} 児の最終剖検時(ほ育 4 日)まで投与した。

一般的な臨床症状観察、体重変化、摂餌量に特に被験物質の投与に伴う異常は認められなかった。剖検についても特に被験物質の投与に伴う異常は認められなかった。血液学的検査、血液生化学的検査、病理組織学的検査は実施されていない。

繁殖に関する影響のパラメーター(発情周期、交尾率、妊娠率、出産率、妊娠期間、産児数)には、F₀、F₁ ともに投与の影響は認められなかった。

60ppm 投与群で F_{1a} 及び F_{2b} 児のほ育 4 日までの生存率に有意な低下が認められた。15ppm 以下の投与群ではこれらの異常は認められなかった。分娩後 4 日以降の生存児はその後正常に発育した。

本試験における生殖発生毒性に対する NOAEL は 15ppm(1.25mg/kg 体重/日)であった。⁽³³⁾

【ラットを用いた催奇形性試験】

Wistar ラット(雌 25 匹/群)を用いたトルトラズリルの経口投与(0、3、10、30mg/kg 体重/日及び 0、1mg/kg 体重/日)による試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。被験物質の投与は妊娠 6 日から 15 日までの間行い、20 日に帝王切開した。

投与に関連した死亡は認められなかった。

母動物の一般的な臨床症状観察に投与の影響は認められなかった。

3mg 以上投与群の母動物に体重増加量の低値が認められた。

妊娠率、着床数、吸収胚数、胎児の性比に投与の影響は認められなかった。

30mg 投与群に胎児体重の低値、骨格変異胎児数、矮小胎児数の増加が認められたが、これらは母体毒性の影響による可能性が考えられた。

これらの試験における NOAEL は母動物に対して 1mg/kg 体重/日、胎児に対して 10mg/kg 体重/日であった。催奇形性はみられなかった。^{(34), (35)}

SD ラット(雌 25-28 匹/群)を用いたトルトラズリルの経口投与(0、1、3、10、30mg/kg 体重/日)による試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。被験物質の投与は妊娠 6 日から 15 日までの間行い、20 日に帝王切開及び剖検を行った。投与に関連した死亡は認められなかった。

母動物の一般的な臨床症状観察では 30mg 投与群に自発運動抑制、衰弱、退色便が認められた。

10mg 以上投与群の母動物に体重の低値が認められ、30mg 投与群では摂餌量の低下も認められた。

剖検及び臓器重量では 30mg 投与群に副腎の肥大、喉頭に多発性の黒色帯が認められ、純体重増加量[§]に低値が認められた。

受精率、交尾率、妊娠率、黄体数、着床数、吸収胚数、同腹児数、性比、胎児体重に投与の影響は認められなかった。胎盤重量の減少が 30mg 投与群で認められた。

30mg 投与群の胎児に骨格変異の増加が認められたが、外表、内臓および骨格奇形の頻度に投

[§] [妊娠 20 日の体重 - (胎児も含めた) 子宮] - 妊娠 0 日の体重

与の影響はみられなかった。

本試験におけるNOAELは母動物に対して3mg/kg 体重/日、胎児に対して10mg/kg 体重/日であった。催奇形性はみられなかった。⁽³⁶⁾

Wistar ラット(雌 25 匹/群)を用いた T スルホンの経口投与(0、10、30、90mg/kg 体重/日及び 0、300mg/kg 体重/日)による試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。被験物質の投与は妊娠 6 日から 15 日までの間行い、21 日に帝王切開した。投与に関連した死亡は認められなかった。

母動物の一般的な臨床症状観察に投与の影響は認められなかった。

300mg 投与群の母動物に摂餌量、体重の低値が認められた。

着床数、同腹児数、吸収胚数、性比、胎児体重に投与の影響は認められなかった。300mg 投与群の胎児に骨化不全の増加が認められたが、母体毒性の影響による可能性が考えられた。

本試験におけるNOAEL は母動物及び胎児に対して 90mg/kg 体重/日であった。催奇形性はみられなかった。⁽³⁷⁾

【ウサギを用いた催奇形性試験】

ウサギ(雌 15 匹/群)を用いたトルトラズリルの経口投与(0、1、3、10mg/kg 体重/日)による試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。被験物質の投与は妊娠 6 日から 18 日までの間行い、29 日に帝王切開及び剖検を行った。

10mg 投与群において母動物の死亡が 2 例認められ、残りの母動物も帝王切開までに全て流産した。

3mg 投与群の母動物に流産と体重増加量の低値が認められ、吸収胚数が増加した。

胎児体重、平均胎盤重量、骨格変異胎児数、奇形胎児数に投与の影響は認められなかった。⁽³⁸⁾

ウサギ(雌 16 匹/群)を用いたトルトラズリルの経口投与(0、0.5、0.75、1.0、2.0mg/kg 体重/日)による試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。被験物質の投与は妊娠 6 日から 18 日までの間行い、29 日に帝王切開及び剖検を行った。投与に関連した死亡は認められなかった。

母動物の一般的な臨床症状観察、摂餌量、飲水量、体重、排泄物、および胎盤重量、胎児数、吸収胚数、性比、胎児体重、奇形発生率に投与の影響は認められなかった。

これらの試験におけるNOAEL は母動物及び胎児に対して 2.0mg/kg 体重/日であった。また催奇形性は認められなかった。⁽³⁹⁾

(5)遺伝毒性試験

【変異原性に関する各種試験の結果一覧】

in vitro 試験

トルトラズリル

試験系	試験対象	用量	結果
Ames 試験	<i>S. typhimurium</i> TA1535, TA1537, TA98, TA100	20-12500µg/plate(±S9) ¹	陰性 ⁽⁴⁰⁾
	<i>S. typhimurium</i> TA1535, TA1537, TA98, TA100	3.1-12500 µg/plate(±S9) ¹	陰性 ⁽⁴¹⁾
	<i>S. typhimurium</i> TA1538	3.1-200 µg/plate(±S9) ¹	陰性 ⁽⁴²⁾
前進突然変異試験	CHO/HGPRT	30-80µg/mL(±S9) 5h+7d ²	陰性 ⁽⁴³⁾

		60-80 μ g/mL(\pm S9) 5h+7d ³	陰性 ⁽⁴⁴⁾
染色体異常試験	CHO-WBI	10-100 μ g/mL(-S9) ⁴ 5.0-50 μ g/mL(+S9) ⁵	陰性 ⁽⁴⁵⁾
UDS 試験	ラット初代肝細胞	0.1-25.1 μ g/mL ⁶	陰性 ⁽⁴⁶⁾

1. それぞれについて毒性が認められる用量まで試験が実施されている
2. 予備試験で 100 μ g/mL 以上で細胞毒性。
3. 予備試験で 80 μ g/mL 以上で細胞毒性。S9 は 1,2,5% を使用。
4. 予備試験で 125 μ g/mL 以上で細胞毒性。
5. 予備試験で 125 μ g/mL 以上で細胞毒性。本試験で 100 μ g/mL で細胞毒性。
6. 25.1 μ g/mL で細胞毒性。

T スルホン

試験系	試験対象	用量	結果
Ames 試験	<i>S. typhimurium</i> TA1535, TA1537, TA985, TA100	20-12500 μ g/plate(\pm S9) ¹	陰性 ⁽⁴⁷⁾
	<i>S. typhimurium</i> TA1538	31.3-500 μ g/plate(\pm S9) ¹	陰性 ⁽⁴⁸⁾
前進突然変異試験	CHO/HGPRT	100-350 μ g/mL(-S9) 5h+6d ² 50-350 μ g/mL(+S9) 5h+6d ³	陰性 ⁽⁴⁹⁾
UDS 試験	ラット初代肝細胞	1.0-25.1 μ g/mL ⁴	陰性 ⁽⁵⁰⁾

1. それぞれについて毒性が認められる用量まで試験が実施されている
2. 300 μ g/mL 以上で著しい細胞毒性。
3. 250 μ g/mL 以上で著しい細胞毒性。
4. 25.1 μ g/mL で細胞毒性。

in vivo 試験

トルトラズリル

試験系	試験対象	用量	結果
小核試験	マウス骨髄	5000 mg/kg 体重 単回経口	陰性 ⁽⁵¹⁾
³² P ポストラベル試験	雌 Wistar ラット子宮 DNA	30mg/kg 体重/日 7日間	陰性 ⁽³¹⁾
		300、600mg/kg 体重/日 単回経口	陰性 ⁽³¹⁾

T スルホン

試験系	試験対象	用量	結果
小核試験	マウス骨髄	25000 mg/kg 体重 単回経口	陰性 ⁽⁵²⁾

上記のようにトルトラズリル、T スルホンについて *in vitro* 試験、*in vivo* 試験が実施されたが、いずれも陰性であった。このことからトルトラズリル及び T スルホンは遺伝毒性を示さないと考えられる。また、ラットの発がん性試験において子宮内膜がんの増加が認められたが、ラットの子宮における DNA 付加体の形成は ³²P-ポストラベル試験において認められなかった。

(6)一般薬理試験

(6)-1 トルトラズリル

【中枢神経系への作用】

ヘキソバルビタール睡眠(マウス)、中枢性協調能(マウス; 平行棒法)、鎮痛作用(マウス; 熱板法)、抗痙攣作用(マウス; 電気刺激、ペントテトラゾール痙攣)、懸垂能(マウス; 水平棒)、カタレプシー(マウス、ラット)、探索行動 (マウス; Hoffmeister らの方法)、自発運動(マウス)、反射 (ラット; 舌下顎反射、神経伝達阻害)において、100mg/kg までの経口投与で影響は認められなかった。⁽⁵³⁾

【平滑筋に対する作用】

摘出気管(モルモット; 自発収縮)においては、 10^{-7} g/mL までの濃度で摘出気管の固有緊張(トーン)、ヒスタミン及びロイコトリエン D₄ による収縮に影響を及ぼさなかったが、 10^{-5} g/mL ではヒスタミン及びロイコトリエン D₄ による収縮を低下させた。⁽⁵⁴⁾

【呼吸循環器系への作用】

100mg/kg までの経口投与における、血圧、心拍数、心拍出量(CO)、1 回拍出量(SV)、末梢抵抗(TPR)、拡張終期圧、左心室内圧、動脈血 CO₂/O₂ 圧(いずれも麻酔イヌ)を観察したが、一過性の血圧上昇、CO、SV の低下傾向、TPR の上昇傾向等の弱い昇圧効果が 100mg/kg で認められた(30mg 以下では影響なし)。⁽⁵⁵⁾

【消化器官系に対する作用】

腸管輸送能(ラット; 炭末移動)、胃忍容性(ラット; 損傷測定)においては、8mg/kg までの濃度の経口投与で影響を及ぼさなかった。胃酸基礎分泌(ラット; 胃管流液の測定)においては、8mg/kg までの用量の十二指腸内投与で影響を及ぼさなかった。⁽⁵⁶⁾

【血液系への作用】

血液系への作用は、トロンボエラストグラフ、Ht、Hg、血小板凝集、血小板数、血液沈降速度、フィブリノーゲン、トロンビン時間、トロンボプラスチン時間(いずれもラット)について実施されたが、100mg/kg までの経口投与では影響は認められなかった。⁽⁵⁷⁾

【その他】

尿排泄への作用(ラット; 尿量、Na⁺、K⁺測定)においては 100mg/kg の経口投与で Na⁺ の排泄が増加した。30mg/kg までの濃度では影響は認められなかった。⁽⁵⁸⁾

血糖値、血清トリグリセライド値(ラット) においては、摂食、絶食ラットともに 100mg/kg までの経口投与で影響は認められなかった。耐糖能(絶食ラット; グルコース経口負荷試験)においては、100mg/kg までの経口投与では影響は認められなかった。⁽⁵⁹⁾

抗アレルギー(ラット末梢肥満細胞; 抗原誘導ヒスタミン放出阻害)及び仮性アレルギー作用(ラット末梢肥満細胞; ヒスタミン放出)においては、100µg/mL までの濃度では影響は認められなかった。⁽⁶⁰⁾

(6)-2 T スルホン

【一般症状及び行動】

Irwin の多次元観察法(マウス)において 100mg/kg 体重までの経口投与では一般症状及び行動に影響は認められなかった。⁽⁶¹⁾

オープンフィールドテスト(ラット)において、100mg/kg 体重の経口投与で立ち上がりの頻度が一過的に増加した。⁽⁶²⁾

【中枢神経系への作用】

ヘキソバルビタール睡眠(マウス)、抗痙攣作用(マウス; ペントテトラゾール痙攣)、鎮痛作用(マウス; tail clip、熱板法)、カタレプシー(ラット) において、100mg/kg までの経口投与で影響は認められなかった。中枢性協調能(マウス; 平行棒法) においては 100mg/kg 体重の経口投与でバランス保持

時間の一時的な短縮、体温測定(ラット)においては一時的な軽度の低下が認められた。⁽⁶²⁾

【平滑筋に対する作用】

摘出回腸(モルモット;アセチルコリン誘導れん縮)について実施された。 $1 \times 10^{-5} \sim 10^{-8}$ mol/L の濃度では影響は認められなかった。⁽⁶³⁾

【呼吸循環器系への作用】

自発呼吸、気道抵抗、動肺コンプライアンス(いずれも麻酔モルモット)に 100mg/kg 体重までの静脈投与で影響は認められなかった。ヒスタミンで誘発した気道抵抗、動肺コンプライアンスに対しても影響は認められなかった。⁽⁶²⁾

100mg/kg までの経口投与における、血圧、心拍数、心拍出量(CO)、1 回拍出量(SV)、末梢抵抗(TPR)、拡張終期圧、左心室内圧、動脈血 CO_2/O_2 圧 (いずれも麻酔イヌ)を観察したが、30mg/kg 体重で一過性の TPR の低下が認められた。これに対応して心拍数、CO、SV の一過性の増加が認められている。⁽⁶⁴⁾

【消化器官系に対する作用】

腸管輸送能(ラット;炭末移動) においては、100mg/kg までの濃度の経口投与で影響を及ぼさなかった。胃忍容性(ラット;損傷測定、インドメタシン誘導潰瘍モデル)においては、30mg/kg 以上の濃度の経口投与で病変が認められた。胃酸基礎分泌(ラット;胃管流液の測定)においては、100mg/kg までの用量の十二指腸内投与で影響を及ぼさなかった。^{(63),(65)}

【血液系への作用】

血液系への作用は、トロンボエラストグラフ、Ht、Hg、血小板凝集、血小板数、血液沈降速度、フィブリノーゲン、トロンビン時間、トロンボプラスチン時間(いずれもラット)について実施された。100mg/kg 体重の経口投与で弱い血小板凝集の抑制が認められた(30mg/kg 体重では影響なし)。他はいずれも影響は認められなかった。⁽⁶⁶⁾

【その他】

神経筋収縮(麻酔ラット;電気収縮)においては 100mg/kg の経口投与で神経を介した間接直接刺激による収縮に影響は認められなかった。⁽⁶¹⁾

尿排泄への作用(ラット;尿量、 Na^+ 、 K^+ 、 Cl^- 測定)においては 100mg/kg までの濃度では影響は認められなかった。⁽⁵⁸⁾

血糖値、血清トリグリセライド値(ラット) においては、摂食ラットでは 100mg/kg までの経口投与で影響は認められなかった。絶食ラットでは 100mg/kg の投与で一過的なトリグリセライド値の低下が認められた(30mg/kg 以下では影響なし)。耐糖能(絶食ラット;グルコース経口負荷試験)においては、10mg/kg 以上の経口投与で血糖値の上昇が認められた。⁽⁶⁷⁾

(7)その他

【皮膚及び眼に対する刺激性・腐食性】

HC:NZW 白色ウサギを用いて皮膚及び眼に対する刺激性・腐食性が検討されている。皮膚については除毛部に 500mg のトルトラズリルをペースト状にして 4 時間閉塞添付し、被験物質除去後 1、24、

48、72 時間後及び7、14 日後の皮膚の紅斑、鱗屑、浮腫を、眼については 30mg を含む溶液を結膜のうに適用し、24 時間後に洗眼して、その後 1、24、48、72 時間後及び7、14、21 日後の状態が観察されている。本試験系において皮膚及び眼に対する刺激性・腐食性は認められなかった。⁽⁶⁸⁾

【モルモットを用いた皮膚感作性試験】

モルモットに 0.2% のトルトラズリル 0.1mL を皮内投与し、1 週間さらに除毛したその周辺部の皮膚に 25% 溶液 0.5mL を適用したプラスターを 48 時間閉塞添付し感作を行い、その 2 週間後に 25% 溶液 0.5mL を適用したプラスターを用いて誘発が実施されている。本試験条件下で感作性は認められなかった。⁽⁶⁹⁾

3.食品健康影響評価について

【生殖発生毒性試験について】

生殖発生毒性については、トルトラズリルについてラットの 2 世代繁殖試験、ラット、ウサギの催奇形性試験が実施され、催奇形性は認められず、繁殖の影響では母動物に対して 1mg/kg 体重/日、胎児に対して 10mg/kg 体重/日の NOAEL が得られた。T スルホンについてもラットの催奇形性試験が実施されており、催奇形性は認められなかった。

【遺伝毒性/発がん性について】

遺伝毒性試験については、トルトラズリルについて *in vitro* の Ames 試験、前進突然変異試験、染色体異常試験、UDS 試験、*in vivo* の小核試験、³²P ポストラベル試験(ラット子宮 DNA)、T スルホンについて *in vitro* の Ames 試験、前進突然変異試験、UDS 試験、*in vivo* の小核試験が実施されている。これらのいずれもが陰性であり、トルトラズリル及び T スルホンは遺伝毒性を示さないと考えられる。

発がん性試験については慢性毒性との併合試験であるマウスの 24 ヶ月、ラットの 30 ヶ月の 2 試験が実施されている。マウスの試験では発がん性は認められなかったが、ラットの試験においては 16.2mg 投与群の雌で子宮腺腫、腺癌の増加、未分化癌の増加傾向が認められ、良性、悪性をあわせた子宮内膜の総腫瘍発生数が有意に高く認められた。この子宮内膜の腫瘍頻度の増加のメカニズムを検討するため、内分泌系への影響に関する複数の試験が実施されている。その結果、トルトラズリルの投与は、雌ラットのエストラジオール/プロゲステロン比をエストロゲン優位にシフトさせ、エストロゲン標的臓器である子宮内膜の腫瘍発生増加をもたらす可能性があることが示された。トルトラズリルの経口投与はラット子宮の DNA に付加体形成を起こさないことを考慮すると、明らかな作用機序は不明であるもののトルトラズリルの子宮内膜発がんはホルモンバランスの変調が関与している可能性が示唆された。

これらのことから、トルトラズリルについては遺伝毒性発がん性を示さず、ADI が設定できると判断された。

【毒性学的影響のエンドポイントについて】

最も低い投与量で認められた毒性影響はラットを用いた 30 ヶ月慢性毒性/発がん性試験、ラット催奇形性試験で NOAEL は 1mg/kg 体重/日であった。

【一日摂取許容量(ADI)の設定について】

トルトラズリルについては、遺伝毒性発がん性を示さないと考えられることから、ADI を設定することが可能である。毒性学的影響について最も低い用量で被験物質投与の影響が認められたと考えられる指標は、ラットの 30 ヶ月慢性毒性/発がん性試験及びラットの催奇形性試験における NOAEL 1mg/kg 体重/日であった。

この知見から ADI を設定するにあたっては、安全係数としては種差 10、個体差 10 の 100 を適用し、ADI は 0.01mg/kg 体重/日と設定することが適当と判断された。

【食品健康影響評価について】

以上より、トルトラズリ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ことが適当と考えられる。

トルトラズリル 0.01mg/kg 体重/日

暴露量については、当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こととする。

本評価書中で使用した略号については次にならった

ADI	一日許容摂取量
ALT	アラニンアミノトランスフェラーゼ
AP	アルカリフォスファターゼ
AST	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
AUC	血中薬物濃度－時間曲線下面積
BUN	血液尿素窒素
cAMP	サイクリック AMP
CHL	チャイニーズハムスター肺由来細胞株
CHO	チャイニーズハムスター卵巣由来細胞株
C _{max}	最高血(漿)中濃度
CPK	クレアチンフォスフォキナーゼ
GOT	グルタミン酸オキサロ酢酸トランスアミナーゼ(→AST)
GPT	グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ(→ALT)
Hb	ヘモグロビン(血色素)
Ht	ヘマトクリット
LOAEL	最小毒性量
LOEL	最小作用量
MCH	平均赤血球血色素量
MCHC	平均赤血球血色素濃度
MCV	平均赤血球容積
MBC	最小殺菌濃度
MIC	最小発育阻止濃度
MLA	マウスリンフォーマ試験
NOAEL	無毒性量
NOEL	無作用量
T _{1/2}	消失半減期
TBIL	総ビリルビン
Tcho	総コレステロール
TDI	耐容一日摂取量
TG	トリグリセリド
T _{max}	最高血(漿)中濃度到達時間

4.参考文献

1. [Triazine-2-¹⁴C]Toltrazuril: General study of the metabolism in the rat: バイエルメディカル(株)社内資料
2. [¹⁴C]BAY Vi 9142: Pharmacokinetics (distribution, elimination and residues) in male broiler chickens after four oral doses of 4 mg/kg (two times a day). Pilot study: バイエルメディカル(株)社内資料
3. Pharmacokinetics of toltrazuril (Baycox 2, 5% solution buvable) in turkeys: バイエルメディカル(株)社内資料
4. (¹⁴C)-Toltrazuril: Depletion and metabolism study in neonatal pigs: バイエルメディカル(株)社内資料
5. Kinetic studies of Baycox vet. (50 mg/ml toltrazuril) after oral and intravenous administration in piglets: バイエルメディカル(株)社内資料
6. [Triazine-2-¹⁴C]Toltrazuril: Absorption, distribution, excretion and metabolism in piglets: バイエルメディカル(株)社内資料
7. Study of the kinetics of toltrazuril (50 mg/ml toltrazuril) after oral and intravenous administration to piglets: バイエルメディカル(株)社内資料
8. [¹⁴C]Toltrazuril: Tissue depletion and metabolism in calves: バイエルメディカル(株)社内資料
9. Study on the kinetics of toltrazuril (50 mg/ml toltrazuril) after oral administration to calves: バイエルメディカル(株)社内資料
10. Residue analysis on Baycox 2.5% solution (toltrazuril) in broilers (study no. V99-003): バイエルメディカル(株)社内資料
11. Residue analysis of 7 mg/kg Baycox[®] 2.5% w/v solution (toltrazuril) in skin, fat, muscle, liver and kidney of turkeys (study no. V02-005): バイエルメディカル(株)社内資料
12. Baycox[®] (toltrazuril) residue study with unweaned piglets under field conditions from a farrowing farm over a period of 3 months: バイエルメディカル(株)社内資料
13. PNR140/1348 の子豚における残留試験(Ⅰ)(試験番号 04-120-1): バイエルメディカル(株)社内資料
14. PNR140/1348 の子豚における残留試験(Ⅱ)(試験番号 04-120-2): バイエルメディカル(株)社内資料
15. Residue analysis of 15 mg/kg Baycox[®] 5% oral suspension (toltrazuril) in muscle, fat, liver and kidney of dairy calves (study no. V03-006): バイエルメディカル(株)社内資料
16. PNR140/1348 の子牛における残留試験(Ⅰ)(試験番号 04-119-1): バイエルメディカル(株)社内資料
17. PNR140/1348 の子牛における残留試験(Ⅱ)(試験番号 04-119-2): バイエルメディカル(株)社内資料
18. Baycox[®] 5% oral suspension (toltrazuril): residue analysis in lambs after single oral administration of 20 mg/kg toltrazuril 5% (study no. V05-005): バイエルメディカル(株)社内資料
19. EMEA: COMMITTEE FOR VETERINARY MEDICINAL PRODUCTS, TOLTRAZURIL, SUMMARY REPORT(1)
20. PNR188 のラットにおける急性経口毒性試験(試験番号:0435): バイエルメディカル(株)社内資料
21. Bay Vi 9143: Study of acute oral toxicity in rats (study no. T 0037244): バイエルメディカル(株)社内資料
22. Bay Vi 9142: Subchronic toxicological studies on rats (three-month feeding test): バイエルメディカル(株)社内資料
23. Bay Vi 9143: Subchronic toxicity studies in rats (feeding study over 15 weeks): バイエルメディカル(株)社内資料
24. Bay Vi 9142: Subchronic toxicity study on dogs after oral administration (13 week capsule study): バイエルメディカル(株)社内資料
25. Bay Vi 9143: Subchronic toxicity study in dogs – oral administration – (13 week feeding study) (study no. T8021735): バイエルメディカル(株)社内資料
26. Bay I 9142: Oncogenicity study in B6C3F1 mice (administration in feed over 24 months) (study no. T7021798):

バイエルメディカル(株)社内資料

27. Bay I 9142: Study of chronic toxicity and carcinogenicity in Wistar rats (administration in feed over 30 months) (study no. T1018930): バイエルメディカル(株)社内資料
28. Bay i 9142: Study to determine any influence on the female hormone system in old Wistar rats (administration in the feed for 49 weeks) (study no. T6033037): バイエルメディカル(株)社内資料
29. Bay I 9142: Pilot study to determine any influence on the hormonal system in pregnant Wistar rats (administration via the feed for up to 28 days) (study no. T2033088): バイエルメディカル(株)社内資料
30. Bay i 9142: Investigations on hormonal effects of Bay i 9142 in female Wistar rats (administration in the diet for 12 weeks) (study no. T2058207): バイエルメディカル(株)社内資料
31. ³²P postlabeling assay for detection of adduct formation by toltrazuril in rat uterus: バイエルメディカル(株)社内資料
32. Effects of toltrazuril and ponazuril on the human estrogen and androgen receptor in vitro (study no. T9063479/ T2063490/ T4063500): バイエルメディカル(株)社内資料
33. A two-generation reproduction study in rats with Bay Vi 9142: バイエルメディカル(株)社内資料
34. Bay Vi 9142: Studies for embryotoxic effects after oral administration: バイエルメディカル(株)社内資料
35. Bay Vi 9142: Study of the embryotoxic effects in rats following oral administration (supplement to study no. T5016710): バイエルメディカル(株)社内資料
36. A developmental toxicity study with Bay Vi 9142 in the Sprague-Dawley rat (study no. 94-612-CG): バイエルメディカル(株)社内資料
37. Embryotoxicity (including teratogenicity) study with Bay Vi 9143 in the rat. Report part I : バイエルメディカル(株)社内資料
38. Bay Vi 9142: Studies for embryotoxic effects in rabbits after oral administration: バイエルメディカル(株)社内資料
39. Bay Vi 9142: Developmental toxicity study in rabbits after oral administration (study no. T6058030): バイエルメディカル(株)社内資料
40. Bay Vi 9142: Salmonella/microsome test for the investigation of point mutagenic effects: バイエルメディカル(株)社内資料
41. Bay Vi 9142: Salmonella/microsome test for point-mutagenic action (study no. T1024249): バイエルメディカル(株)社内資料
42. Bay Vi 9142: Salmonella/microsome test for point-mutagenic action on TA 1538 (study no. T 1024249): バイエルメディカル(株)社内資料
43. Bay Vi 9142: CHO/HGPRT mutation assay (study no. T5351.332): バイエルメディカル(株)社内資料
44. Bay VI 9142: CHO/HGPRT mutation assay (study no. T8203.332020): バイエルメディカル(株)社内資料
45. Bay Vi 9142: In an in vitro cytogenetic assay measuring chromosome aberration frequencies in Chinese hamster ovary (CHO) cells: バイエルメディカル(株)社内資料
46. Bay Vi 9142: In the rat primary hepatocyte unscheduled DNA synthesis assay (study no. T4008736): バイエルメディカル(株)社内資料
47. Bay Vi 9143: Salmonella/microsome test for point-mutagenicaction (study no. T 1024276): バイエルメディカル(株)社内資料
48. Bay Vi 9143: Salmonella/microsome test for point-mutagenic action on TA 1538 (study no. T 1024276): バイエルメディカル(株)社内資料
49. Bay Vi 9143: Mutagenicity study for the detection of induced forward mutations in the CHO-HGPRT assay in

- vitro (study no. T 3039768): バイエルメディカル(株)社内資料
50. Bay Vi 9143: In the rat primary hepatocyte unscheduled DNA synthesis assay: バイエルメディカル(株)社内資料
51. Toltrazuril: Micronucleus test in mice (study no. 5008 MAS): バイエルメディカル(株)社内資料
52. Bay Vi 9143: Micronucleus test on the mouse to evaluate for clastogenic effects (study no. T 9025525): バイエルメディカル(株)社内資料
53. CNS safety pharmacology study with Bay Vi 9142 on oral administration: バイエルメディカル(株)社内資料
54. Bay Vi 9142: General/safety respiratory pharmacology: Evaluation of bronchoactivity in the guinea-pig isolated trachea: バイエルメディカル(株)社内資料
55. Bay VI 9142: Influence on hemodynamics and cardiac contractility of anesthetized dogs after oral administration (study no. P 5010806): バイエルメディカル(株)社内資料
56. Safety pharmacology on Bay VI 9142 in the gastrointestinal tract: its effect on intestinal charcoal transit, on gastric tolerability and basal gastric acid secretion in rats: バイエルメディカル(株)社内資料
57. Bay Vi 9142: Blood-pharmacological investigations (study no. P 3010796): バイエルメディカル(株)社内資料
58. Test for diuretic activity in rats (study no. P 2010795): バイエルメディカル(株)社内資料
59. Effect of orally administered Bay Vi 9142 on the blood glucose and serum triglyceride concentrations in fed rats and fasted rats and on the glucose tolerance of fasted rats: バイエルメディカル(株)社内資料
60. Bay Vi 9142: General respiratory pharmacology: anti-allergic and pseudo-allergic activity: バイエルメディカル(株)社内資料
61. Bay VI 9143: CNS safety pharmacology after a single oral administration: バイエルメディカル(株)社内資料
62. Bay vi 9143: Effects of oral administration on bronchoactivity in the anaesthetised spontaneously-breathing guinea-pig: バイエルメディカル(株)社内資料
63. General pharmacology of Bay Vi 9143 in the gastrointestinal tract: its effects on acetylcholine induced ileal spasms, on the stimulated gastric acid secretion and on indomethacin-induced ulcers: バイエルメディカル(株)社内資料
64. Bay Vi 9143: Influence on hemodynamics and cardiac contractility of anesthetized dogs after oral administration (study no. P 701 1294): バイエルメディカル(株)社内資料
65. Safety pharmacology of Bay Vi 9143 in the gastrointestinal tract: its effect on intestinal charcoal transit, on gastric tolerability and on basal gastric acid secretion in rats: バイエルメディカル(株)社内資料
66. Bay Vi 9143: Blood-pharmacological investigations (study no. P 5011292): バイエルメディカル(株)社内資料
67. Bay Vi 9143: Influence on the blood glucose and serum triglyceride concentrations of fasted or fed rats and on the oral glucose tolerance of fasted rats after oral administration (study no. P 1011298): バイエルメディカル(株)社内資料
68. Bay Vi 9142: Investigations into the irritancy/corrosivity potential for skin and eye (rabbit) (study no. T5027141): バイエルメディカル(株)社内資料
69. Bay Vi 9142: Investigations for skin-sensitizing effects in guinea-pigs (study no. T 4024981): バイエルメディカル(株)社内資料