

(案)

動物用医薬品評価書

アルトレノゲスト

2015年11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	3
○食品安全委員会委員名簿	3
○食品安全委員会動物用医薬品専門調査会専門委員名簿	3
○要約	4
I. 評価対象動物用医薬品の概要	5
1. 用途	5
2. 有効成分の一般名	5
3. 化学名	5
4. 分子式	5
5. 分子量	5
6. 構造式	5
7. 使用目的及び使用状況	5
II. 安全性に係る知見の概要	7
1. 薬物動態試験	7
(1) 薬物動態試験（ラット）	7
(2) 薬物動態試験（豚、単回及び反復投与）①	7
(3) 薬物動態試験（豚、単回及び反復投与）②	9
(4) 薬物動態試験（豚、反復投与）①	11
(5) 薬物動態試験（豚、反復投与）②	12
(6) 薬物動態試験（豚、反復投与）③	14
(7) 残留物のバイオアベイラビリティ試験（ラット）	14
(8) 薬物動態試験（豚及び馬）	15
(9) 薬物動態試験（馬、反復投与）①	15
(10) 薬物動態試験（馬、反復投与）②	16
(11) 薬物動態試験（馬、反復投与）③	16
2. 残留試験	16
(1) 残留試験（豚）①	16
(2) 残留試験（豚）②	17
(3) 残留試験（豚）③	17
(4) 残留試験（馬）	18
3. 遺伝毒性試験	18
4. 急性毒性試験	19
5. 亜急性毒性試験	20
(1) 2か月間亜急性毒性試験（ラット）	20
(2) 13週間亜急性毒性試験（ラット）	20

(3) 13 週間亜急性毒性試験 (豚) <参考資料>	21
(4) 3 月経周期 (又は 90 日間) 経口投与試験 (サル)	21
6. 慢性毒性試験及び発がん性試験	22
(1) 1 年間慢性毒性試験 (ラット)	22
(2) 1 年間慢性毒性試験 (イヌ)	23
(3) 1 年間慢性毒性試験 (豚) <参考資料>	24
7. 生殖発生毒性試験	25
(1) 1 世代繁殖試験 (ラット) <参考資料>	25
(2) 2 世代繁殖試験 (ラット)	25
8. 安全性試験	27
(1) 忍容性試験 (豚) <参考資料>	27
(2) 安全性試験 (豚) <参考資料>	28
9. その他の試験	29
(1) アルトレノゲスト及び代謝物のホルモン活性	29
III. 国際機関等における評価	31
1. EMA における評価	31
2. 米国 FDA における評価	31
3. 豪州政府における評価	31
4. Health Canada における評価	31
IV. 食品健康影響評価	32
1. 薬物動態及び毒性学的影響について	32
(1) 薬物動態及び残留試験	32
(2) 遺伝毒性試験	32
(3) 亜急性毒性試験	32
(4) 慢性毒性及び発がん性試験	32
(5) 生殖発生毒性試験	32
2. 食品健康影響評価について	33
・表 31 EMA、FDA 及び豪州における各種試験の無毒性量等の比較	34
・別紙：検査値等略称	36
・参照	37

<審議の経緯>

- 2005年 11月 29日 暫定基準告示（参照1）
2013年 3月 8日 インポートトレランス申請
2015年 6月 23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0623第6号）、関係資料の接受
2015年 6月 30日 第567回食品安全委員会（要請事項説明）
2015年 8月 20日 第183回動物用医薬品専門調査会
2015年 9月 18日 第185回動物用医薬品専門調査会
2015年 11月 17日 第584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)	(2015年7月1日から)
熊谷 進 (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)	熊谷 進
三森 国敏 (委員長代理)	吉田 緑
石井 克枝	石井 克枝
上安平 冽子	堀口 逸子
村田 容常	村田 容常

<食品安全委員会動物用医薬品専門調査会専門委員名簿>

(2015年9月30日まで)		
山手 丈至 (座長)	須永 藤子	山崎 浩史
小川 久美子 (座長代理)	辻 尚利	吉田 和生
青木 博史	寺岡 宏樹	吉田 敏則
青山 博昭	能美 健彦	渡邊 敏明
石川 さと子	舞田 正志	
石川 整	松尾 三郎	
川治 聡子	宮田 昌明	

(2015年10月1日から)		
青山 博昭 (座長)	須永 藤子	山崎 浩史
小川 久美子 (座長代理)	辻 尚利	吉田 和生
青木 博史	寺岡 宏樹	吉田 敏則
石川 さと子	能美 健彦	渡邊 敏明
石塚 真由美	舞田 正志	
島田 章則	宮田 昌明	

要 約

ホルモン剤である「アルトレノゲスト」(CAS No. 850-52-2) について、インポートトレランス申請資料、EMA や FDA の評価書、豪州政府提出資料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、豚及び馬)、残留 (豚及び馬)、遺伝毒性、急性毒性 (マウス、ラット及びイヌ)、亜急性毒性 (ラット、豚及びサル)、慢性毒性及び発がん性 (ラット、豚及びイヌ)、生殖発生毒性 (ラット) 等の試験成績である。

各種遺伝毒性試験結果から、アルトレノゲストは、生体にとって問題となる遺伝毒性を示さないと考えられた。また、発がん性試験は実施されていないが、各動物種を用いた 1 年間慢性毒性試験でみられた変化はホルモン作用に関連したものであり腫瘍性変化及び前腫瘍性変化はみられなかった。したがって、アルトレノゲストは遺伝毒性発がん物質ではないと考えられることから、一日摂取許容量 (ADI) を設定することが可能であると判断した。

各種毒性試験結果から、アルトレノゲストの投与による影響は、主にホルモン作用に基づく生殖器 (精巣、前立腺及び精巣上体) の絶対重量の減少並びに病理組織学的変化 (雄で前立腺及び精囊の分泌物の減少、精巣の精子形成の低下等) であった。

ラットに対する発生毒性評価指標を含む 2 世代繁殖試験において、催奇形性は認められなかった。

各種毒性試験結果から、最も低い用量でみられた影響は、サルを用いた 3 月経周期投与試験における月経周期及び血清中ホルモン濃度への影響であり、ホルモン作用に対する無毒性量 (NOAEL) は 0.004 mg/kg 体重/日であった。

以上のことから、サルの 3 月経周期投与試験の NOAEL 0.004 mg/kg 体重/日に安全係数 100 を適用し、ADI を 0.00004 mg/kg 体重/日 (0.04 µg/kg 体重/日) と設定した。

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：アルトレノゲスト（アリルトレンボロン）

英名：Altrenogest (allyltrenbolone)

3. 化学名

IUPAC

英名：(8*S*,13*S*,14*S*,17*R*)-17-hydroxy-13-methyl-17-prop-2-enyl-1,2,6,7,8,14,15,16-octahydrocyclopenta[*a*]phenanthren-3-one

CAS (No. 850-52-2)

英名：(17β)-17-hydroxy-17-(2-propen-1-yl)estra-4,9,11-trien-3-one

(参照 2、3)

4. 分子式

C₂₁H₂₆O₂

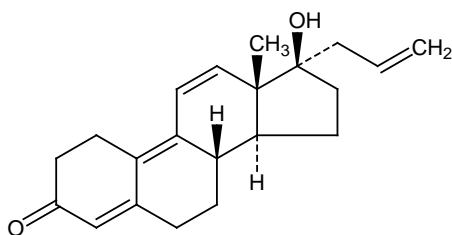
(参照 3)

5. 分子量

310.43

(参照 3)

6. 構造式



(参照 3)

7. 使用目的及び使用状況

アルトレノゲストは、炭素数 21 の 19-ノルテストステロン類に属する合成ホルモン剤であり、経口投与で活性を示す。他のステロイドと同様、アルトレノゲストは脂溶性であることにより標的細胞に浸透し、特異的な受容体と結合することにより作用する。(参照 2、4) アルトレノゲストは、黄体ホルモンに類似した生理活性を有しており、脳下垂体に作用して負のフィードバック機構により性腺刺激ホルモンの分泌を遮断する。一定期間投与後に投与を中止すると数日後には高い確率で発情が出現する。この原理を応用し、動物用医薬品としては豚及び馬の発情同期化に用いられる。(参照 2、4) また、アルトレノゲストは、弱いエストロゲン作用、同化作用及びアンドロゲン作用を有するが、コルチコイド作用及び抗炎症作用はない。(参照 4)

日本では、アルトレノゲストを有効成分とする動物用及びヒト用医薬品の承認はない。海外では、動物用医薬品として、フランスで 1984 年に承認されて以降、EU 諸国、北米、南米、アジア、オセアニア及びアフリカの国々で承認されている。(参照 2)

今般、インポートトレランス申請に伴い、厚生労働省より残留基準値の設定に係る評価要請がなされた。

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)

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、インポートトレランス申請資料、EMA や FDA の評価書、豪州政府提出資料等を基に、毒性に関する主な知見を整理した。(参照 2、4~7)

検査値等略称を別紙に示した。

1. 薬物動態試験

(1) 薬物動態試験 (ラット)

① 吸収

バイオアベイラビリティ試験 [II. 1. (7)] で ^3H 標識アルトレノゲストを投与したラットの投与 48 時間後における尿、胆汁及びビーカー²中の放射活性の合計から、経口投与による体内吸収率は少なくとも雄で 82.6%、雌で 81.6%であると考えられた。

② 排泄

ラット (系統、性別及び匹数不明) にアルトレノゲストを単回経口投与した試験では、ラットはアルトレノゲストを主に胆汁を介して糞中に排泄 (60%) し、尿中へは投与量の 20%を排泄した。(参照 4)

(2) 薬物動態試験 (豚、単回及び反復投与) ①

豚 (LW 種、若齢雌 2 頭) にアルトレノゲストの 6 位及び 7 位の水素を ^3H で標識したもの (以下「[6,7- ^3H]標識アルトレノゲスト」という。) を 20 mg/頭の用量で、胃内挿管により単回強制経口投与、又は豚 (ラージホワイト種、若齢雌、7 頭) に同様に 7 日間強制経口投与して、薬物動態試験が実施された。血漿中及び組織中の放射活性を液体シンチレーション計測 (LSC) により測定した。各試験方法の詳細を表 1 に示した。

表 1 豚を用いた[6,7- ^3H]標識アルトレノゲストの単回及び反復投与試験方法

試験群	動物数	投与量 (mg/頭)	投与方法	試料採取時点
単回投与群	2 頭 組織：1 頭/時点	20	単回	血液：投与前、投与 1、2、4、8、12、24、48 時間後 組織：投与 48、120 時間後
反復投与群	7 頭 組織：1 頭/時点	20	7 日間反復	血液：投与前、投与期間中の投与直前、最終投与 1、2、4、8、12、24、48、72、96、120、144、168、192、216、240、264、288、312、336、360 時間後 組織：最終投与 24、48、72、120、168、240、360 時間後

① 血漿中濃度

各投与群の血漿中の総放射活性及びアルトレノゲスト濃度を表 2 に、単回投与群の薬物動態パラメーターを表 3 に示した。

² 臓器を取り除いた残渣 (以下同じ)。

単回投与群では、血漿中放射活性濃度は、投与 1 時間後に C_{max} に達し、その後速やかに減少した。アルトレノゲストの終末 $T_{1/2}$ は 12 時間であった。

反復投与群では、血漿中放射活性濃度は、最終投与 2 時間後に C_{max} に達し、その後速やかに減少した。アルトレノゲストの終末 $T_{1/2}$ は 24 時間であった。(参照 2、5、6)

表 2 豚における[6,7- 3H]標識アルトレノゲスト単回又は 7 日間強制経口投与後の血漿中の総放射活性及びアルトレノゲストの濃度 (ng eq/mL)

試験群	測定対象	投与後時間 (時間)									
		1	2	4	8	12	24	48	72	96	120
単回投与群	総放射活性	184	109	68	44	29	16	7	/	/	3 ^a
	アルトレノゲスト	177	107	71	40	24	13	3	/	/	2 ^a
反復投与群	総放射活性	90	95	86	75	60	40	22	20 ^a	/	11 ^a
	アルトレノゲスト	85	90	80	68	55	33	16	9 ^a	/	9 ^a

a : 組織採取した 1 頭の値、/ : 測定せず

表 3 単回投与後の薬物動態パラメーター

試験群	測定対象	C_{max} (ng eq/mL)	T_{max} (hr)	AUC (ng eq · hr/mL)
単回投与群	総放射活性	184	1.0	1,226
	アルトレノゲスト	177	1.0	1,067

② 分布

血漿、胆汁及び組織中の放射活性濃度を表 4 に示した。

単回投与群では、放射活性濃度は肝臓及び腎臓において高値を示したが、筋肉及び脂肪中では、血漿中と同程度であった。

反復投与群では、放射活性濃度は最終投与 24 時間後に、肝臓、腎臓及び胆汁において高値を示したが、筋肉及び脂肪中では、血漿中と同程度であった。(参照 2、5、6)

表 4 血漿、胆汁及び組織中の総放射活性及びアルトレノゲストの濃度 (ng eq/mL 又は ng eq/g)

試験群	試料 (n=1)	測定対象	投与後時間 (時間)						
			24	48	72	120	168	240	360
単回投与群	血漿	総放射活性	/	7	/	3	/	/	/
		アルトレノゲスト	/	3	/	2	/	/	/
	肝臓	総放射活性	/	51	/	21	/	/	/
		アルトレノゲスト	/	49	/	20	/	/	/
	腎臓	総放射活性	/	24	/	8	/	/	/
		アルトレノゲスト	/	22	/	7	/	/	/
	筋肉 (肩)	総放射活性	/	3	/	2	/	/	/
		アルトレノゲスト	/	2	/	1	/	/	/
	筋肉 (脚部)	総放射活性	/	3	/	2	/	/	/
		アルトレノゲスト	/	2	/	1	/	/	/

	脂肪 (腎周囲)	総放射活性	/	10	/	<1	/	/	/
		アルトレノゲスト	/	5	/	1	/	/	/
	脂肪 (皮下)	総放射活性	/	6	/	<1	/	/	/
		アルトレノゲスト	/	6	/	1	/	/	/
反 復 投 与 群	血漿	総放射活性	24	19	20	11	12	9	<2
		アルトレノゲスト	17	10	9	9	<2	<2	<2
	肝臓	総放射活性	432	172	190	105	46	48	36
		アルトレノゲスト	449	167	167	103	40	47	36
	腎臓	総放射活性	122	96	77	39	24	22	12
		アルトレノゲスト	124	93	76	40	20	21	11
	筋肉 (肩)	総放射活性	10	13	13	8	4	3	3
		アルトレノゲスト	7	9	6	6	2	<2	2
	筋肉 (脚部)	総放射活性	11	20	10	8	4	3	4
		アルトレノゲスト	6	16	6	5	2	<2	3
	脂肪 (腎周囲)	総放射活性	33	14	6	6	<2	<2	<2
		アルトレノゲスト	27	12	4	5	<2	<2	<2
	脂肪 (皮下)	総放射活性	22	12	7	7	<2	<2	<2
		アルトレノゲスト	20	12	4	6	<2	<2	<2
	胆汁	総放射活性	1,620	769	236	72	87	8	5
		アルトレノゲスト	1,550	810	206	62	81	<2	<2

/ : 測定せず

(3) 薬物動態試験 (豚、単回及び反復投与) ②

豚 (LW 種、約 9 か月齢、雌) に [6,7-³H] 標識アルトレノゲストを胃内挿管により単回又は反復投与し、LSC 及び薄層クロマトグラフィー (TLC) により、血液、組織、尿及び糞中の放射活性を測定して、分布及び代謝物が検討された。本投与試験方法は 3 通りあり、その詳細を表 5 に示した。

表 5 豚を用いた [6,7-³H] 標識アルトレノゲストの単回及び反復投与試験方法

試験	動物数	投与量 (mg/頭)	投与 方法	試料採取時点
1	1 頭	170	単回	血液、組織：投与 24 時間後 尿：投与後 24 時間
2	14 頭 組織：2 又は 3 頭/時点	20	18 日間 反復	血液：投与開始 24、40、96 時間、8、12、16 日後、最 終投与 1、2、4、8、12、24 時間、2、3、4、6、8、 10、13、15、22、27、30 日後 尿：第 17 回投与後 24 時間 組織：最終投与 6 時間、5、10、15、30 日後
3	12 頭 組織：3 頭/時点	20	3 日間 反復	血液：投与開始 24、48 時間、最終投与 1、2、4、8、 12、24 時間、2、3、4、5、6、8、10、13、15、18、 22 日後 組織：最終投与 5、10、15、30 日後

① 血漿中濃度

3日間投与群では、血漿中のアルトレノゲスト濃度は3日間の投与期間中に上昇し続け、最終投与1時間後にC_{max} (55.5 ng eq/mL) に達した。その後濃度は23時間のT_{1/2}で一相性に低下し、最終投与4日後には検出限界より僅かに高い値となった。

18日間投与群では、血漿中のアルトレノゲスト濃度は、投与を開始した数日間で着実に上昇し、投与開始4日後には16.1 ng eq/mLを示した。その後平均濃度はほとんど変わらなかったため定常状態に達したと考えられた。投与開始16日後の濃度は17.9 ng eq/mLであった。最終投与4時間後にC_{max} (36.5 ng eq/mL) に達し、その後濃度は2相性に低下した。β相は明確ではなかったが、そのT_{1/2}は約8日であり、最終投与22日後には検出限界 (1.7 ng eq/mL) 未満となった。(参照 5、6)

② 吸収及び排泄

単回投与群では、投与後24時間の尿中に放射活性の23.7%が排泄され、この時点における胆汁1mL当たりの放射活性は投与量の0.04%を示した。アルトレノゲストは経口投与でよく吸収され、胆汁排泄が体内動態で重要な役割を果たすと考えられた。(参照 5、6)

③ 分布

3日間投与群及び18日間投与群における最終投与後の組織中のアルトレノゲスト濃度を表6に示した。

血漿及び組織におけるアルトレノゲストの消失は、投与量が同じ場合、18日間投与より3日間投与の方が著しく速やかであるが、いずれの場合も、組織中濃度は、肝臓を除き、最終投与30日後には検出限界未満又は検出限界を僅かに上回る値となった。(参照 2、5、6)

表6 豚における[6,7-³H]標識アルトレノゲスト3日間又は18日間経口投与後の組織中アルトレノゲスト濃度 (ng eq/mL 又は ng eq/g)

試験群	試料 (n=3) ^a	最終投与後時間 (日)				
		6時間	5	10	15	30
3日間投与群	肝臓	/	57	36	21	9
	胆汁	/	63	16	<2	<2
	腎臓	/	40	14	8	<2
	筋肉	/	<2	<2	<2	<2
	脂肪	/	<2	<2	<2	<2
18日間投与群	肝臓	476	105	50	48	29
	胆汁	3,820	85	136	16	<2
	腎臓	210	23	19	12	2
	筋肉	/	<2	<2	<2	<2
	脂肪	/	<2	<2	<2	<2

a : 18日間投与群の最終投与6時間後のみn=2、/ : 測定せず

④ 代謝

単回投与後、数種の微量代謝物が検出されたが、豚におけるアルトレノゲストの主要な代謝経路は、グルクロン酸抱合であることが示された。投与 24 時間後の肝臓及び腎臓中にはそれぞれ 2.97%及び 0.96%の放射活性が存在したが、そのほとんどはトリチウム水での形であった。血漿中総放射活性濃度は僅か 110 ng eq/mL であり、そのうちの約 20%がトリチウム水の形であった。

18 日間投与群における血漿、尿及び胆汁放射活性物質のパターンは、高用量単回投与群の場合と非常に類似しており、この用量の範囲では、少なくとも代謝は本質的に用量依存的ではないことが判明した。(参照 5、6)

(4) 薬物動態試験 (豚、反復投与) ①

豚 (LW 種、若齢雌 12 頭/投与群、1 頭/対照群) に[6,7-³H]標識アルトレノゲストを胃内挿管により 18 日間強制経口投与 (20 mg/頭) し、薬物動態試験が実施された。血漿及び組織中の放射活性を LSC により測定した (定量限界不明)。

投与期間中及び投与後の血漿中の総放射活性及びアルトレノゲスト濃度を表 7 に、投与開始 1、7 及び 18 日後の血漿中濃度から算出した薬物動態パラメーターを表 8 に示した。血漿中の総放射活性及びアルトレノゲストの濃度は投与期間中増加し、最終投与 4 時間後に C_{max} (それぞれ 76 及び 68 ng eq/mL) に達した。その後低下し、最終投与 14 日後にはそれぞれ 6.5 及び 3.8 ng eq/mL となった。T_{1/2}はそれぞれ 8.5 及び 10.5 日であった。アルトレノゲストの蓄積性は著明ではないと考えられた。

血漿及び組織中の総放射活性及びアルトレノゲスト濃度を表 9 に示した。最終投与後の組織中放射活性濃度は、高い順から肝臓、腎臓、筋肉、脂肪であった。最終投与 179 日後には、アルトレノゲストは肝臓 (10 ng eq/g) 及び腎臓 (0.8 ng eq/g) からのみ検出された。組織中からの放射活性の消失は多相性であり、T_{1/2}は算出できなかった。(参照 2、5、6)

表 7 豚における[6,7-³H]標識アルトレノゲスト 18 日間経口投与後の血漿中の総放射活性及びアルトレノゲストの濃度 (ng eq/mL)

測定対象	投与開始後時間 (日)			最終投与後時間 (時間)					
	1	8	18	2	4	12	48	168	336
総放射活性	15.8	32.6	41.8	75.7	76.1	55.2	23.3	11.5	6.5
アルトレノゲスト	14.5	27.1	33.0	65.5	67.9	46.2	14.4	6.0	3.8

n=12

表 8 投与期間中における薬物動態パラメーター

投与期間 (日)	放射活性	C _{max} (ng eq/mL)	T _{max} (hr)	AUC (ng eq · hr/mL)
1	総放射活性	184	1.0	1,226
	アルトレノゲスト	177	1.0	1,067
7	総放射活性	96.7	1.6	2,307
	アルトレノゲスト	92.6	1.9	1,986

18	総放射活性	81.6	2.7	2,076
	アルトレノゲスト	72.2	2.8	1,656

表 9 血漿及び組織中の総放射活性及びアルトレノゲストの濃度 (ng eq/g 又は ng eq/mL)

試料 (n=3)	測定対象	最終投与後時間 (日)			
		15	30	60	179
肝臓	総放射活性	60.3	26.1	15.6	10.1
	アルトレノゲスト	58.5	25.9	16.2	10.0
腎臓	総放射活性	15.7	5.7	1.9	-
	アルトレノゲスト	13.6	5.4	1.9	0.8
筋肉 (肩)	総放射活性	5.0	1.9	-	-
	アルトレノゲスト	2.6	1.2	-	-
筋肉 (脚部)	総放射活性	5.2	1.8	-	-
	アルトレノゲスト	2.7	1.1	-	-
脂肪 (腎周囲)	総放射活性	2.7	1.4	-	-
	アルトレノゲスト	2.4	1.2	-	-
脂肪 (皮下)	総放射活性	2.5	1.4	-	-
	アルトレノゲスト	2.2	-	-	-
血漿	総放射活性	6.8	2.2	0.5	-
	アルトレノゲスト	2.9	1.6	0.5	-

- : 全例が定量限界未満又は一部が定量限界未満のため算出できなかった。

(5) 薬物動態試験 (豚、反復投与) ②

豚 (LW 系交雑種、約 5 か月齢、雌 3 頭) に [6,7-³H] 標識アルトレノゲストを 18 日間混餌投与 (20 mg/頭/日) し、薬物動態試験が実施された。排泄物、血漿及び組織中の放射活性を LSC により測定した。

第 15 回投与 (投与開始 15 日) 後 24 時間の尿及び糞中放射活性の排泄率を表 10 に示した。尿及び糞中排泄率の合計は、53.7%~74.8%であり、そのうちの 57.3%~78.6% が尿中に排泄されたことから、主要排泄経路は尿中であると考えられた。また、投与開始 16 及び 17 日後の尿及び糞中からは 1 日投与量の約 66% の平均総放射活性が回収された。

最終投与後の血漿及び組織中放射活性濃度を表 11 に示した。いずれの時点においても放射活性濃度は肝臓中で最も高く、肝臓が主要標的臓器と考えられた。最終投与 15 日後の心臓、肺及び卵巣中の濃度は筋肉中と同程度であった。(参照 2、4、5)

表 10 豚における [6,7-³H] 標識アルトレノゲスト 15 回混餌投与後 24 時間の尿及び糞中排泄率 (%)

試料	動物 1	動物 2	動物 3	平均
尿	43.6	30.8	47.5	40.6
糞	31.2	22.9	12.9	22.3
合計	74.8	53.7	60.4	63.0

表 11 血漿及び組織中の放射活性濃度 (ng eq/mL 又は ng eq/g)

試料 (n=1)	最終投与後時間		
	4.5 時間	7 日	15 日
肝臓	1,444	122	61.7
腎臓	372	75.0	11.7
筋肉	30.1	7.1	3.6
皮下脂肪/皮膚	90.6	3.6	1.6
腎周囲脂肪	182	3.7	2.3
心臓	64.1	10.6	4.9
肺	71.2	8.8	3.9
卵巣	55.7	2.8	2.9
血漿	124	14.5	6.4

組織中の代謝物が HPLC により検討された。

組織中の代謝物は、結合型の残留物 (分画 A)、水溶性代謝物 (分画 B)、比較的極性の高い非イオン性代謝物 (分画 C) 及び非極性の残留物 (分画 D) で構成されており、大部分の抽出可能な代謝物は分画 B 及び C に存在していた。

最終投与後の主要組織の各分画における放射活性の分布を表 12 に示した。

最終投与 4.5 時間後から 15 日後の肝臓では、分画 A が組織中の総放射活性の 14.6% から 78.3% に増加した。分画 A は最終投与 15 日後の腎臓及び筋肉においても最も高い割合を示した。分画 A の代謝物は巨大分子と共有結合しており、プロゲステロン様活性を欠いていた。分画 B の代謝物は、アルトレノゲストのグルタチオン抱合体又はグルクロン酸抱合体であり、特異的な抱合体代謝物はジヒドロキシ-3-ケト-4,9(10),11-エストラトリエン-17-(3'-ヒドロキシテトラヒドロフラン)のグルクロン酸抱合体であった。分画 C の代謝物は、アルトレノゲストが還元された水酸化体であった。最終投与 4.5 時間後の肝臓からアルトレノゲストの二水酸化体及び三水酸化体が分離された。最終投与 15 日後の肝臓中からは、アルトレノゲストの他、3-ケト-4,9(10),11-エストラトリエン-17-(3'-ヒドロキシテトラヒドロフラン)、アルトレノゲストの三水酸化体及び水酸化アルトレノゲストの 2 種類の代謝物を含有する代謝物が分離された。分画 D からは少なくとも 4 種の異なる代謝物が含まれていることが示されたが、精製された物質が非常に少なく更なる同定はできなかった。(参照 2、4、5)

表 12 豚における[6,7-³H]標識アルトレノゲスト 18 日間混餌投与後の組織中の放射活性の分布 (%)

試料	採取時点	分画 A	分画 B	分画 C	分画 D	回収率	ロス
肝臓	4.5 時間	14.6	36.0	30.1	4.4	85.1	14.9
	7 日	67.7	4.9	4.9	6.6	84.1	15.9
	15 日	78.3	8.0	2.3	11.5	100.1	-0.1
腎臓	4.5 時間	4.4	32.0	30.9	4.6	71.9	28.1
	7 日	17.1	24.4	37.9	12.8	92.2	7.8
	15 日	27.3	20.3	8.8	14.1	71.0	29.0

筋肉	4.5 時間	11.9	5.9	52.8	4.4	75.0	25.0
	7 日	32.8	4.4	4.2	2.2	43.6	56.4
	15 日	45.2	4.7	3.9	2.5	56.3	43.7
脂肪/皮膚*	4.5 時間	2.5	0.4	91.6	5.5	100	-
	7 日	19.9	0.4	39.5	40.2	100	-
	15 日	21.3	5.4	29.1	44.2	100	-

*：放射活性が極めて低かったため、正確な値は得られなかった。-：該当なし

(6) 薬物動態試験 (豚、反復投与) ③

豚 (交雑種、約 7 か月齢、雌 26 頭) に ^3H 標識アルトレノゲスト (標識位置不明) を 14 日間強制経口投与 (15 mg/頭) し、最終投与 6 時間、21、28 及び 35 日後の肝臓中の総放射活性及びアルトレノゲストが測定された。

肝臓中の総放射活性濃度を表 13 に示した。最終投与 21 日後のアルトレノゲスト濃度 (6 例) を HPLC で測定したところ、それぞれ 1、2、3 ng eq/g 及び検出限界 (1 ng eq/g) 未満 (3 例) であった。(参照 6)

表 13 豚に ^3H 標識アルトレノゲスト 14 日間経口投与 (15 mg/頭) 後の肝臓中総放射活性濃度 (ng eq/g)

測定対象	最終投与後時間 (日)			
	0 (6 時間)	21	28	35
総放射活性	479.0±6.3	31.3±4.3	24.7±6.8	18.6±4.9

(7) 残留物のバイオアベイラビリティ試験 (ラット)

豚 (ラージホホワイト種、若齢雌 1 頭) に [6,7- ^3H] 標識アルトレノゲストを 14 日間投与 (15 mg/頭/日) し、その最終投与 24 時間後に採取した肝臓を由来とするアルトレノゲスト (以下本試験において「豚肝臓残留アルトレノゲスト」という。アルトレノゲストとして 3 μg eq/kg 体重に相当)、又は [6,7- ^3H] 標識アルトレノゲスト (10 μg /kg 体重) を、ラット (SD 系、雌雄各 12 匹) に単回強制経口投与し、投与後 48 時間の尿、糞、組織及び胆汁を採取した (A 群)。また別のラット (SD 系、雌雄各 12 匹) にも同様に投与し、投与後 72 時間の尿、糞、及び組織を採取した (B 群)。尿、糞、組織及び胆汁中の放射活性を測定し、豚肝臓に残留したアルトレノゲストのバイオアベイラビリティについて検討した。

投与後 48 又は 72 時間の放射活性の排泄又は残存率を表 14 に示した。

A 群において、[6,7- ^3H] 標識アルトレノゲスト投与群の吸収率は雄及び雌でそれぞれ投与量の 82.6% 及び 81.6% であった。一方で、豚肝臓残留アルトレノゲスト投与群の吸収率は、雄及び雌でそれぞれ投与量の 29.3% 及び 38.0% であった。これらのことから、豚肝臓に残留したアルトレノゲストのバイオアベイラビリティは、アルトレノゲスト直接投与時の 35~47% であった。

B 群において、豚肝臓残留アルトレノゲストの吸収率が低いことが確認された。[6,7- ^3H] 標識アルトレノゲスト投与群の尿中排泄率は、雄及び雌でそれぞれ投与量の 21.1% 及び 22.2% であったが、豚肝臓残留アルトレノゲスト投与群では雄及び雌でそれぞれ

6.5%及び9.2%であった。(参照 5、6)

表 14 ラットにおける[6,7-³H]標識アルトレノゲスト又は豚肝臓由来残留物
単回強制経口投与後の排泄又は残存率 (%)

投与群	被験物質と投与量 ($\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重)	性別	排泄/残存放射活性 (%)			
			胆汁	尿	糞	カーカス
A 群 ^a	³ H 標識アルトレノゲスト (10)	雄	63.1	17.1	15.34	2.4
		雌	59.8	16.5	20.0	5.3
	豚肝臓残留アルトレノゲスト (3)	雄	21.0	8.3	71.6	-
		雌	29.1	8.9	69.9	-
B 群 ^b	³ H 標識アルトレノゲスト (10)	雄	/	21.1	74.6	/
		雌	/	22.2	72.4	/
	豚肝臓残留アルトレノゲスト (3)	雄	/	6.5	92.2	/
		雌	/	9.2	92.6	/

a : 投与後 48 時間の測定値、b : 投与後 72 時間の測定値、- : 検出されず、/ : 測定せず

(8) 薬物動態試験 (豚及び馬)

豚及び馬 (いずれも品種、性別及び頭数不明) に放射標識アルトレノゲスト (標識位置不明) を経口投与 (豚 : 20 mg/頭/日、馬 : 0.044 mg/kg 体重/日) したところ、アルトレノゲストは迅速に吸収され、投与 3~6 時間後に C_{max} に達した。長期の投与では、豚で血漿中に蓄積がみられた。血漿中濃度は両動物種ともに二相性に低下し、豚の $T_{1/2}$ は約 10 日であった。両動物種における放射活性は主に肝臓に分布し、腎臓、筋肉及び脂肪にはより低値で分布した。排泄データは限定的であるが、豚では、主要排泄経路は胆汁を介した糞中であり、投与量の約 20% が尿中に排泄された。豚を用いた別の試験では、尿中が主要排泄経路 (60%) であった。馬では、投与後 24 時間以内に投与量の約 44% が尿中に、約 53% が糞中に排泄された。

血漿、尿及び組織中の抽出及び同定可能な代謝物は僅かであるが、アルトレノゲストの主要代謝経路は全てのステロイドと同様、酸化及び抱合であることが示唆されている。脱アリル化反応 (トレンボロン生成) は起こらない。(参照 4)

(9) 薬物動態試験 (馬、反復投与) ①

馬 (品種、性別及び頭数不明) に放射標識アルトレノゲスト (標識位置不明) を 10 日間経口投与 (0.044 mg/kg 体重/日) し、薬物動態試験が実施された。

最終投与 4 時間及び 15 日後の組織中の総放射活性濃度を表 15 に示した。

最終投与 15 日後の肝臓を分析した結果、未変化のアルトレノゲスト及び他の非極性代謝物を示す分画は肝臓中の総放射活性の 5% 未満 (1 ng eq/g 未満相当) であった。実際に、最終投与 15 日後の肝臓中におけるアルトレノゲスト (アルトレノゲストの同重体を含む) の含有量は 0.12 ng eq/g 未満であった。

表 15 馬における標識アルトレノゲスト 10 日間経口投与後の
組織中総放射活性濃度 (ng eq/g)

試料	最終投与後時間	
	4 時間	15 日
肝臓	1,062	17.8
腎臓	84.1	1.1
筋肉	12.4	0.2
脂肪	63.9	0.5

これらの分画及び代謝物に関して更に調べた結果で、極性分画にはアルトレノゲストのグルタチオン抱合体及びそれ以外に加水分解性抱合体の存在が確認された。加えて、代謝物の一部がグルタチオン抱合体として特定された。最終投与 15 日後の腎臓、筋肉及び脂肪におけるアルトレノゲストの量は測定できなかった。(参照 4)

(10) 薬物動態試験 (馬、反復投与) ②

馬 (品種、性別及び頭数不明) にアルトレノゲストを 10 日間経口投与 (0.044 mg/kg 体重/日) したところ、最終投与 4 時間、2 及び 14 日後の組織中のアルトレノゲストは最終投与 4 時間後のみ検出可能であり、その濃度は肝臓で 5.5~17 ng/g、腎臓で 4.3~7.5 ng/g、筋肉で 1.6~5.8 ng/g 及び脂肪で 6.7~63.6 ng/g であった。その後の時点では、アルトレノゲスト濃度は定量限界 (筋肉: 1 ng/g、肝臓、腎臓及び脂肪: 2 ng/g) 未満であった。(参照 4)

(11) 薬物動態試験 (馬、反復投与) ③

アルトレノゲストを 10 日間、餌に混ぜて経口投与 (0.044 mg/kg 体重/日) した馬 (Standardbred 種、雌 3 頭) の尿中代謝物の検出法の感度の改善を試みた文献では、尿試料からは、第 1 相反応の代謝物はみられず、グルクロン酸抱合体及び硫酸抱合体が検出された。馬における代謝はグルクロン酸抱合又は硫酸抱合が主要である旨を報告している。(参照 7)

2. 残留試験

(1) 残留試験 (豚) ①

豚 (LW 種、雌 4 頭/時点) にアルトレノゲストの 0.4 w/v% 製剤を 18 日間経口投与³ [5 mL/頭/日 (アルトレノゲストとして 20 mg/頭/日に相当)] し、残留試験が実施された。肝臓及び脂肪付き皮膚中のアルトレノゲストを LC-MS/MS により測定した (定量限界: 0.2 ng/g)。

結果を表 16 に示した。肝臓では、最終投与 14 日後まで全例に残留がみられたが、最終投与 21 日後には 3 例が定量限界未満となった。脂肪付き皮膚では、いずれの時点においても全例が定量限界未満であった。(参照 2、5)

³ 飼料上に被験物質を直接滴下し投与。滴下した飼料を全て摂取したことを確認後、被験薬を含まない飼料を自由摂取させた。

表 16 豚におけるアルトレノゲスト製剤 18 日間経口投与後の
組織中アルトレノゲスト濃度 (ng/g)

試料 (n=4)	最終投与後経過日数 (日)		
	7	14	21
肝臓	0.517	0.820	<0.2
	0.973	1.11	0.246
	0.496	0.732	<0.2
	0.861	0.357	<0.2
脂肪付き皮膚	<0.2	<0.2	<0.2
	<0.2	<0.2	<0.2
	<0.2	<0.2	<0.2
	<0.2	<0.2	<0.2

定量限界 : 0.2 ng/g

(2) 残留試験 (豚) ②

豚 (LW 系交雑種、雌 4 頭/時点、1 頭/対照群) にアルトレノゲストの 0.4 w/v% 製剤を 18 日間混餌投与 [5 mL/頭/日 (アルトレノゲストとして 20 mg/頭/日に相当)] し、残留試験が実施された。最終投与 1、2、7 及び 21 日後の組織中のアルトレノゲストを LC-MS/MS により測定した (定量限界 : 0.0002 µg/g)。

結果を表 17 に示した。最終投与 2 日後までは全例に残留がみられ、肝臓及び脂肪で高濃度であった。最終投与 21 日後において、脂肪では全例が定量限界未満となったが、肝臓では 2 例から検出された。(参照 2、5)

表 17 豚におけるアルトレノゲスト製剤 18 日間混餌投与後の
組織中アルトレノゲスト濃度 (µg/g)

試料 (n=4)	最終投与後経過日数 (日)			
	1	2	7	21
肝臓	0.11	0.032	0.0008	<0.0002(2)*、 0.0003、0.0004
腎臓	0.017	0.0051	<0.0002	<0.0002
小腸	0.0077	0.0014	<0.0002	<0.0002
筋肉	0.0039	0.0007	<0.0002	<0.0002
脂肪	0.081	0.024	<0.0002(3)、 0.0003	<0.0002

定量限界 : 0.0002 µg/g、* : 定量限界未満の値を含むものはその値を記載、() 内は例数

(3) 残留試験 (豚) ③

豚 (品種不明、成熟雌 22 頭) にアルトレノゲスト製剤を 18 日間混餌投与 (20 mg/頭/日、飼料の上部に混じて投与) し、残留試験が実施された。最終投与 1、7、14 及び 21 日後の組織中のアルトレノゲストを測定した。

結果を表 18 に示した。(参照 4、6)

表 18 豚におけるアルトレノゲスト製剤 18 日間混餌投与後の
組織中アルトレノゲスト濃度 (ng/g)

試料	最終投与後経過日数 (日)			
	1	7	14	21
肝臓	85.37	<1.25	<1.25	<1.25
腎臓	9.16	<1.25	<1.25	<1.25
筋肉	4.70	<1.25	<1.25	<1.25
腎臓周囲脂肪	59.71	1.26	<1.25	<1.25
背部皮膚及び脂肪	55.27	<1.25	<1.25	<1.25

定量限界：1.25 ng/g

(4) 残留試験 (馬)

馬 (品種、性別及び頭数不明) にアルトレノゲストを推奨期間 (10~15 日間)、経口投与 (0.044 mg/kg 体重/日) し、最終投与 7、14 及び 21 日後の組織 (肝臓、腎臓及び腎周囲脂肪) 中のアルトレノゲストが測定された。

アルトレノゲストは最終投与 7 日後の腎周囲脂肪 1 試料のみで検出され、その濃度は 2.81 ng/g であった。その他の試料ではいずれの時点においても定量限界 (1 ng/g) 未満であった。(参照 4)

3. 遺伝毒性試験

アルトレノゲストの遺伝毒性に関する各種 *in vitro* 及び *in vivo* 試験の結果を表 19 及び 20 に示した。(参照 2、4~6)

表 19 *in vitro* 試験

検査項目	試験対象	用量	結果
復帰突然変異試験 (Ames 試験)	<i>Salmonella typhimurium</i> TA98、TA100、TA1535、TA1538、TA1537	10、100、1,000、10,000 µg/plate (±S9)	陰性 (参照 4~6)
前進突然変異試験	マウスリンパ腫細胞 (L5178Y tk+/-) (2 試験)	22~70 µg/mL (-S9) 30~90 µg/mL (+S9) 37°C 3 時間処理 12 日間培養	陽性/陰性 ^a (参照 4~6)
	チャイニーズハムスター卵巣由来 (CHO) 細胞 (HGPRT)	1~10 µg/mL (-S9) 25~50 µg/mL (+S9)	陰性 (参照 6)
遺伝子突然変異試験	CHO 細胞 (HGPRT)	0~40 µg/mL (-S9) 0~50 µg/mL (+S9) 7 日間処理	陰性 (参照 4~6)
染色体異常試験	CHO 細胞 (K1-BH4)	1、5、7.5、10 µg/mL (-S9) 20 時間処理、 5、25、50 µg/mL (+S9) 37°C 2 時間処理	陰性 (参照 4~6)

DNA 修復試験	ヒト HeLa S3 細胞	12.5、25、50、100、200 µg/mL (±S9) 37°C 3 時間処理	陰性 (参照 4~6)
	ラット肝初代培養細胞	0.01、0.02、0.1、0.2、1、2、10、 20、100、200、1,000、2,000 µg/mL (−S9) 37°C 18 時間処理	陰性 (参照 4~6)

a : S9 非存在下で陰性。S9 存在下でごく弱い変異原性を示した。(2 試験の報告のうち、試験 2 の突然変異頻度は 75、80、85 及び 90 µg/mL の用量でそれぞれ 43.5、44.5、48.5 及び 63.4/10⁶ 生細胞であった。)

表 20 *in vivo* 試験

検査項目	試験対象	用量	結果
染色体異常試験	ラット骨髓細胞	100 mg/kg 体重を単回強制経口投与し、投与 6 及び 30 時間後、又は、25、50 mg/kg 体重/日を 4 回強制経口投与し、最終投与 6 及び 30 時間後	陰性 (参照 4~6)

上記のとおり、マウスリンパ腫細胞を用いた *in vitro* の前進突然変異試験では、S9 存在下で 2 試験のうち 1 つの試験で陽性を示したが、他の *in vitro* 試験及び *in vivo* 試験では陰性結果が得られていることから、アルトレノゲストは生体にとって問題となる遺伝毒性を示さないと考えられた。

4. 急性毒性試験

マウス、ラット及びイヌにおけるアルトレノゲストの急性毒性試験の結果を表 21 に示した。(参照 2、4、5)

表 21 各動物種におけるアルトレノゲストの急性毒性

動物種	性別	投与経路	LD ₅₀ (mg/kg 体重)
マウス	雄	皮下	239
	雌	皮下	227
	不明	腹腔内	233
ラット	雄	皮下	175
	雌	皮下	177
	不明	腹腔内	176
イヌ	雄	経口	>1,000
	雌	経口	>1,000

イヌ（ビーグル種、7 か月齢、雌雄各 3 匹）にアルトレノゲストを単回経口投与（～1,000 mg/kg 体重）した結果、死亡例、臨床兆候ともにみられず、体重及び剖検所見にも投与に起因する影響はみられなかった。(参照 2、5)

5. 亜急性毒性試験

(1) 2 か月間亜急性毒性試験 (ラット)

ラット (Wistar 系、雌雄各 10 匹/群) を用いたアルトレノゲストの 2 か月間強制経口投与 [0 (溶媒)、0.5 及び 2 mg/kg 体重/日、溶媒 : 0.25%CMC] による亜急性毒性試験が実施された。投与を週に 6 日行った。

投与期間中、2 mg/kg 体重/日投与群の雄 3 例及び対照群の雌 3 例が死亡した。

一般状態、体重、摂餌量、尿検査及び剖検において投与に起因する影響はみられなかった。

血液学的検査及び血液生化学的検査では、一部の項目に有意差がみられたが、用量相関性はなかった。

臓器重量では、0.5 mg/kg 体重/日投与群の雌で卵巣の絶対重量の増加がみられた。精囊の絶対重量が用量反応関係を伴って減少しており、2 mg/kg 体重/日投与群では有意であった。(参照 2、5)

EMA は、本試験の NOAEL を 0.5 mg/kg 体重/日と設定している。(参照 4)

食品安全委員会動物用医薬品専門調査会は、0.5 mg/kg 体重/日投与群の雌の卵巣の絶対重量の増加は用量相関性がみられなかったことから、毒性とはみなさなかった。2 mg/kg 体重/日投与群の雄に精囊の絶対重量の減少がみられたことから、本試験における NOAEL を雄で 0.5 mg/kg 体重/日、雌で最高用量の 2 mg/kg 体重/日と設定した。

(2) 13 週間亜急性毒性試験 (ラット)

ラット (SD 系、28 日齢、雌雄各 15 匹/群) にアルトレノゲストを 13 週間混餌投与 [混餌濃度 0、1、10 又は 100 ppm (雄で 0、0.06、0.64 又は 6.50 mg/kg 体重/日、雌で 0、0.08、0.75 又は 7.82 mg/kg 体重/日に相当)] し、亜急性毒性試験が実施された。毒性所見を表 22 に示した。

10 ppm 投与群の雄 1 例が投与開始 10 週に死亡した。

飲水量が 100 ppm 投与群の雌雄で一時的に増加したが、一般状態、摂餌量、眼科検査、血液生化学的検査及び尿検査に投与に起因する影響はみられなかった。(参照 2、5、6)

EMA は、本試験の NOAEL を 1 ppm (0.06 mg/kg 体重/日に相当) と設定している。(参照 4)

FDA は、10 ppm 投与群で僅かだが毒性がみられたことから、本試験の NOEL を 1 ppm (雄で 0.06 mg/kg 体重/日、雌で 0.080 mg/kg 体重/日に相当) と設定している。(参照 6)

食品安全委員会動物用医薬品専門調査会は、10 ppm 以上投与群の雄で前立腺及び精囊の絶対重量の減少並びに前立腺の分泌物の減少が、100 ppm 投与群の雌で卵巣の絶対重量の減少がみられたことから、雄の NOAEL を 1 ppm (0.06 mg/kg 体重/日に相当)、雌の NOAEL を 10 ppm (0.75 mg/kg 体重/日に相当) と設定した。

表 22 13 週間亜急性毒性試験（ラット）における毒性所見

投与量	雄	雌
100 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・WBC、好中球数及びリンパ球数減少 ・精巣及び副腎の絶対重量の減少 ・精巣の精子形成低下、内容物のない精嚢、前立腺及び精嚢の上皮厚の減少、精嚢分泌物の減少 	<ul style="list-style-type: none"> ・卵巣の絶対重量の減少
10 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・Hb 及び MCHC の減少 ・前立腺及び精嚢の絶対重量の減少 ・前立腺分泌物の減少 	10 ppm 以下：毒性所見なし
1 ppm	毒性所見なし	

(3) 13 週間亜急性毒性試験（豚）〈参考資料⁴〉

豚（LW 系交雑種、約 30 週齢、雌雄各 4 頭/群）にアルトレノゲストを 13 週間混餌投与〔混餌濃度 0、1、10 又は 50 ppm（0、4、40 又は 200 µg/kg 体重/日に相当）〕し、亜急性毒性試験が実施された。

10 ppm 以上投与群の雌で発情の抑制がみられた以外、一般状態に投与の影響はみられず、体重、血液学的検査、血液生化学的検査及び尿検査に投与に起因する影響はみられなかった。

臓器重量では、10 ppm 以上投与群の雄で精巣及び前立腺及び精巣上体の絶対重量の減少が、50 ppm 投与群の雄で精巣上体の絶対重量の減少、雌で卵巣の絶対重量の減少及び腎臓の絶対重量の増加がみられた。

剖検では投与に起因する異常はみられなかった。

病理組織学的検査では、10 ppm 以上投与群の雄で精巣間細胞の萎縮及び前立腺の上皮厚の減少（前立腺の発達抑制）が、雌で成熟卵胞及び黄体の欠如（性周期に伴う周期的変化の欠如）及び子宮腺の未発達（消長現象の欠如）がみられた。（参照 2、5、6）

EMA は、アルトレノゲストのホルモン活性に直接関係していた卵巣、子宮、乳腺、前立腺、精巣及び精嚢の重量減少とこれらの臓器の組織学的変化に基づき、ホルモンに対する NOEL を 1 ppm（4 µg/kg 体重/日に相当）と設定している。（参照 4）

FDA は、本試験の NOEL を 1 ppm（4 µg/kg 体重/日に相当）と設定している。（参照 6）

(4) 3 月経周期（又は 90 日間）経口投与試験（サル）

投与前の 4～6 か月間に規則的な月経周期を示した成熟サル（アカゲザル、6 歳、雌 6 匹/群）に、アルトレノゲストを 3 月経周期（又は 90 日間）にわたり混餌投与〔12、24 又は 48 µg/匹/日（約 2、4 又は 8 µg/kg 体重/日に相当）〕して、月経周期及び血清中ホルモン〔エストラジオール-17β、プロゲステロン、黄体形成ホルモン（LH）及び卵胞刺激ホルモン（FSH）〕に及ぼす影響を調べた。

⁴ 家畜を用いた試験であり、背景データが不十分であることから、参考資料とした。

投与期間中の月経周期を表 23 に示した。

48 µg/匹/日投与群では 3/6 例が月経を示し、観察された延べ 7 回の月経周期（3 回月経を示したのは 1 例のみ）中に測定した血清ホルモン濃度の推移から、いずれもが排卵をとまなうものであると判断された。残りの 3 例は投与期間中に月経の兆候を示さなかった。月経の兆候を示さなかった 3 例では、卵胞発育期におけるエストラジオール濃度の低下、排卵直前のエストラジオール又は性腺刺激ホルモン（LH 及び FSH）サージの完全な欠如、及び排卵後の持続的プロゲステロン分泌の欠如がみられ、投与期間中は無排卵であった。12 及び 24 µg/匹/日投与群では、いかなる測定値にも投与の影響はみられなかった。（参照 2、5、6）

EMA は、月経周期の長さ及びホルモン濃度への影響に基づき、本試験のホルモン作用に対する NOEL を 24 µg/匹/日（4 µg/kg 体重/日に相当）と設定している。（参照 4）

FDA は、本試験における性腺刺激ホルモン等に及ぼす影響に対する NOEL を 24 µg/匹/日（4 µg/kg 体重/日に相当）と設定している。（参照 6）

食品安全委員会動物用医薬品専門調査会は、48 µg/匹/日投与群で月経周期及び性腺刺激ホルモン濃度への影響がみられたことから、NOAEL を 24 µg/匹/日（約 4 µg/kg 体重/日に相当）と設定した。

表 23 サルにおけるアルトレノゲスト月経周期 3 周期（又は 90 日間）投与期間中の実際の月経周期 [平均±標準誤差 (SE)]

投与群 (µg/匹/日)	対照周期 (日)	投与期間中の月経周期 (日)		
		第 1 月経周期	第 2 月経周期	第 3 月経周期
0	31.0±2.1 (24)	28.3±2.9 <6>	30.2±2.7 <6>	28.0±1.2 <6>
12	31.3±1.1 (24)	29.0±0.7 <5>	33.8±5.0 <6>	29.0±1.5 <6>
24	30.9±2.0 (24)	29.0±0.9 <6>	27.6±0.9 <5>	33.2±5.8 <6>
48	30.9±2.2 (24)	31.5 <2>	51.7±12.9 <3>	26 <2>

< > : 例数

6. 慢性毒性試験及び発がん性試験

発がん性試験は実施されていない。

(1) 1 年間慢性毒性試験 (ラット)

ラット (Wistar 系、雌雄各 15 匹/群) にアルトレノゲスト製剤を 1 年間混餌投与 (混餌濃度として 0、2、10 又は 50 ppm、被験物質摂取量は表 24 参照。) による慢性毒性試験が実施された。投与終了直後に各群 5 例が検査され、残りは投与終了後 22 又は 23 日に検査された。

50 ppm 投与群の雄 1 例が死亡し、2 ppm 投与群の雌 1 例が側背位及び呼吸促拍を呈したため、切迫安楽死処置されたが、その他の被験動物に投与に起因する一般状態の変

化はみられなかった。

体重、血液学的検査、血液生化学的検査及び尿検査に投与の影響はみられなかった。

臓器重量について、統計学的処理が実施されていないが、50 ppm 投与群の精巣の絶対及び相対重量が低下傾向を示した。前立腺及び精嚢については測定されていない。

剖検では、対照群を含む全ての群に、子宮の漿液充満、下垂体の腫脹、腎臓の表面粗造（砂状）等が散見されたが、病理組織学的検査では投与に起因する影響はみられなかった。

投与終了 22 又は 23 日後に検査した群では、50 ppm 投与群の精巣重量に回復傾向がみられた。（参照 2、5）

EMA は、本試験の NOAEL を 50 ppm (4.3 mg/kg 体重/日に相当) と設定している。（参照 4）

本試験では、病理組織的検査等が十分に実施されておらず、臓器重量も指標となる前立腺及び精嚢については測定されていない。しかし、投与終了後に観察期間が設けられており、精巣重量は投与終了後に回復傾向を示した。食品安全委員会動物用医薬品専門調査会は、統計学的処理が実施されていないが、50 ppm 投与群の雄でみられた精巣の絶対及び相対重量が 10%以上の減少を示していることから毒性と捉え、本試験の NOAEL を雄で 10 ppm (0.79 mg/kg 体重/日)、雌で最高用量の 50 ppm (4.3 mg/kg 体重/日に相当) と設定した。

表 24 1年間混餌投与試験（ラット）における被験物質摂取量（mg/kg 体重/日）

投与時期	混餌濃度 (ppm)					
	2		10		50	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌
第 1 週	0.25	0.26	1.27	1.18	8.65	5.20
第 4 週	0.15	0.17	0.79	0.81	4.00	4.40
第 26 週	0.10	0.13	0.55	0.68	2.65	3.65
第 52 週	0.09	0.13	0.55	0.71	3.00	4.05
平均	0.15	0.17	0.79	0.85	4.6	4.3

(2) 1年間慢性毒性試験（イヌ）

イヌ（ビーグル種、14 か月齢、雄 1 匹及び雌 2 匹/投与群、雌雄各 2 匹/対照群）にアルトレノゲスト製剤を 1 年間混餌投与（アルトレノゲストとして 0、0.04、0.2 又は 1.0 mg/kg 体重/日）し、慢性毒性試験が実施された。毒性所見を表 25 に示した。

試験期間中、死亡例はなかった。

体重、摂餌量、BSP 検査及び尿検査に投与の影響はみられなかった。（参照 2、5）

EMA は、アルトレノゲストの薬理的活性に関連した直接的な影響（ホルモン依存器官の重量減少及び病理組織学的所見）に基づき、LOAEL を 0.04 mg/kg 体重/日と設定している。（参照 4）

食品安全委員会動物用医薬品専門調査会は、全ての投与群において、ホルモンの変動の影響を受ける器官に病理組織学的所見（子宮内膜の化生や前立腺の限局的な萎縮等）

が得られたことから、NOAEL を設定できず、LOAEL を 0.04 mg/kg 体重/日と設定した。

表 25 1 年間慢性毒性試験（イヌ）における毒性所見

投与量	雄	雌
1.0 mg/kg 体重/日	・副腎皮質の退行性変化	・赤血球沈降速度の明らかな高値（子宮内膜炎個体） ・GLDH の僅かな増加（子宮内膜炎個体） ・子宮体の分節状腫大及び黄色粘液貯留（子宮内膜炎個体） ・副腎皮質の退行性変化
0.2 mg/kg 体重/日以上		・外陰部の腫脹 ・ALT の僅かな増加
0.04 mg/kg 体重/日以上	・前立腺の絶対重量の減少*、前立腺の限局性の萎縮、精子形成の低下	・一過性の乳頭の腫大、乳腺隆起（0.04 及び 0.2 のみ） ・子宮内膜の化生、上皮細胞の腫大と分泌を伴う乳腺組織の活性化

*：統計学的処理が実施されていないが、毒性と判断した。

（3）1 年間慢性毒性試験（豚）＜参考資料⁵＞

豚（LW 系交雑種、約 32 週齢、雌雄各 8 頭/群）にアルトレノゲストを 1 年間混餌投与〔混餌濃度 0、0.5、1 又は 10 ppm（0、2、4 又は 40 µg/kg 体重/日に相当）〕し、慢性毒性試験が実施された。

試験期間中、対照群、0.5 及び 10 ppm 投与群の各 1 例が跛行、運動障害及び食欲低下の亢進により切迫と殺されたが、投与とは関係がないと考えられた。

一般状態、摂餌量及び眼科学的検査に、投与に起因する影響はみられなかった。

体重では、1 ppm 以上投与群の雌で、増加促進がみられた。

血液学的検査では、投与に起因する影響はみられなかった。

血液生化学的検査では、10 ppm 投与群の雌雄で血清中 Alb 及び Chol が上昇した。

臓器重量では、10 ppm 投与群で精巣、精巣上体、精嚢、前立腺及び子宮の絶対重量の有意な低値がみられ、雌で下垂体の絶対重量が有意に高値を示した。1 ppm 投与群の雄では前立腺の絶対重量のみが低値であった。また、1 ppm 以上投与群の雄で肝臓の絶対重量が低値であったが、他の所見から毒性学的な意義はないと考えられた。

病理組織学的検査では、1 ppm 以上投与群の雄で、精巣間細胞の減少がみられた。1 及び 10 ppm 投与群の雌ではそれぞれ 4 例及び全例に卵巣の黄体がみられず、10 ppm 投与群の雌では子宮腺及び乳腺腺房の発達抑制もみられた。（参照 2、5、6）

FDA は、本試験における NOEL を 0.5 ppm（2 µg/kg 体重/日に相当）と設定している。（参照 6）

⁵ 家畜を用いた試験であり、背景データが不十分であることから、参考資料とした。

7. 生殖発生毒性試験

(1) 1 世代繁殖試験 (ラット) <参考資料⁶>

ラット (SD 系、9 週齢、雌雄各 12 匹/群) を用いたアルトレノゲストの混餌投与 [混餌濃度 0、25、50 又は 100 ppm (換算値不明)] による 1 世代繁殖試験が実施された。投与を交尾 21 日前から 3 週間の交尾期間、妊娠及び出産後 21 日間の哺乳期間を通じて実施し、児動物の離乳後、親動物及び児動物を剖検に用いた。本試験はラットを用いた 2 世代繁殖試験 [II. 7. (2)] の用量設定試験である。

親動物では、50 ppm 投与群の雄 1 例及び 25 ppm 投与群の雌 3 例で偶発所見と思われる下痢がみられたが、死亡例はなかった。100 ppm 投与群では、妊娠及び哺育期間を通じて母親動物の体重増加がやや抑制された。交尾前 21 日間にわたり毎日採取した膣スミアでは、発情期スミア数がきわめて僅かながら用量依存的に減少する傾向がみられたが、有意差はなく、完全な発情休止を呈した雌はなかった。交尾所要日数は、対照群を含むいずれの群においても中央値が 2~4 日であったが、妊娠率は 50 ppm 以上投与群で低下した。妊娠期間は、いずれの群でも 21~23 日で正常値の範囲内であった。剖検の結果、全投与群の雄で精巣が対照群に比べて明らかに小さく、精巣の絶対重量は全投与群で有意に低下した。100 ppm 投与群の雌 1 例で、2 匹を娩出したものの子宮内に胎児が残存していた個体が見られた。病理組織学的検査では、雄で精巣及び精巣上体の両者又はいずれか一方に用量依存的な精子形成の低下が見られた (対照群 0/12 例に対し 25、50 及び 100 ppm 投与群でそれぞれ 1/12 例、3/12 例及び 10/11 例)。雌では、対照群と 100 ppm 投与群の間で卵巣所見に差はみられず、黄体数及び卵胞数も正常値の範囲内であった。

各投与群における同腹児数、死亡率及び哺育児平均体重に、対照群との間で統計学的に有意な差は認められなかった。授乳中及び剖検時の哺育児に解剖学的な構造異常はほとんど観察されず、投与に起因する影響はみられなかった。(参照 2、5)

(2) 2 世代繁殖試験 (ラット)

ラット (SD 系、雌雄それぞれ 11 及び 6 週齢) にアルトレノゲストを混餌投与 [混餌濃度 0、0.4、4 又は 40 ppm (各投与時期における被験物質摂取量は表 27 参照)] し、2 世代繁殖試験が実施された。試験方法を表 26 に示した。P 世代 (雌雄各 32 匹/群) では、雌雄それぞれ交尾 14 及び 49 日前から試験終了時まで投与を実施した。F_{1a} (雌雄各 28 匹/群) を 2 群 (投与群及び非投与群) 選抜し、各群 4 週齢から 63 日間投与又は非投与で育成し、交尾、妊娠及び哺乳期間終了後に F_{1a} 親を剖検した。選抜されなかった F_{1a} 及び F₂ 児を 6 週齢時に剖検した。また、F₁ を離乳後、P 世代の雌雄を再び交尾させ、雌を妊娠 20 日に剖検するとともに、帝王切開により得られた胎児を奇形学的に検査した。毒性所見を表 28 に示した。

親動物の観察では、いずれの世代においても 40 ppm 投与群の雄の体重増加量が僅かに高値を示し、交尾率及び妊娠率が低下した。また、P 世代では同腹児数及び生存児数

⁶ 用量設定試験であり、被験物質摂取量が不明であること及び試験計画から児動物への影響に関して結論を得ることはできないから、参考資料とした。

の両者が、F₁ 世代では生存児数が、それぞれ低下した。同群の雄では、P 及び F₁ 世代のいずれにおいても、精巣、精巣上部及び精嚢/前立腺の絶対重量に有意な低値がみられた。P 世代では、さらに腎臓及び副腎の相対重量の有意な低値及び肝臓の相対重量の有意な高値がみられたが、F₁ 世代での動物にこのような変動はみられなかった。4 ppm 投与群の雄では、精嚢/前立腺重量の低値が、P 世代でのみ観察されたが、繁殖成績に影響はみられなかった。離乳時に投与を中止した F₁ 親動物の繁殖成績には、いずれの投与群でも影響は認められなかった。

F₁ 児動物の観察では、40 ppm 投与群で哺乳期間中の生存率の低下がみられた。同群の雌胎児では、骨格観察のためにアルコール固定した群でのみ肛門性器間距離が高値を示した。しかし、同群の内臓検査に割り振られた雌 4 ppm 以下投与群の雌及び全投与群の雄に、このような変動はみられなかった。F₂ 児動物の観察では、40 ppm 投与群の雄で胸腺、精巣、精嚢及び前立腺の絶対重量が著しく低下し、これらの臓器の相対重量には対照群との間で統計学的に有意な差が観察された。同投与群では、雌の胸腺重量にも有意な低値がみられた。児に奇形はみられなかった。(参照 2、5、6)

EMA 及び FDA は、本試験における NOEL を 0.4 ppm と設定しているが、換算値はそれぞれ 0.03 及び 0.016 mg/kg 体重/日と異なっている。(参照 4、6)

食品安全委員会動物用医薬品専門調査会は、4 ppm 以上投与群の雄で精嚢/前立腺の絶対重量の低値、40 ppm 投与群で交尾率、妊娠率及び同腹児数の低下、哺育児生存率の低下、並びに F₂ 雄児動物における精巣、精巣上部及び精嚢/前立腺の重量低下がみられたことから、親動物に対する NOAEL を 0.4 ppm (0.03 mg/kg 体重/日に相当)、児動物及び胎児に対する NOAEL を 4 ppm (0.42 mg/kg 体重/日に相当) と設定した。催奇形性はみられなかった。

表 26 2 世代繁殖毒性試験 (ラット) の概要

世代	期間	投与日数 (日)	動物数 (匹)	概要
P	1 回目			
	育成	雄 : 49 雌 : 14	雌雄各 32 匹 /群	雌雄それぞれ交尾 14 及び 49 日前から投与
	交配	20		
	妊娠・出産	21		
	F ₁ の哺育・離乳	21		
	2 回目			
	休息	約 10	雌雄各 28 匹 /群	妊娠 20 日の雌を帝王切開後に剖検。生存胎児を奇形学的に検査。同時期に雄も剖検。
	交配	20		
妊娠	20			
F ₁	育成	63	雌雄各 28 匹 /群	選抜されなかった F ₁ : 離乳後非投与で 6 週齢時に剖検 選抜された F ₁ : 4 週齢から 63 日間投与又は非投与。F ₂ 児が離乳後剖検。
	交配	20		
	妊娠・出産	21		
	F ₂ の哺育・離乳	21		
F ₂	育成	21		6 週齢時に剖検

表 27 2 世代繁殖試験（ラット）の被験物質摂取量（mg/kg 体重/日）

投与時期	混餌濃度					
	0.4 ppm		4 ppm		40 ppm	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌
P 交配前期間	0.03	0.04	0.31	0.42	3.11	4.16
F ₁ 交配前期間	0.04	0.04	0.40	0.43	4.12	4.39
平均	0.04	0.04	0.36	0.43	3.66	4.28

表 28 2 世代繁殖試験（ラット）における毒性所見

投与量	親：P、児：F ₁		親：F ₁ 、児：F ₂		
	雄	雌	雄	雌	
親動物	40 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加量の高値 ・精巣及び精巣上体の絶対重量の低値 ・交尾率の低下 	<ul style="list-style-type: none"> ・交尾率、妊娠率及び同腹児数の低下 	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加量の高値 ・精巣及び精巣上体の絶対重量の低値 ・交尾率の低下 	<ul style="list-style-type: none"> ・交尾率及び妊娠率の低下
	4 ppm 以上	・精嚢/前立腺の絶対重量の低値	4 ppm 以下 毒性所見なし	4 ppm 以下 毒性所見なし	4 ppm 以下 毒性所見なし
	0.4 ppm	毒性所見なし			
児動物	40 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・哺乳児の生存率低下 ・精巣、精巣上体、精嚢/前立腺及び腎臓の絶対重量の低値 	<ul style="list-style-type: none"> ・哺乳児の生存率低下、同腹児体重の低下 	<ul style="list-style-type: none"> ・胸腺、精巣、精巣上体及び精嚢/前立腺の重量の低値 	<ul style="list-style-type: none"> ・胸腺重量の低値
	4 ppm 以下	毒性所見なし			

8. 安全性試験

(1) 忍容性試験（豚）＜参考資料 7＞

豚（品種不明、9～10 か月齢、雌 15 頭/群）にアルトレノゲスト製剤を少量（500 g）の飼料とともに経口投与（0 及び 20 mg/頭/日）し、忍容性試験が実施された。投与を妊娠 28～112 日に行った。

親動物の体重、妊娠期間、同腹児数、児動物の死亡率、児動物の出生時体重等のいずれの検査項目にも著変はみられなかった。投与群の児動物の体重増加率は、対照群に比べて僅かに低値であったが、有意ではなかった。児動物に外表奇形の発生は認められなかった。（参照 2、4、5）

⁷ 家畜に対する安全性の試験であり、生殖発生毒性試験とは異なることから、参考資料とした。

(2) 安全性試験 (豚) <参考資料⁸⁾>

成熟した雌豚 (品種不明、10 頭/群) にアルトレノゲスト製剤を 14 日間経口投与 [0、15 (常用量) 又は 150 (10 倍量) mg/頭/日] し、安全性試験が実施された。

本試験期間は約 204 日間であり、この期間には投与期間、交配期間、妊娠期間及び授乳期間が含まれる。健康な雌豚を 43 日間順化した後、合計 30 頭の雌豚を 1 群当たり 10 匹ずつ 3 群に振り分け、被験物質を 14 日間にわたって毎日 1 回混餌投与した。発情の観察は順化期間の初めから交配期間の終わり (投与開始後 67 日) まで 1 日 2 回実施し、発情が認められた 10~14 時間後及び 22~26 時間後に人工授精を実施した。交配期間 (投与開始後 19~67 日) 終了後に発情を呈した豚又は妊娠していないことが判明した豚は、剖検に供した。分娩後は、児動物を生後 21 日に離乳させ、生後 21 日前に死亡した個体は剖検に供した。分娩した個体は、後分娩発情後 5 日以内かつ児動物の離乳後 10 日以内に剖検した。

結果を表 29 に示した。

繁殖に関連する指標を観察した結果、第 1 回の人工授精時における妊娠率、分娩率、妊娠期間及び分娩後の発情回帰に、群間で有意な差はみられなかった。出生児数、生児数、離乳児数、ミイラ胎児数、死産児数、離乳前死亡率、出生時及び離乳時体重、並びに死亡率にも群間に差はみられなかった。

母動物では、体重及び体重変化に群間の違いはみられず、尿検査、血液学的検査及び臓器重量に投与の影響はみられなかった。剖検では、軽微な変化がごく少数例にみられたのみであり、その発現は投与に関連のあるものではなかった。血液生化学的検査では、Cl、SDH、GGT、AMY、Glu、Alb 及び A/G 比を除き 3 群間に有意差はみられなかった。有意差のみられた項目でも、3 群間の統計学的な差異は小さく、各値は正常値の範囲内であるため生物学的な関連性はないと考えられた。

児動物では、剖検所見及び死因と被験物質投与の関連はみられなかった。

以上の結果から、アルトレノゲストを成熟豚の発情の同期化に用いることに関して、動物の安全性に何の影響もないことが示された。(参照 6)

表 29 豚におけるアルトレノゲストの繁殖及び児動物に対する影響

項目	群		
	対照	常用量	10 倍量
投与後発情までの日数 (平均: 日)	7.2	5.6	8.9
第 1 回人工授精における妊娠率 (%)	90	100	70
受精率 (%)	82	100	69
分娩率 (%)	90	100	80
妊娠期間 (平均: 日)	115.7	115.9	115.8
重複交尾 (Multiple mating) 率 (%)	10	0	30
分娩できなかった妊娠豚の割合 (%)	0	0	11
分娩後発情までの日数 (平均: 日)	26.4	25.6	26.9

⁸⁾ 家畜に対する安全性の試験であり、生殖発生毒性試験とは異なることから、参考資料とした。

一腹当たりの出生児数 (平均：匹)	11.0	9.0	9.3
一腹当たりの生児数 (平均：匹)	9.7	8.1	9.0
一腹当たりのミイラ胎児数 (平均：匹)	0.9	0.0	0.0
一腹当たりの死産数 (平均：匹)	0.4	0.9	0.3
離乳前死亡率 (%)	3	9	12
一腹当たりの離乳豚数 (平均：匹)	9.3	7.4	7.9
平均出生時体重 (kg)	1.5	1.4	1.3
平均離乳時体重 (kg)	6.2	6.2	5.8
出生後離乳までの体重増加 (kg/日)	0.2	0.2	0.2

9. その他の試験

(1) アルトレノゲスト及び代謝物のホルモン活性

ヒト黄体ホルモン B 受容体、マウス乳がんウイルス (Mouse mammary tumor virus (MMTV)) のプロモーター及びルシフェラーゼレポーター遺伝子を形質導入した CHO 細胞 (CHO-PR B-pMMTV-LUC 1E2-A2) を、アルトレノゲスト及びその代謝物並びにアルトレノゲストの異性体を 10^{-7} ~ 10^{-12} (12 濃度) の濃度で添加して培養し、それらの黄体ホルモンアゴニスト活性を調べた。代謝物として、豚を用いた薬物動態試験 [II. 1. (5)] で投与 4.5 時間後又は投与 15 日後に採取された肝臓の分画試料を用いた。試料 4 及び 7 のブランクには、無投与の豚の肝臓にアルトレノゲストを 0.5 ng/g を添加して作製した分画試料を用いた。ホルモン活性は EC_{50} (最大反応の 50%を示す濃度) により評価した。

それぞれの試料の EC_{50} を表 30 に示した。

アルトレノゲストの異性体のホルモン活性は、少なくともアルトレノゲストの 1/1300 以下であり、同時に試験したブランクより高い活性を示す異性構造体はみられなかった。極性の水溶性代謝物 (分画 B) の活性はアルトレノゲストの 1/380、分画 B の加水分解物及び比較的極性の脂溶性代謝物 (分画 C) の活性はそれぞれアルトレノゲストの 1/7 及び 1/5 であった。(参照 2、4、5)

表 30 アルトレノゲスト及びその代謝物のホルモン活性における EC_{50} (nmol/L)

試料番号	由来	EC_{50} (nmol/L)
1	アルトレノゲスト (分画 C)	0.08
2	アルトレノゲストの異性体 (分画 C)	>100
3	投与 4.5 時間後の肝臓抽出物 (分画 C：比較的極性の脂溶性代謝物)	0.4
4	投与 4.5 時間後の肝臓抽出物 (分画 B：極性の水溶性代謝物の加水分解物)	0.5
5	4 のブランク：無投与豚の肝臓抽出物 (分画 B：極性の水溶性代謝物の加水分解物)	>100
6	投与 4.5 時間後の肝臓抽出物 (分画 B：極性の水溶性代謝物)	29.5

7	7 のブランク：無投与豚の肝臓抽出物（分画 B：極性の水溶性代謝物）	>100
8	投与 4.5 時間後の肝臓抽出物（分画 D：非極性代謝物を更に精製したもの）	0.11
9	8 のブランク：アルトレノゲスト（分画 D）	189

III. 国際機関等における評価

1. EMA における評価

EMA の CVMP (動物用医薬品委員会) は、1999 年、2002 年、2004 年及び 2012 年にアルトレノゲストを評価している。

1999 年の評価において、CVMP は、各種試験でアルトレノゲストが遺伝毒性を示さなかったことから、慢性毒性試験及び発がん性試験は必要ないと判断した。また、1997～1999 年に、アルトレノゲストは含まれていないが、ステロイドホルモンの遺伝毒性及び発がん性に関する新しい知見が得られており、主に 17β-エストラジオールに関するデータの評価において、CVMP は、ステロイドホルモンは *in vivo* の遺伝毒性はなく、長期暴露後及びホルモン反応に要求されるより相当高い場合においてのみ発がん性の可能性が生じるとした。

サルを用いた 3 月経周期投与試験及び豚を用いた 3 か月間経口投与試験で得られたホルモン作用に対する NOEL 4 µg/kg 体重/日が、ラットを用いた 2 世代繁殖試験で得られた毒性に対する NOEL 0.4 ppm (0.03 mg/kg 体重/日に相当) より低いことから、ホルモン作用に対する NOEL 4 µg/kg 体重/日に安全係数 100 を適用し、アルトレノゲストの薬理学的一日摂取許容量 (ADI) として 0.04 µg/kg 体重を設定した。この ADI は 2002 年及び 2004 年の評価でも変更されなかった。(参照 8～10)

2012 年に、EMA はアルトレノゲストを再評価している。CVMP は、ホルモン活性が最も鋭敏な影響であるとして、全体的な NOAEL 4 µg/kg 体重/日に不確実係数 20 を用いて、ADI を 0.2 µg/kg 体重/日と設定した。この不確実係数については、詳細な検討が行われ、標準的な 100 を用いず、種差を 10 から 2 に下げ、個体差を 10 のまま変更せず、係数 20 が用いられた。(参照 4)

2. 米国 FDA における評価

2003 年に FDA はアルトレノゲストを評価している。

FDA は、サルを用いた 3 月経周期投与試験で得られたホルモン作用に対する NOEL 4 µg/kg 体重/日に安全係数 100 を適用し、ADI として 0.04 µg/kg 体重/日を設定した。(参照 6)

3. 豪州政府における評価

豪州は、1992 年にアルトレノゲストを評価しており、毒性学的評価結果から得られた NOEL 0.004 mg/kg 体重/日から、ADI として 0.000002 mg/kg 体重/日 (0.002 µg/kg 体重/日) を設定している。(参照 11、12) 安全係数については資料に明記されていないが、逆算すると 2,000 であった。

4. Health Canada における評価

Health Canada の Veterinary Drugs Directorate は、2005 年にアルトレノゲストを評価しており、ADI として 1.2 µg/ヒト/日を設定している。(参照 5) ADI の根拠となった NOEL や安全係数等については資料に明記されておらず、詳細は不明である。

IV. 食品健康影響評価

1. 薬物動態及び毒性学的影響について

(1) 薬物動態及び残留試験

ラット、豚及び馬を用いた薬物動態試験が実施された。ラットを用いた残留物のバイオアベイラビリティ試験の結果から、経口投与による体内吸収率は少なくとも雄で82.6%、雌で81.6%と考えられた。各種試験の結果から、アルトレノゲストは主に肝臓に分布した。排泄については、一部の豚の試験で、尿中排泄が主であったが、大部分の豚の薬物動態試験並びにラット及び馬の薬物動態試験では、グルクロン酸抱合又は硫酸抱合による胆汁排泄を介した糞中排泄が中心であった。

豚及び馬を用いた残留試験が実施された。アルトレノゲストは投与21日後の一部の肝臓において、最大0.4 ng/gが検出されたが、その他の組織からはそれ以前に定量限界未満になった。

(2) 遺伝毒性試験

アルトレノゲストは、マウスリンパ腫細胞を用いた *in vitro* の前進突然変異試験で、S9存在下で陽性を示したが、他の *in vitro* 試験及び *in vivo* 試験では陰性結果が得られていることから、生体にとって問題となる遺伝毒性を示さないと考えられた。

(3) 亜急性毒性試験

亜急性毒性試験として、ラット及びサルを用いた強制経口又は混餌投与による試験が実施された。アルトレノゲストの投与による影響は、主にホルモン作用に基づく生殖器（精巣、前立腺及び精囊並びに卵巣）の絶対重量の減少及び病理組織学的変化（雄で前立腺及び精囊の分泌物の減少、精巣の精子形成の低下）であった。

最も低い用量でみられた影響は、サルを用いた3月経周期（又は90日間）経口投与試験の48 µg/匹/日投与群における月経周期及び性腺刺激ホルモン等への影響であり、NOAELは24 µg/匹/日（約4 µg/kg 体重/日）であった。

(4) 慢性毒性及び発がん性試験

ラット及びイヌを用いた1年間慢性毒性試験が実施された。これらの試験でみられた変化は亜急性毒性試験でみられたものと同様で、ホルモン作用に関連したもの（精子形成の低下、前立腺の限局性の萎縮等）であり、腫瘍性変化及び前腫瘍変化はみられなかった。

最も低い用量でみられた影響は、イヌを用いた1年間慢性毒性試験の0.04 mg/kg 体重/日投与群における前立腺の萎縮や精子形成の低下、子宮内膜の化生、上皮細胞の腫大と分泌を伴う乳腺組織の活性化等であり、LOAELは0.04 mg/kg 体重/日であった。

発がん性試験は実施されていない。

(5) 生殖発生毒性試験

生殖発生毒性試験として、ラットを用いた2世代繁殖試験が実施された。アルトレノゲストの投与による影響は、精巣及び精巣上体における精子形成の低下、交尾率、妊娠

率及び同腹児数の低下、哺育児の生存率の低下等であった。親動物に対する NOAEL は 0.4 ppm (0.03 mg/kg 体重/日に相当)、児動物及び胎児に対する NOAEL は 4 ppm (0.42 mg/kg 体重/日に相当) であった。催奇形性はみられなかった。

非げっ歯類を用いた発生毒性試験は実施されていない。参考資料ではあるが豚を用いた安全性試験では明らかな生殖発生毒性はみられていない。

2. 食品健康影響評価について

各種遺伝毒性試験結果から、アルトレノゲストは、生体にとって問題となる遺伝毒性を示さないと考えられた。また、発がん性試験は実施されていないが、各動物種を用いた 1 年間慢性毒性試験でみられた変化はホルモン作用に関連したものであり腫瘍性変化及び前腫瘍性変化はみられなかった。したがって、アルトレノゲストは遺伝毒性発がん物質では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と判断した。

各種毒性試験結果から、アルトレノゲストの投与による影響は、主にホルモン作用に基づく生殖器（精巣、前立腺及び精巣上体）の絶対重量の減少並びに病理組織学的変化（雄で前立腺及び精囊の分泌物の減少、精巣の精子形成の低下等）であった。

ラットに対する発生毒性評価指標を含む 2 世代繁殖試験において、催奇形性は認められなかった。

各種毒性試験結果から、最も低い用量でみられた影響は、サルを用いた 3 月経周期投与試験における月経周期及び血清中ホルモン濃度への影響であり、ホルモン作用に対する NOAEL は 0.004 mg/kg 体重/日であった。

アルトレノゲストの ADI の設定に当たっては、この NOAEL に安全係数 100 を適用し、0.00004 mg/kg 体重/日 (0.04 µg/kg 体重/日) とすることが適切であると考えられた。

以上より、アルトレノゲスト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。

アルトレノゲスト 0.00004 mg/kg 体重/日 (0.04 µg/kg 体重/日)

暴露量については、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こととする。

表 31 EMA、FDA 及び豪州における各種試験の無毒性量等の比較

動物種	試験名	投与量 (mg/kg 体重/日)	無毒性量 (mg/kg 体重/日)		
			EMA	FDA	豪州
ラット	2 か月 間 亜急性	0、0.5、2、 混餌投与	0.5 ホルモン依存器官の 重量減少及び病理組 織学的所見		
	13 週間 亜急性	0、1、10、100 ppm (0.06~7.82)、 混餌投与	0.06 ホルモン依存器官の 重量減少及び病理組 織学的所見	1 ppm (雄:0.06、雌: 0.08、NOEL) ホルモン作用に基づ く繁殖器官重量減少 及び病理組織学的変 化	
	1 年間 慢性	0、2、10、50 ppm (0.15~4.58)、 混餌投与	4.3 所見なし		
	1 世代 繁殖	25、50、100 ppm、 混餌投与	— 妊娠率低下、精子形 成抑制、ホルモン依 存器官の重量低下	— 妊娠率低下、精子形 成抑制、ホルモン依 存器官の重量低下 催奇形性なし	
	2 世代 繁殖	0、0.4、4、40 ppm、 混餌投与	0.4 ppm (0.03、 NOEL) 妊娠率低下、精子形 成抑制、同腹子数及 び児重量の低下、ホ ルモン依存器官の重 量低下 催奇形性なし	0.4 ppm (0.016、 NOEL) 精囊及び前立腺重量 低下	
イヌ	1 年間 慢性	0、0.04、0.2、1、 経口投与	0.04 (LOAEL) ホルモン依存器官の 重量減少及び病理組 織学的所見		
サル	3 月経 周期投 与	12、24、48 µg/日 (0.002、0.004、 0.008)、経口投与	0.004 (NOEL) 月経周期及び血清中 ホルモン濃度への影 響	0.004 (NOEL) 性腺刺激ホルモン作 用	
豚	3 か月 間投与	0.004、0.04、0.2、 経口投与	0.004 (NOEL) 卵巣、子宮、乳腺、前 立腺、精巣及び精囊 の重量減少及び病理 組織学的所見	0.004 (NOEL) ホルモン作用に基づ く繁殖器官重量減少 及び病理組織学的変 化	
	1 年間 投与	0、0.5、1、10 ppm (0、0.002、0.004、 0.04)、混餌投与		0.002 (NOEL) 繁殖器官重量減少及 び病理組織学的所見	

動物種	試験名	投与量 (mg/kg 体重/日)	無毒性量 (mg/kg 体重/日)		
			EMA	FDA	豪州
ADI 設定根拠			NOEL : 0.004 SF (UF) : 20	NOEL : 0.004 SF : 100	NOEL : 0.004 (SF : 2,000) ^a
ADI 設定根拠資料			サルの 3 月経周期投 与試験及び豚の 3 か 月間投与試験	サルの 3 月経周期投 与試験	
ADI			0.0002 (0.2 µg/kg 体重/日)	0.00004 (0.04 µg/kg 体重/ 日)	0.000002 (0.002 µg/kg 体重/日)

／：評価書に報告なし、a：推定

<別紙：検査値等略称>

略称等	名称
ADI	一日摂取許容量
A/G 比	アルブミン/グロブリン比
Alb	アルブミン
ALT	アラニンアミノトランスフェラーゼ [=グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ (GPT)]
AMY	アミラーゼ
AUC	薬物濃度曲線下面積
BSP	ブロムサルファレイン
CHO 細胞	チャイニーズハムスター卵巣由来細胞
Chol.	コレステロール
Cl	塩素イオン
C _{max}	最高濃度
CMC	カルボキシメチルセルロース
CVMP	欧州医薬品（審査）庁動物用医薬品委員会
EMA (EMEA)	欧州医薬品庁（欧州医薬品審査庁）
FDA	米国食品医薬品庁
FSH	卵胞刺激ホルモン
GLDH	グルタミン酸脱水素酵素
Glu	グルコース（血糖）
GGT	γ-グルタミルトランスフェラーゼ (γ-GTP)
HPLC	高速液体クロマトグラフィー
LD ₅₀	半数致死量
LC-MS/MS	液体クロマトグラフィー/タンデム質量分析
LH	黄体形成ホルモン
LOAEL	最小毒性量
LSC	液体シンチレーション計測
NOAEL	無毒性量
NOEL	最大無作用量
MCHC	平均赤血球色素濃度
SDH	ソルビトール脱水素酵素
T _{1/2}	消失半減期
TLC	薄層クロマトグラフィー
T _{max}	最高濃度到達時間
UF	不確実係数
WBC	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. 株式会社インターベット. インポートトレランス申請資料概要.（非公表）
3. The Merck Index, 15th Ed., 2013.
4. EMA: Altrenogest (equidae and porcine species). European public MRL assessment report (EPMAR), 2012.
5. 株式会社インターベット. インポートトレランス申請資料添付資料.（非公表）
6. FDA: Freedom of Information Summary Original New Animal Drug Application, NADA 141-222, Altrenogest, MATRIX, 2003.
7. Lampinen-Salomonsen M, Beckman E, Bondesson U, Hedeland M: Detection of altrenogest and its metabolites in post administration horse urine using liquid chromatography tandem mass spectrometry--increased sensitivity by chemical derivatisation of the glucuronic acid conjugate. Journal of chromatography. B, Analytical technologies in the biomedical and life sciences. 2006 ;833 (2): 245-256.
8. EMEA: Altrenogest: Committee for Veterinary Medicinal Product, Summary Report (1), 1999.
9. EMEA: Altrenogest: Committee for Veterinary Medicinal Products, Summary Report (2), 2002.
10. EMEA: Altrenogest: Committee for Medicinal Products for Veterinary Use, Summary Report (3), 2004.
11. 豪州政府提出資料.（非公表）
12. Australian Government Department of Health: ADI LIST, Acceptable Daily Intakes for Agricultural and Veterinary Chemicals. 30 December 2014.