

(案)

動物用医薬品評価書

ゼラノール

2020年10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	4
○ 食品安全委員会委員名簿	4
○ 食品安全委員会動物用医薬品専門調査会専門委員名簿	4
○ 要約	6
I. 評価対象動物用医薬品の概要	7
1. 用途	7
2. 有効成分の一般名	7
3. 化学名	7
4. 分子式	7
5. 分子量	7
6. 構造式	7
7. 使用目的及び使用状況	7
II. 安全性に係る知見の概要	9
1. 薬物動態試験	9
(1) 代謝試験 (ラット)	9
(2) 代謝試験 (サル)	10
(3) 代謝試験 (牛)	10
(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)	11
(5) <i>in vitro</i> 代謝試験	12
2. 残留試験	13
(1) ゼラノールの単剤投与	13
(2) 酢酸トレンボロンとの複合投与	15
(3) 残留物	16
3. 遺伝毒性試験	16
4. 急性毒性試験	19
(1) 急性毒性試験 (マウス及びラット)	19
(2) 急性毒性試験 (ラット)	19
5. 亜急性毒性試験	19
(1) 8週間亜急性毒性試験 (マウス)	19
(2) 4日間亜急性毒性試験 (ラット) <参考資料>	20
(3) 6週間亜急性毒性試験 (ラット) <参考資料>	20
(4) 13週間亜急性毒性試験 (ラット) ①<参考資料>	21
(5) 13週間亜急性毒性試験 (ラット) ②<参考資料>	21
(6) 13週間亜急性毒性試験 (ラット) ③<参考資料>	21
(7) 26週間亜急性毒性試験 (ラット) <参考資料>	22

(8) 6週間亜急性毒性試験 (イヌ) <参考資料> .....	22
(9) 14週間亜急性毒性試験 (イヌ) <参考資料> .....	22
(10) 29週間亜急性毒性試験 (イヌ) <参考資料> .....	23
(11) 皮下投与による亜急性毒性試験 <参考資料> .....	23
6. 慢性毒性及び発がん性試験 .....	23
(1) 104週間慢性毒性/発がん性併合試験 (マウス) .....	23
(2) 1年間慢性毒性試験 (ラット) <参考資料> .....	26
(3) 104週間慢性毒性/発がん性併合試験 (ラット) .....	26
(4) 104~105週間慢性毒性試験 (ラット) <参考資料> .....	28
(5) 1年間慢性毒性試験 (イヌ) <参考資料> .....	29
(6) 104週間慢性毒性試験 (イヌ) .....	29
(7) 7年間慢性毒性試験 (イヌ) .....	30
(8) 10年間慢性毒性試験 (サル) .....	30
7. 生殖発生毒性試験 .....	31
(1) 1世代繁殖試験 (ラット) <参考資料> .....	31
(2) 2世代繁殖試験 (ラット) .....	32
(3) 3世代繁殖試験 (ラット) <参考資料> .....	33
(4) 生殖毒性試験 (ラット) <参考資料> .....	34
(5) 発生毒性試験 (マウス) <参考資料> .....	34
(6) 発生毒性試験 (ラット①) <参考資料> .....	34
(7) 発生毒性試験 (ラット②) <参考資料> .....	34
(8) 発生毒性試験 (ウサギ) <参考資料> .....	35
8. ホルモン作用に関する試験 .....	35
(1) 13週間投与試験 (サル) <参考資料> .....	35
(2) 3月経周期投与試験 (サル) .....	35
(3) 3月経周期又は111日間投与試験 (サル) .....	36
(4) 生殖毒性メカニズムの解析に関する試験 (マウス) .....	37
9. その他の試験 .....	37
(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 ( <i>in vitro</i> ) .....	37
(2) エストロゲン様力価に関する特殊試験 (ラット) .....	38
(3) 卵巣摘出サルを用いた試験 .....	38
10. ヒトにおける知見 .....	39
III. 国際機関等における評価 .....	40
1. JECFA の評価 .....	40
2. EU の評価 .....	40
3. 米国の評価 .....	40
4. 豪州の評価 .....	41

IV. 食品健康影響評価 .....	42
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の比較 .....	44
・ 別紙 1 : 代謝物名称 .....	46
・ 別紙 2 : 検査値等略称 .....	47
・ 参照 .....	48

### <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 6月 24日 第232回動物用医薬品専門調査会  
2020年 10月 6日 第792回食品安全委員会（報告）

### <食品安全委員会委員名簿>

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

(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

### <食品安全委員会動物用医薬品専門調査会専門委員名簿>

(2019年9月30日まで)

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

(2019年10月1日から)

青山 博昭 (座長)	島田 章則	寺岡 宏樹
------------	-------	-------

小川久美子 (座長代理)	島田 美樹	中西 剛
青木 博史	下地 善弘	能美 健彦
石川さと子	須永 藤子	宮田 昌明
石塚真由美	辻 尚利	

(2020年4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	山本 昌美

<第 228 回動物用医薬品専門調査会専門参考人名簿>

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)

<第 229 回動物用医薬品専門調査会専門参考人名簿>

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)

## 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 評価書や FDA 評価書等を用いて食品健康影響評価を実施した。

各種遺伝毒性試験の結果から、その代謝物であるゼアララノン及びタレラノールには、生体にとって特段問題となる遺伝毒性はないと考えられたことから、ADI を設定することは可能であると判断した。

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。

慢性毒性試験及び発がん性試験では、マウスを用いた 104 週間慢性毒性試験において、雄で下垂体前葉腺腫の発生率が上昇し、これは、ゼラノールのホルモン様作用に関連したものと考えた。

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、雄では毒性所見はみられなかったが、1.3 mg/kg 体重/日投与群の雌で子宮腔の拡張がみられたことから、雌の NOAEL を 0.13 mg/kg 体重/日とした。

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受胎率の減少、児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対する NOAEL を 0.15 mg/kg 体重/日とした。

得られた試験結果から、ゼラノールが生体に及ぼす典型的な作用はエストロゲン様作用に基づくものであり、ゼラノールのエストロゲン様作用に関してラットが最も感受性の高い動物種であると考えられた。したがって、ラットを用いた試験で観察されたエストロゲン様作用に基づく悪影響を指標として、これらの影響が認められなかった用量を基に ADI を設定することが適切であると判断した。

各種試験の結果、最も低い用量で認められた影響は、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みられた、子宮腔の拡張であり、NOAEL は 0.13 mg/kg 体重/日であった。

以上のことから、食品安全委員会動物用医薬品専門調査会は、当該試験の NOAEL 0.13 mg/kg 体重/日を ADI の設定の根拠とし、安全係数 100 で除した 1.3  $\mu$ g/kg 体重/日を ADI として設定することが適当と考えた。

## I. 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 ( $\alpha$ -ゼアララノール)

英名：Zeranol ( $\alpha$ -zearalanol)

### 3. 化学名

IUPAC : (3S,7R)-3,4,5,6,7,8,9,10,11,-12-Decahydro-7,14,16-trihydroxy-3-methyl-1H-2-benzoxcycloheptadecin-1-one

CAS No. : 26538-44-3

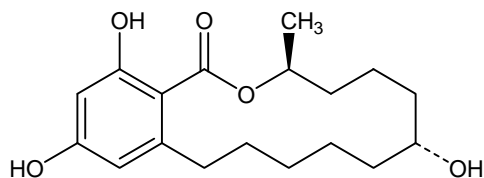
### 4. 分子式

$C_{18}H_{26}O_5$

### 5. 分子量

322.40

### 6. 構造式



(参照 2)

### 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 ( $\alpha$ -ゼアララノール) を主成分とし、タレラノール ( $\beta$ -ゼアララノール、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。

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。

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)



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）。EU においては、1989 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）。

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（参照 4）。以降、ゼラノールを主剤とするホルモン剤については、これまで承認、使用されたことはない。また、ヒト用医薬品としても承認、使用されたことはない。

なお、ポジティブリスト制度導入に伴う残留基準値<sup>1</sup>が設定されている。（参照 1）

---

<sup>1</sup> 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  $^3\text{H}$  で標識したもの(以下「[11,12- $^3\text{H}$ ]ゼラノール」という。)を用いて実施された。(参照 3)

### 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[11,12- $^3\text{H}$ ]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、 $^3\text{H}$  の交換は極めて少ないことが示された。(参照 3)

ラット (雌雄各 2 匹) に[11,12- $^3\text{H}$ ]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 Glusulase<sup>2</sup>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[ $^3\text{H}$ ]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)

表 1 ラットにおける[11,12- $^3\text{H}$ ]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 <sup>a</sup>	糞	血液
		84～207 ng eq/g	7,000～13,000 ng eq/g <sup>3</sup>	100～300 ng eq/g <sup>4</sup>	10～17 ng eq/g
雌 (n=2)	ゼラノール	25～30%	21%	20%	— <sup>c</sup>
	ゼアララノン	25～30%	26%	50%	—
	タレラノール	6～7%	4%	<10%	—
	極性物質 <sup>b</sup>	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%	—
	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

<sup>2</sup> 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。

<sup>3</sup> 原文「7-13 mg/kg」をそのまま単位換算した。

<sup>4</sup> 原文「0.1-0.3 mg/kg」をそのまま単位換算した。

## (2) 代謝試験 (サル)

サル (カニクイザル、雌雄各 2 匹) に[11,12-<sup>3</sup>H]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[11,12-<sup>3</sup>H]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)

表 2 サルにおける[11,12-<sup>3</sup>H]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 <sup>a</sup>	糞	血液
	102~195 ng eq/g	5,000 ng eq/g <sup>5</sup>	5,000 ng eq/g <sup>5</sup>	28~49 ng eq/g
ゼラノール	25%	25%	50%	— <sup>c</sup>
ゼアララノン	10%	5%	20%	—
タレラノール	10%	5%	<10%	—
極性物質 <sup>b</sup>	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[11,12-<sup>3</sup>H]ゼラノール製剤を皮下移植投与 (36 mg/頭<sup>6</sup>) 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、尿中から 12~18%、糞中から 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)

<sup>5</sup> 原文「5 mg/kg」をそのまま単位換算した。

<sup>6</sup> 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[11,12-<sup>3</sup>H]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 <sup>a</sup>	測定対象	試料			
		尿	糞 <sup>b</sup>	肝臓 <sup>c</sup>	腎臓
無し	ゼラノール	— <sup>d</sup>	25	12	※ <sup>e</sup>
	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)

## (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による組織中、体液中及び排泄物中の[<sup>3</sup>H]ゼラノールの代謝物、ラット及びサルへの経口投与による組織中、体液中及び排泄物中の[11,12-<sup>3</sup>H]ゼラノールの代謝物、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[11,12-<sup>3</sup>H]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、[11,12-<sup>3</sup>H]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)

[11,12-<sup>3</sup>H]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)

[11,12-<sup>3</sup>H]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<sup>7</sup>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)

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)

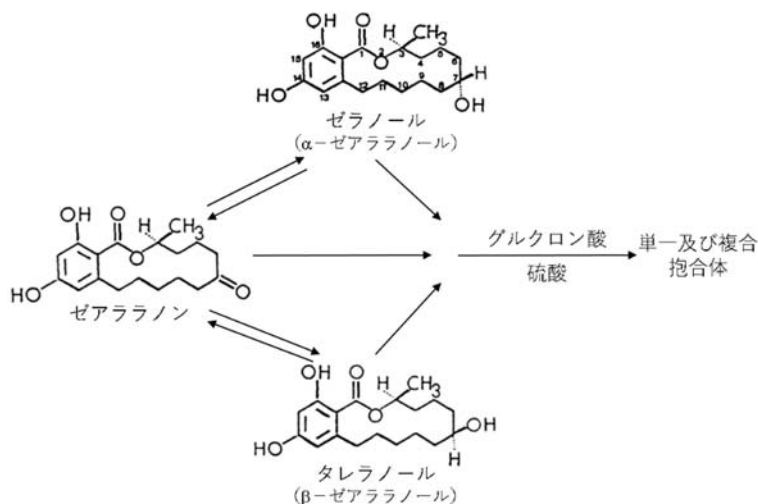


図1 哺乳動物におけるゼラノールの推定代謝経路<sup>8</sup>

### (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 位、14 位及び 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)

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で標識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。

<sup>7</sup> 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。

<sup>8</sup> JECFA 評価書 (参考 3) の FIGURE 2 を一部改変。

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 位及び 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 CYP 1A2 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)

## 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<sup>9)</sup>)

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[11,12-<sup>3</sup>H]ゼラノール製剤を皮下移植投与 (36 mg/頭<sup>9)</sup>) 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)

表 4 牛における[11,12-<sup>3</sup>H]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 <sup>a</sup>	0.10	0.30	0.25	0.26	0.14	0.098	0.035
胆汁	80	270	230	140	120	56	※ <sup>b</sup>

n=3

<sup>9</sup> JECFA 評価書 (参照 3) には「30 mg」と記載されている。

- 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、筋肉中で 0.127 ng/g、脂肪中で 0.184 ng/g、肝臓中で 0.299 ng/g 及び腎臓中で 0.157 ng/g であった。（参照 3）

## 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、肝臓で  $0.200 \pm 0.147$  ng/g、腎臓で  $0.126 \pm 0.094$  ng/g、筋肉で  $0.725 \pm 0.886$  ng/g、脂肪で  $0.073 \pm 0.040$  ng/g であった。投与 70 日後の胆汁中の残留濃度は  $3.28 \pm 1.74$  ng/mL<sup>10</sup> であった。（参照 3）

## 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）の耳下に[11,12-<sup>3</sup>H]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（各 6 頭/群）。対照群には 3 頭（1 頭/群）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）

表 5 牛における[11,12-<sup>3</sup>H]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

<sup>10</sup> 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。

### 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回までのいずれかの回数移植投与（36 mg/頭/回）し、残留試験が実施された。2回以上の移植投与する群では、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回投与群では0.73 ng/g、5回投与群では1.52 ng/g及び6回投与群では1.10 ng/gが肝臓中から検出された。（参照3）

### 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）

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（O'Keefe）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<sup>11</sup>。(参照 3)

## 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 56 日及び 84 日後の雌並びに投与 183 及び 271 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)

## (3) 残留物

*Fusarium* spp.分離株は、家畜飼料又は飼料作物から分離された株であり、自然環境下でゼラノール (及びタレラノール) を産生する。したがって、家畜飼料中において、ゼラノールが自然に存在することを考慮する必要がある、と殺された牛の組織より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検出された場合、それが天然由来である可能性があり、必ずしも移植投与が原因ではないことに留意が必要である。(参照 3)

## 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)

---

<sup>11</sup> 複合投与群又は単剤投与群のいずれか不明。

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)
		<i>S. typhimurium</i> TA98、TA100、TA1535、TA1537、TA1538 <sup>12</sup>	1~10,000 µg/plate (±S9)	陰性 (参照 5、11)
	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	25~600 µg/mL (±S9 <sup>13</sup> )	陰性 (参照 5、11)
	小核試験	C57BL マウス精細管由来初代培養精母細胞	10 <sup>-8</sup> ~10 <sup>-5</sup> mol/L	陰性 (参照 12)
	DNA 修復試験	F344 ラット (成獣雄) 肝由来初代培養細胞	1.3×10 <sup>-5</sup> ~1.3×10 <sup>-3</sup> mg/mL	陰性 (参照 5、11)
	DNA 結合試験	ラット肝由来初代培養細胞	不明	陰性 (参照 11)
	Rec アッセイ	<i>Bacillus subtilis</i> H17、M45	不明	陽性 (参照 11)
	SOS-クロモ試験	<i>Escherichia coli</i> PQ37	不明 (±S9)	陰性 (参照 11)
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)	
<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)
	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)

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

<sup>13</sup> JECFA 評価書 (参照 11) には「+S9」と記載されている。

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	
ゼアラノン				
<i>in vitro</i>	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> TA98、TA100、TA1535、TA1537、TA1538	50、500、1,000 µg/plate (+S9)	陰性 (参照 5、11)
		<i>S. typhimurium</i> TA98、TA100、TA1535、TA1537、TA1538	1.0~10,000 µg/plate (±S9)	陰性 (参照 5、11)
	遺伝子突然変異試験	マウスリンフォーマ L5178Y 細胞 (Tk+/-)	3.13~300 µg/mL (±S9 <sup>14</sup> )	陰性 (参照 5、11)
	DNA 修復試験	F344 ラット (成獣雄) 肝由来 初代培養細胞	5×10 <sup>-10</sup> ~5×10 <sup>-4</sup> mg/mL	陰性 (参照 5、11)
<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)
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)
		<i>S. typhimurium</i> TA98、TA100、TA1535、TA1537、TA1538 <sup>12</sup>	1~10,000 µg/plate <sup>15</sup> (±S9)	陰性 (参照 5、11)
	遺伝子突然変異試験	マウスリンフォーマ L5178Y 細胞 (Tk+/-)、-3.7.2C 細胞	20~160 µg/mL (±S9 <sup>13</sup> )	疑陽性 (参照 5、11)
	DNA 修復試験	F344 ラット (成獣雄) 肝由来 初代培養細胞	2×10 <sup>-5</sup> ~2×10 <sup>-1</sup> mg/mL	陰性 (参照 5、11)
	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)
<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)
	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)

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結果は陰性であった。

このため、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。

<sup>14</sup> JECFA 評価書 (参照 11) には記載がない。

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

また、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。

このため、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）

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 <sub>50</sub> (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）

#### 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）

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、食品安全委員会動物用医薬品専門調査会は、雄の NOAEL を最高用量の 100ppm (15 mg/kg 体重/日に相当<sup>16</sup>)、雌の NOAEL を 5ppm (0.75 mg/kg 体重/日に相当<sup>16</sup>) 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<sup>17</sup>>

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)

### (3) 6 週間亜急性毒性試験 (ラット) <参考資料<sup>18</sup>>

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、グラーフ卵胞の欠如、子宮内膜過形成、精囊の扁平上皮化生及び腎尿細管に石灰化円柱がみられた。(参照 11)

<sup>16</sup> 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

<sup>17</sup> 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。

<sup>18</sup> 対照群が設定されていないことから、参考資料とした。

#### (4) 13 週間亜急性毒性試験 (ラット) ①<参考資料<sup>19</sup>>

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。

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/日投与群の雌雄で、細胞内の脂肪蓄積を伴う肝細胞の空胞化の発生頻度に増加がみられた。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)

#### (5) 13 週間亜急性毒性試験 (ラット) ②<参考資料<sup>20</sup>>

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)

#### (6) 13 週間亜急性毒性試験 (ラット) ③<参考資料<sup>21</sup>>

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)

<sup>19</sup> 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。

<sup>20</sup> 試験の詳細が不明であることから、参考資料とした。

<sup>21</sup> 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。

#### (7) 26 週間亜急性毒性試験 (ラット) <参考資料<sup>22</sup>>

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<sup>23</sup>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)

#### (8) 6 週間亜急性毒性試験 (イヌ) <参考資料<sup>24</sup>>

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、雌では膈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)

#### (9) 14 週間亜急性毒性試験 (イヌ) <参考資料<sup>25</sup>>

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)

<sup>22</sup> 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。

<sup>23</sup> 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。

<sup>24</sup> 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。

<sup>25</sup> 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<sup>26</sup>>

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)

#### (11) 皮下投与による亜急性毒性試験 <参考資料<sup>27</sup>>

##### 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)

##### 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)

## 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-17 $\beta$  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、下垂体及び皮膚並びに肉眼により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上昇し、特に雌で顕著であった。

<sup>26</sup> 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から、参考資料とした。

<sup>27</sup> 皮下投与で実施されていることから、参考資料とした。



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、膺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)

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)

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、雄における精囊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)

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、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<sup>28</sup>) 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	<ul style="list-style-type: none"> <li>下垂体の大型化、精囊の拡張</li> <li>副腎の褐色変性、顎下腺の雌型への転換、胸骨の骨梁形成</li> <li>副腎の被膜下細胞過形成の増加</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>脱毛症</li> <li>副腎の褐色変性</li> <li>子宮頸管及び膣上皮の粘液産生の増加</li> </ul>
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)

<sup>28</sup> 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

## (2) 1年間慢性毒性試験(ラット) <参考資料<sup>29)</sup>>

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

全ての投与群で体重増加抑制がみられた。0.1/20 mg/kg 体重/日投与群では、Hbの減少、血小板数の増加、プロトロンビン時間の延長、前立腺、卵巣及び精嚢の絶対及び相対重量の減少並びに子宮及び脳下垂体の絶対及び相対重量の増加がみられた。肝細胞グリコーゲン枯渇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)

## (3) 104週間慢性毒性/発がん性併合試験(ラット)

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

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

<sup>29)</sup> 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ことから、参考資料とした。

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な差はみられなかった。25ppm 投与群の雌の子宮重量は増加したが、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、統計学的な有意な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。

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みられたが、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)、膈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、膵臓、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 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)

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 投与群で子宮腔の拡張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<sup>30</sup>)、雌に対する NOAEL を 2.5ppm (0.13 mg/kg 体重/日に相当<sup>30</sup>) 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)	子宮腔の拡張
2.5 以下	毒性所見なし	毒性所見なし <sup>a</sup>

<sup>a</sup>: 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)

#### (4) 104~105 週間慢性毒性試験 (ラット) <参考資料<sup>31</sup>>

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、精囊、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。

病理組織学的検査では、投与群の全例で、肝臓、卵巣、子宮、精巣、前立腺及び精囊に変化がみられた。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、精囊及び精巣では、軽度~中等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)

<sup>30</sup> 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

<sup>31</sup> 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。

(5) 1年間慢性毒性試験（イヌ）＜参考資料<sup>32)</sup>＞

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）

(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。

すべての投与群で、雄の体重が対照群の値よりやや高かった。

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 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）

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<sup>33)</sup>）と設定した。

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	<ul style="list-style-type: none"> <li>急速な赤血球沈降速度、WBC の増加及びリンパ球の減少</li> <li>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</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>急速な赤血球沈降速度、WBC の増加及びリンパ球の減少</li> <li>子宮、肝臓、腎臓、副腎及び甲状腺の相対重量の増加</li> <li>乳腺及び子宮の大型化、外陰部の腫脹</li> </ul>

<sup>32)</sup> 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。

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

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

	<ul style="list-style-type: none"> <li>・精巣の小型化、包皮の浮腫、前立腺の大型化</li> <li>・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</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・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</li> </ul>
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)

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	<ul style="list-style-type: none"> <li>・平均体重の低値</li> </ul>
15 以上	<ul style="list-style-type: none"> <li>・(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</li> <li>・(子宮摘出前の) 食欲不振及び嗜眠</li> <li>・卵巣の平均及び相対重量の増加</li> <li>・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</li> </ul>

### (8) 10 年間慢性毒性試験 (サル)

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 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 匹が死亡したことから、各群の動物数を維持するために、別の 7 匹を導入した。

毒性所見を表 16 に示した。

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）

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	<ul style="list-style-type: none"> <li>・無月経の長期化、長期膣出血</li> <li>・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</li> <li>・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</li> <li>・成熟卵胞及び黄体の欠如、頸部上皮の表在性萎縮、乳腺小葉の形成、管上皮増殖</li> <li>・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</li> </ul>
15 以上	<ul style="list-style-type: none"> <li>・体重増加抑制</li> <li>・肝臓及び子宮の平均絶対及び相対重量の増加</li> <li>・卵巣の平均絶対及び相対重量の低下</li> <li>・Hb、Ht 及び RBC の一過性の低値、血液凝固時間の散発的延長</li> <li>・血清中 ALT 活性（SGPT）、TG 及び Chol の上昇</li> <li>・子宮内膜の増殖<sup>34</sup></li> <li>・嚢胞性子宮内膜過形成、子宮筋層肥大、外性子宮内膜症</li> </ul>
不明	<ul style="list-style-type: none"> <li>・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</li> <li>・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</li> <li>・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</li> </ul>

## 7. 生殖発生毒性試験

### (1) 1世代繁殖試験（ラット）＜参考資料<sup>35</sup>＞

ラット（SD系、約7週齢、体重約200g、雌雄各10匹/群）に交配前4週から児動物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（F<sub>1</sub>）を哺育させた。雄及び雌の親動物（F<sub>0</sub>）は、それぞれ交配後及び離乳後に剖検した。児動物（F<sub>1</sub>）には、離乳後3週間<sup>36</sup>にわたりゼラノールを混餌投与し、6週齢で剖検した。

<sup>34</sup> 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。

<sup>35</sup> 試験の詳細が不明であることから、参考資料とした。

<sup>36</sup> JECFA 評価書（参照11）には3～4週間と記載されている。



JECFA は、雄親動物 (F<sub>0</sub>) の全投与群において、対照群と比較して、摂餌量が減少し、体重の低下がみられたとした (高濃度で 19% の減少)。雌親動物 (F<sub>0</sub>) の 12.5ppm 及び 25ppm 投与群は、摂取量は対照群と比較して軽微な低下であったのに対し、大きな体重減少を見せた (21% の減少)。親動物では、肝臓、精囊及び卵巣の絶対及び相対重量の低下が全投与群で見られた。(参照 11)

JECFA は、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、大きく用量に依存する作用はなかったとした。また、児動物 (F<sub>1</sub>) の高濃度投与群では哺育期に重篤な体重減少がみられ、それは離乳後も維持された。12.5ppm 投与群でも体重抑制がみられたが、より低い濃度では見られなかった。(参照 11)

肉眼的剖検所見では、いずれの世代 (F<sub>0</sub> 及び F<sub>1</sub>) の動物にも投与の影響みられなかった。(参照 5、11)

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、高濃度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。FDA は、生殖における無毒性量 (Reproduction no-effect dose) を 25.0ppm (1.25 mg/kg 体重/day)、無毒性量 (No-effect dose) を 12.5ppm (0.625 mg/kg 体重/day) と設定した。(参照 5)

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、F<sub>0</sub> 世代の全投与群でみられた雄の体重及び摂餌量の低下と、肝臓、精囊及び卵巣の絶対及び相対重量の低下について、JECFA 評価書 (参照 11) の記載では統計学的有意差の有無が不明であること、及び FDA 評価書 (参照 5) ではこれらについて言及がないことから、不確実なデータを基に NOAEL を設定することは適切でないと判断した。

## (2) 2 世代繁殖試験 (ラット)

ラット (CD 系、雌雄各 30 匹/群) にゼラノールを混餌投与 (0、0.3、3 又は 30ppm) し、2 世代繁殖試験が実施された。F<sub>0</sub> 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<sub>1a</sub>、F<sub>1b</sub>) 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 F<sub>1</sub> 親動物 (F<sub>1b</sub>) には、F<sub>0</sub> 親動物とほぼ同様に、交配前 14 週間、交配、妊娠及び哺育 (F<sub>2a</sub>、F<sub>2b</sub>) 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、F<sub>0</sub> 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 (F<sub>0</sub>、F<sub>1</sub>)、肉眼的剖検所見 (F<sub>0</sub>、F<sub>1</sub>) 及び病理組織学的評価 (F<sub>0</sub>) 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。(参照 5)

FDA は、0.3 及び 3ppm では毒性影響はみられず、生殖に対する毒性がみられなかった用量 (reproduction no-effect dose) は 3ppm であり、生殖に対する無毒性量 (reproduction no-effect level) を 0.25 mg/kg 体重/日と設定した。(参照 5)

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/日に相当<sup>37)</sup>) と設定した。

表 18 ラットを用いた 2 世代繁殖試験における毒性所見

投与量 (ppm)	親動物	児動物
30	体重低下 (交配前期間)、体重増加抑制 (交配～剖検) : F <sub>0</sub> 及び F <sub>1</sub> の雌雄 体重増加抑制 (妊娠 0～20 日) : F <sub>0</sub> 及び F <sub>1</sub> の雌 妊娠率及び授胎率減少 : F <sub>1</sub> の雌雄	出生児数の減少、体重の低値 (哺乳 14, 21 日) : F <sub>1</sub> 及び F <sub>2</sub>
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<sup>38)</sup>>

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<sub>1b</sub> 及び F<sub>2b</sub>) 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<sub>1c</sub> 及び F<sub>2c</sub>) 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)

<sup>37)</sup> 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

<sup>38)</sup> 試験の詳細が不明であることから、参考資料とした。

#### (4) 生殖毒性試験（ラット）＜参考資料<sup>39</sup>＞

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 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）

#### (5) 発生毒性試験（マウス）＜参考資料<sup>40</sup>＞

マウス（CD-1<sup>41</sup>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）

#### (6) 発生毒性試験（ラット①）＜参考資料<sup>42</sup>＞

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阻害が観察された。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）

#### (7) 発生毒性試験（ラット②）＜参考資料<sup>43</sup>＞

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）

<sup>39</sup> 試験の詳細が不明であることから、参考資料とした。

<sup>40</sup> 皮下投与で実施されていることから、参考資料とした。

<sup>41</sup> 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。

<sup>42</sup> 試験の詳細が不明であることから、参考資料とした。

<sup>43</sup> 試験の詳細が不明であることから、参考資料とした。

## (8) 発生毒性試験 (ウサギ) <参考資料<sup>44</sup>>

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)

## 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<sup>45</sup>>

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)

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)

### (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-17 $\beta$  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-17 $\beta$  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。膺上皮の角化 (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-17 $\beta$  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。

<sup>44</sup> 試験の詳細が不明であることから、参考資料とした。

<sup>45</sup> 対照群が設定されていないことから、参考資料とした。

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 17β 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)

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)

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、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、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。

### (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)

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)

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)

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、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	<ul style="list-style-type: none"> <li>・月経周期の停止又は著しい延長</li> <li>・排卵率の抑制</li> </ul>

	・エストラジオール濃度の低下、LH 及び FSH 濃度の上昇 及び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、エストラジオール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)

### 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)

1~2 週間馴化されたマウス (ICR 系、6 又は 7 週齢、体重約 35 g、10~11 匹/群) の卵巣を 8 週齢で摘出し、その 1 か月後にゼラノール (0.5、2、10、50、100 mg/kg 体重/日) 又はエストラジオール-17 $\beta$  (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-17 $\beta$  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)

##### ② エストロゲン受容体との親和性に関する特殊試験 (*in vitro*)

*in vitro* にて、<sup>3</sup>H]エストラジオール-17 $\beta$  (10 nM) とヒトエストロゲン受容体  $\alpha$  (ER $\alpha$ ) またはエストロゲン受容体  $\beta$  (ER $\beta$ ) との結合に対するゼラノールおよび非標識エストラジオール-17 $\beta$  の競合阻害性が検討された。

ER $\alpha$ におけるゼラノール及び非標識エストラジオール-17 $\beta$ のIC<sub>50</sub>は、それぞれ2.18及び1.04  $\mu\text{mol/L}$ であった。また、ER $\beta$ におけるゼラノール及び非標識エストラジオール-17 $\beta$ のER $\beta$ とのIC<sub>50</sub>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ER $\alpha$ 及びER $\beta$ に対する相対結合性はそれぞれエストラジオール-17 $\beta$ の48及び23%に相当した。(参照15)

## (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-17 $\beta$ 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-17 $\beta$ 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-17 $\beta$ の1/500であった。(参照11)

以上から、*in vitro*に比べ*in vivo*では、エストラジオール-17 $\beta$ 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。

## (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正常な生理反応を見る膺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)

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。

食品安全委員会動物用医薬品専門調査会は、限られた情報ではあるものの、卵巣を摘出したサルを用いた試験では0.5 mg/kg 体重/日以上投与群でエストロゲン様作用を示したものと判断した。また、この用量では下垂体ホルモンへの影響が観察されなかったことから、その作用はネガティブフィードバック機構の変化をもたらさない可能性が高いものと推察した。一方、0.05 mg/kg 体重/日の用量では、ゼラノールのエストロゲン様作用は何も認められなかった。(参照11)

## 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)

#### 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用するものが禁止された。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)。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)

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 年初頭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)

#### 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)

FDA は、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)

#### 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がみられたことから NOEL 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)

#### 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。

牛を用いた残留試験の結果から、[11,12-<sup>3</sup>H]ゼラノールを耳下に皮下移植投与（36 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。

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。

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した。この下垂体でみられた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することが報告されており、エストラジオール-17β を投与した陽性対照群では、投与群又は陰性対照群より発生頻度が高かったことから、ゼラノールの発がん作用はエストロゲン様作用と関連しており、腫瘍に関連したホル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定を行い、ADI を設定することが可能であると判断した。

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、雄では毒性所見はみられなかったが、1.3 mg/kg 体重/日投与群の雌で子宮腔の拡張がみられたことから、雌の NOAEL を 0.13 mg/kg 体重/日とした。

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おける体重低下又は体重増加抑制、F<sub>1</sub> 親動物における妊娠率及び受胎率の減少、児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対する NOAEL を 0.15 mg/kg 体重/日とした。

得られた試験結果から、ゼラノールが生体に及ぼす典型的な作用はエストロゲン様作用に基づくものであり、その力価は天然ホルモンであるエストラジオール-17β より弱いと考えられた。また、発がん性、慢性毒性または生殖発生への影響を指標として各種実験動物種間で生殖腺を有する（去勢等の処置を施されていない）動物に対するゼラノールのエストロゲン様作用の強度を比較したところ、ラットを用いた種々の試験における無毒性量が他の動物種を用いた試験で得られた無毒性量あるいは無影響量より低いことが明らかとなったことから、ゼラノールのエストロゲン様作用に関してラットが最も感受性の高い動物種であると考えられた。したがって、ラットを用いた試験で観察されたエストロゲン様作用に基づく悪影響を指標として、これらの影響が認められなかった用

量を基に ADI を設定することが適切であると判断した。

各種試験の結果、最も低い用量で認められた影響は、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みられた、子宮腔の拡張であり、NOAEL は 0.13 mg/kg 体重/日であった。

食品安全委員会動物用医薬品専門調査会は、当該試験の NOAEL 0.13 mg/kg 体重/日を ADI の設定の根拠とし、安全係数 100 で除した 1.3 µg/kg 体重/日を ADI として設定することが適切と考えた。

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ことが適切と考えられる。

ADI 1.3 µg/kg 体重/日

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

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	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	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	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 子宮腔の拡張
	2世代繁殖	0、0.3、3、30ppm (混餌投与)	—	0.25(repro duction no-effect level)	親・児：0.15 体重低下等
イヌ	104週間慢性毒性	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	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	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	0、0.05、0.5、5 (経口投与) ※雌のみ	5 <sup>c</sup>	/	— <sup>a</sup>
	3月経周期又は111 日間投与	0、0.5、5、50 (経口投与) ※雌のみ	5 <sup>c</sup>	5 <sup>c</sup>	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
	卵巣摘出サルを用 いた試験	0.05、0.5、5 (経口投与) ※卵巣摘出雌	0.05 <sup>c</sup> エストロ ゲン様作 用	/	— <sup>b</sup>

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
	毒性学的 ADI		0.0005 mg/kg NOEL : 0.05 SF : 100	0.00125 mg/kg NOEL : 0.125 SF : 100	0.0013 mg/kg NOEL : 0.13 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	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

<別紙 1 : 代謝物名称>

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

<別紙2：検査値等略称>

略称等	名称
ADI	Acceptable Daily Intake：許容一日摂取量
ALT	Alanine transaminase：アラニンアミノトランスフェラーゼ [=Glutamic Pyruvic Transaminase：グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ（GPT）]
CMC	Carboxymethyl cellulose：カルボキシルメチルセルロース
CYP	Cytochrome P450：チトクローム P450
EC	European Commission：欧州委員会
EFSA	European Food Safety Authority：欧州食品安全機関
FDA	Food and Drug Administration：米国食品医薬品庁
FSH	Follicle stimulating hormone：卵胞刺激ホルモン
Glu	Glucose：グルコース（血糖）
HPLC	High pressure liquid chromatography：高速液体クロマトグラフィー
Hb	Hemoglobin：ヘモグロビン量（血色素量）
Ht	Hematocrit：ヘマトクリット値
JECFA	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 <sub>50</sub>	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	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



<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.
3. JECFA: Zeranone: Residues of some veterinary drugs in foods and animals. FAO Food and Nutrition Paper, 41-1, 1987.
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.
5. FDA: XI. Freedom of information summary, Ralgro® brand of zeranone implants: NADA38-233V, 1989
6. Migdalof BH, Dugger HA, Heider JG, Coombs RA, Terry MK: Biotransformation of zeranone: disposition and metabolism in the female rat, rabbit, dog, monkey and man. Xenobiotica, 1983; 13(4): 209-221
7. Bories G, Suarez AF: Profiling of free and conjugated [<sup>3</sup>H] zeranone metabolites in pig plasma. J Chromatogr, 1989; 489(1): 191-197
8. Pfeiffer E, Hildebrand A, Mikula H, Metzler M: Glucuronidation of zearalenone, zeranone 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
9. Bories GF, Perdu-Durand EF, Sutra JF, Tulliez JE: Evidence for glucuronidation and sulfation of zeranone and metabolites (taleranone and zearalenone) by rat and pig hepatic subfractions. Drug Metab Dispos, 1991; 19(1): 140-143
10. Hildebrand A, Pfeiffer E, Metzler M: Aromatic hydroxylation and catechol formation: A novel metabolic pathway of the growth promoter zeranone. Toxicol Lett, 2010; 192(3): 379-86
11. JECFA: Zeranone: Toxicological evaluation of certain veterinary drug residues in food. WHO Food Additives Series, No. 23. Cambridge University Press, 1988, nos 646 on INCHEM.
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
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
14. Wang Y, Li L, Wang CC, Leung LK: Effect of zeranone on expression of apoptotic and cell cycle proteins in murine placentae. Toxicology, 2013; 314(1): 148-154
15. Takemura H, Shim JY, Sayama K, Tsubura A, Zhu BT, Shimoi K: Characterization of the estrogenic activities of zearalenone and zeranone *in vivo* and *in vitro*. J Steroid Biochem Mol Biol, 2007; 103(2): 170-177
16. Bo C, Zhao W, Jia Q, Yang Z, Sai L, Zhang F, Du Z, Yu G, Xie L, Zhang Z: Effects of  $\alpha$ -zearalenone on spermatogenesis and sex hormone levels of male mice. Int J Clin Exp Med, 2015; 8(11): 20002-20013

17. JECFA: Zeranol: Evaluation of certain veterinary drug residues in food. Thirty-second report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. WHO Technical Report Series, 1988; 763
18. EUROPEAN COMMISSION: Opinion of the scientific committee on veterinary measures relating to public health. Assessment of potential risks to human health from hormone residues in bovine meat and meat products. 1999
19. EUROPEAN COMMISSION: Review of specific documents relating to the SCVPH opinions of 30 April 99 on the potential risks to human health from hormone residues in bovine meat and meat products. 2000
20. EUROPEAN COMMISSION: Opinion of the scientific committee on veterinary measures relating to public health on review of previous SCVPH opinions of 30 April 1999 and 3 May 2000 on the potential risks to human health from hormone residues in bovine meat and meat products. 2002
21. EFSA: Opinion of the scientific panel on contaminants in the food chain on a request from the European Commission related to hormone residues in bovine meat and meat products. The EFSA Journal, 2007; 510: 1-62.
22. FDA: Federal Register, 2002; Vol.67,No.31: 6867
23. FDA: Freedom of information summary, Original new animal drug application: NADA141-192, Zeranol Long Acting (Ralgro® LA), 2001
24. FDA: Title 21, Electronic Code of Federal Regulations, part 556.760, 2019
25. Australian Government. Australian Pesticides and Veterinary Medicines Authority: Acceptable Daily Intakes (ADI) for agricultural and veterinary chemicals used in food producing crops or animals. Edition 1/2019, current as of 31 March 2019
26. Department of Health and Ageing (Australia): A review to update Australia's position on the human safety of residues of hormone growth promotants (HGPs) used in cattle. 2003