

(案)

動物用医薬品評価書

ジメトリダゾール

2015年2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	6
1. 薬物動態試験	6
(1) 薬物動態試験 (豚、七面鳥等)	6
(2) 代謝試験 (ラット)	7
(3) 代謝試験 (豚)	7
(4) 代謝試験 (七面鳥)	9
2. 残留試験	11
(1) 残留試験 (豚)	11
(2) 残留試験 (鶏)	13
(3) 残留試験 (七面鳥)	14
(4) 残留試験 (豚及び七面鳥)	16
3. 遺伝毒性試験	16
4. 急性毒性試験	18
5. 亜急性毒性試験	18
(1) 2 か月間亜急性毒性試験 (ラット) <参考資料>	18
(2) 3 か月間投与試験 (ラット) <参考資料>	19
(3) 13 週間亜急性毒性試験 (ラット) <参考資料>	19
(4) 4 週間亜急性毒性試験 (イヌ) <参考資料>	19
(5) 3 か月間投与試験 (イヌ) <参考資料>	20
(6) 13 週間亜急性毒性試験 (イヌ) ① <参考資料>	20
(7) 13 週間亜急性毒性試験 (イヌ) ②	21
6. 慢性毒性及び発がん性試験	21
(1) 46 週間発がん性試験 (ラット) <参考資料>	21

(2) 122 週間発がん性試験 (ラット)	22
(3) 128 週間発がん性試験 (ラット) <参考資料>	22
7. 生殖発生毒性試験	23
(1) 3 世代繁殖試験 (ラット) <参考資料>	23
(2) 発生毒性試験 (ウサギ)	24
8. ヒトにおける知見	24
III. 食品健康影響評価	25
1. 国際機関等における評価	25
(1) JECFA における評価	25
(2) EU (EMEA 及び SCAN) における評価	25
(3) 豪州 (APVMA) における評価	26
2. 食品健康影響評価	26
・表 18 JECFA、EMEA 及び APVMA における各種試験の無毒性量等の比較	28
・別紙 1：代謝物/分解物略称	30
・別紙 2：検査値等略称	30
・参照	31

<審議の経緯>

- 2005年 11月 29日 暫定基準告示（参照1）
2012年 2月 24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0222第7号）、関係資料の接受
2012年 3月 1日 第421回食品安全委員会（要請事項説明）
2014年 12月 12日 第173回動物用医薬品専門調査会
2015年 2月 24日 第550回食品安全委員会（報告）

<食品安全委員会委員名簿>

(2012年6月30日まで)	(2012年7月1日から)
小泉 直子（委員長）	熊谷 進（委員長）
熊谷 進（委員長代理*）	佐藤 洋（委員長代理）
長尾 拓	山添 康（委員長代理）
野村 一正	三森 国敏（委員長代理）
畑江 敬子	石井 克枝
廣瀬 雅雄	上安平 冽子
村田 容常	村田 容常

*：2011年1月13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>

(2013年10月1日から)		
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	

*：2013年10月22日から

要 約

寄生虫駆除剤・抗原虫剤である「ジメトリダゾール」(CAS No. 551-92-8) について、JECFA、欧州医薬品審査庁(EMEA)及びオーストラリア農薬・動物用医薬品局(APVMA)の評価書等を用いて食品健康影響評価を実施した。

評価に用いた試験成績等は、薬物動態(ラット、豚及び七面鳥)、残留(豚、鶏及び七面鳥)、遺伝毒性、急性毒性(マウス及びラット)、亜急性毒性(ラット及びイヌ)、発がん性(ラット)、生殖発生毒性(ラット及びウサギ)等の試験成績である。

ジメトリダゾールの薬物動態試験の結果から、ジメトリダゾールは、生体成分を含む低分子に分解される以外に、類縁のロニダゾールと同様に、活性代謝物又は代謝中間体が組織タンパク質や核酸等と共有結合する可能性がある。

各種遺伝毒性試験により、*in vitro* でみられたジメトリダゾールの遺伝毒性にはニトロ還元酵素活性との関連があると考えられ、また、ジメトリダゾールはヒトでは好気性下で遺伝毒性を示す可能性が示唆された。一方で、*in vivo* の全ての試験で陰性を示し、ジメトリダゾールは *in vivo* では遺伝毒性を示さない可能性が示唆された。しかし、類縁のメトロニダゾールについては、ヒトにDNA損傷を起こすことが報告されており、ジメトリダゾールが生体にとって問題となる遺伝毒性を示す可能性については判断できなかった。

また、ラットを用いた122週間発がん性試験において、良性乳腺腫瘍の増加が認められ、ジメトリダゾールには発がん性が示唆された。ジメトリダゾールの発がん性試験にはラット以外の動物種を用いた試験はなく、また、遺伝毒性と発がん性の関連性が不明である。

各種毒性試験の結果から得られた無毒性量(NOEL)等の最小値は、ウサギを用いた発生毒性試験における母体毒性に基づく最小毒性量(LOEL) 30 mg/kg 体重/日であったが、ジメトリダゾールの毒性プロファイルが不十分であることから、現在得られているNOEL等を一日摂取許容量(ADI)の設定に用いることはできないと考えられた。

以上のことから、ジメトリダゾールについては、共有結合残留物が生成される可能性があること、遺伝毒性を示す可能性を判断することはできず、発がん性が示唆されたこと及びADIの設定に適切なNOEL等が得られなかったことから、ADIを設定できなかった。

I. 評価対象動物用医薬品の概要

1. 用途

寄生虫駆除剤・抗原虫剤

2. 有効成分の一般名

和名：ジメトリダゾール

英名：Dimetridazole

3. 化学名

IUPAC

英名：1,2-dimethyl-5-nitroimidazole

CAS (No. 551-92-8)

英名：1,2-dimethyl-5-nitro-1*H*imidazole

4. 分子式

$C_5H_7N_3O_2$

5. 分子量

141.13

6. 構造式



(参照 2)

7. 使用目的及び使用状況

ジメトリダゾールは、5-ニトロイミダゾール類に属する寄生虫駆除剤・抗原虫剤である。本剤の作用機作は明確ではないが、類縁のメトロニダゾールは、原虫又は菌体内の酸化還元系により還元され、ニトロソ化合物に変化し、抗原虫作用及び抗菌作用を示すと報告されている。(参照 3)

JECFA、EMEA 又は APVMA の評価書によると、海外では動物用医薬品として、七面鳥のヒストモナス症の予防及び治療、ハトのトリコモナス症、牛の膻トリコモナス症の治療、並びに豚の出血性腸炎及び豚赤痢の予防及び治療に用いられ、通常、混餌濃度 150～500 ppm による混餌投与又は飲水濃度 300～1,230 ppm による飲水投与で使用されるとされている。(参照 4～8)

日本では、ヒト用及び動物用医薬品の承認はない。

なお、ポジティブリスト制度導入に際して、食品において「不検出」とされる農薬等の成分であると規定されている。(参照 1)

II. 安全性に係る知見の概要

本評価書では、JECFA の評価書 (1989 年)、EMEA の評価書 (1996 年)、APVMA の評価書 (2007 年) 等を基に、ジメトリダゾールの毒性に関する主な知見を整理した。(参照 4~13)

代謝物/分解物略称及び検査値等略称を別紙 1 及び 2 に示した。

各種薬物動態、代謝及び残留試験で用いられたジメトリダゾールの放射性標識化合物については、以下の略称を用いた。

略称	標識位置
[<i>N</i> -methyl- ¹⁴ C]ジメトリダゾール	1 位のメチル基の炭素を ¹⁴ C で標識したもの
[2-methyl- ¹⁴ C]ジメトリダゾール	2 位のメチル基の炭素を ¹⁴ C で標識したもの
[ring-2 ¹⁴ C]ジメトリダゾール	イミダゾール環の 2 位の炭素を ¹⁴ C で標識したもの
¹⁴ C 標識ジメトリダゾール	標識位置不明のもの

1. 薬物動態試験

(1) 薬物動態試験 (豚、七面鳥等)

① 吸収

ジメトリダゾールは実験動物及び対象動物の両動物種において消化管から吸収される。(参照 9、10)

豚を用いた投与試験 [1. (1)②] における単回経口投与での投与 7 日後までの尿、糞及び呼気中排泄率はそれぞれ、39.2%、33.1%及び 3.9%であったことから、経口吸収率は、少なくとも 43.1%以上と考えられた。

② 排泄

a. 豚

豚 (4 頭) を用いた [*N*-methyl-¹⁴C]ジメトリダゾールの単回経口投与 (19~37 mg/kg 体重) による投与試験が実施された。

投与後 7 日間で回収された放射活性は平均で 76.2%であり、その内訳は尿中に 39.2%、糞中に 33.1%、呼気中に 3.9%であった。(参照 5)

豚を用いたジメトリダゾールの単回経口投与 (投与量不記載) による投与試験が実施された。投与量の約 40~60%が投与 24 時間以内に排泄され、そのうちの 75%が尿中に、25%が糞中でみられた。投与 7 日後までに排泄率は僅かに増加し 40~70%となり、そのうち尿及び糞中にはそれぞれ 50~75%及び 25~50%が排泄された。呼気中からは、投与後 24 時間及び 7 日にそれぞれ 3.3%及び 4%が回収された。(参照 8)

b. 七面鳥

七面鳥を用いた [2-methyl-¹⁴C]又は [ring-2-¹⁴C]ジメトリダゾールの単回経口投与

(32 mg/kg 体重) による投与試験が実施された。

投与後 3 日間で尿中から投与放射活性の 79.4%、糞中から 8%、呼気中から 1.2%が回収された。投与量の約 90%が投与後 3 日間で排泄された可能性がある。(参照 5)

七面鳥を用いたジメトリダゾールの単回経口投与 (100 又は 300 mg/kg 体重) による投与試験が実施された。

投与後 3 日間の尿及び糞の抽出物からの回収率は、ポーラログラフ法¹及び比色法でそれぞれ投与量の 66.1%及び 63%と定量された (いずれの分析法でも、ニトロ化合物は検出される。)。 (参照 5)

(2) 代謝試験 (ラット)

ラット (SD 系) を用いた [*N*-methyl-¹⁴C]ジメトリダゾールの単回経口投与 (25 mg/kg 体重) による投与試験が実施された。

ジメトリダゾールは速やかに代謝され、1-メチル 2-ヒドロキシメチル-5-ニトロイミダゾール (以下「代謝物 A」という。) 及び 1-メチル-5-ニトロイミダゾール-2-カルボン酸 (以下「代謝物 B」という。) に変換され、この代謝は 2-メチル基の酸化及びニトロイミダゾール環の分解を示唆した。ラットにおける代謝は、定性的には豚と同様であった。(参照 5、8)

(3) 代謝試験 (豚)

豚 (4 頭) を用いた [*N*-methyl-¹⁴C]ジメトリダゾールの単回経口投与 (19~37 mg/kg 体重) による投与試験が実施された。投与後 8 時間の尿中の代謝物をクロマトグラフィーにより同定した。

尿中の放射活性の 0.2%がジメトリダゾール、0.7%が代謝物 A 及び 18.7%が代謝物 B であった。

豚では、抱合は主要な代謝経路ではなかった。尿中放射活性の多くは、同位元素で標識された多数の化合物に由来しており、プリン及びピリミジン塩基、タンパク質、脂肪酸、コリン、アミノ酸やその他の単純な生体成分等の低分子量化合物が存在すると推定された。(参照 5)

豚を用いた [*N*-methyl-¹⁴C]ジメトリダゾールの単回経口投与 (29.8 mg/kg 体重) による投与試験が実施された。投与 6 時間後の各組織中の同位元素標識化合物を、ろ紙クロマトグラフィー、TLC、電気泳動、アミノ酸自動分析等の複数の方法により検討した。各組織中のジメトリダゾール並びに代謝物 A 及び B の濃度を表 1 に示した。(参照 5)

¹ 初期のポーラログラフ法であるため、ジメトリダゾール及びニトロ基を有する代謝物 (代謝物 A 及び B) を含んだ濃度が測定されている。(参照 5、8)

表 1 豚における組織中のジメトリダゾール及びその代謝物の濃度 ($\mu\text{g eq/g}$)

組織	ジメトリダゾール	代謝物 A	代謝物 B	総計
肝臓	0.01 (0.07%)	0.09 (0.5%)	ND	0.10 (0.57%)
腎臓	0.18 (0.5%)	10.31 (25.7%)	1.55 (3.6%)	12.04 (29.8%)
筋肉	0.04 (0.5%)	3.56 (40.2%)	1.33 (13.8%)	4.93 (54.5%)

() は残留放射活性に対する割合、ND：検出限界未満 (検出限界値不明)

同様に、豚を用いた [*N*-methyl- ^{14}C]ジメトリダゾールの経口投与 (16.6 mg/kg 体重) による試験において、投与 17 時間後に検出された代謝物は、筋肉中の代謝物 A のみであった。組織中の放射活性の約 10% は代謝物 A であり、その濃度は 0.04 $\mu\text{g eq/g}$ であった。(参照 5)

上述の試験に基づき、豚におけるジメトリダゾールの代謝経路には、2-メチル基が酸化され、代謝物としてヒドロキシメチル体及びカルボン酸が生成する経路 (図 2 参照)、及び 5-ニトロ基が還元されて 5-アミノ体が生成する経路があり、生成した 5-アミノ体は速やかに分解されて、ニトロイミダゾール環が開裂すると考えられた。(参照 5) 類縁のメトロニダゾールを、ラットの盲腸細菌叢又はクロストリジウム・パーフリンゲンスとともに培養すると、アセトアミド及び *N*-(2-hydroxyethyl) oxamic acid を生成する。これらの二つの代謝物には、ニトロ基を除いてメトロニダゾールの炭素原子及び窒素原子が全て含まれており、部分的に還元されたニトロイミダゾールのイミダゾール環の 1-2 位及び 3-4 位が開裂した結果により生じたことが明らかとなった。(参照 11、12) また、アセトアミドはニトロイミダゾール類の一つであるオルニダゾールの代謝物でもある。(参照 13) これらのことから、ジメトリダゾールにおいても、代謝物としてアセトアミドを生成する可能性が考えられた (図 1 参照)。(参照 5、11~13)

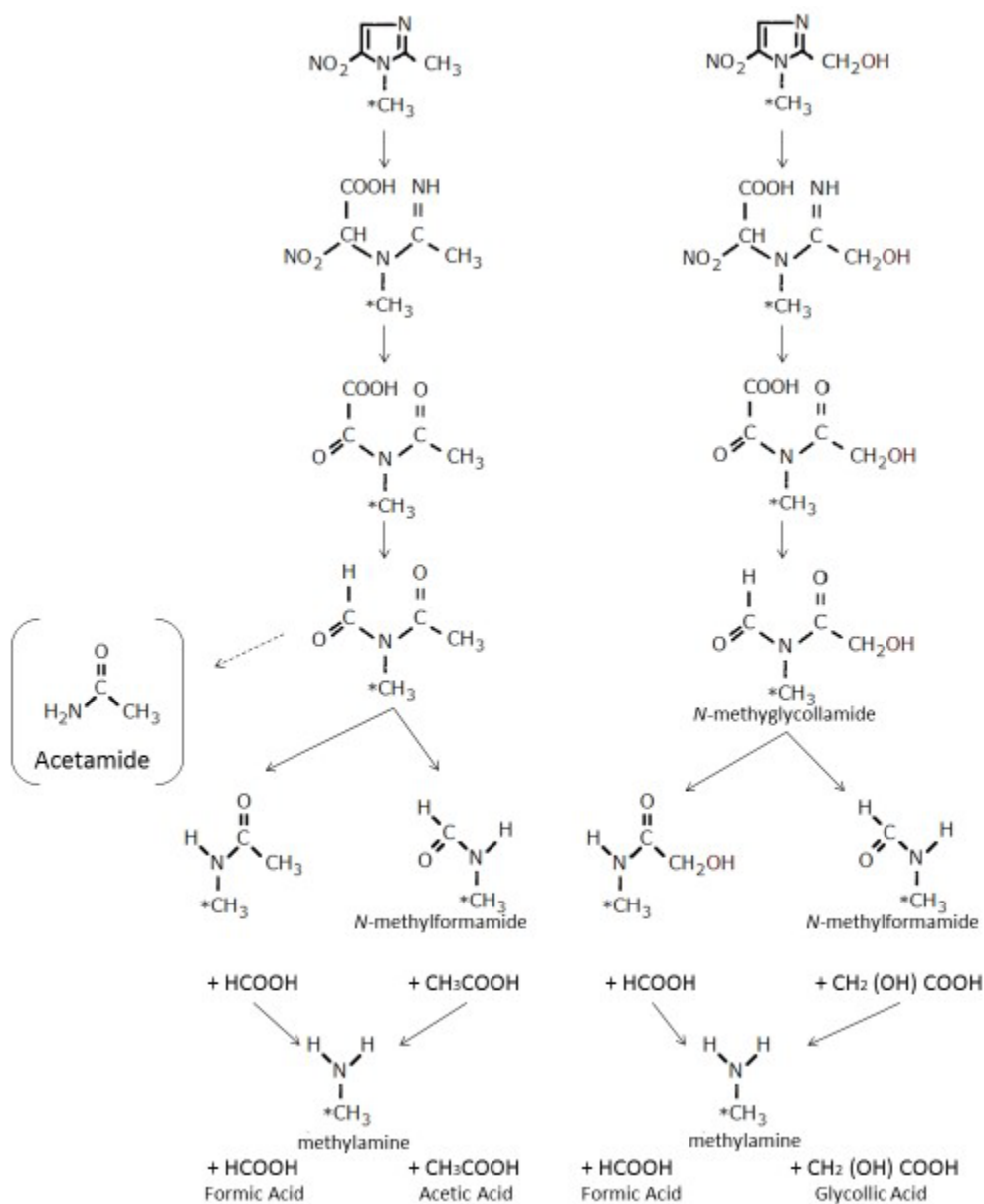


図 1 ニトロイミダゾール環の開裂を介したジメトリダゾールの代謝
(参照 11~13 に基づき参照 5 の図を改変)

(4) 代謝試験 (七面鳥)

七面鳥にジメトリダゾールを単回経口投与 (標識体²を 32 mg/kg 体重又は非標識体を 100 若しくは 300 mg/kg 体重) し、投与後 24 時間の尿中の代謝物及びその排泄率がろ紙クロマトグラフィーの紫外線照射又はオートラジオグラフィーにより調べられた。

ろ紙クロマトグラフィーの紫外線照射により、6 種類のスポットが検出された。また、標識体投与群の尿のオートラジオグラフィー分析により、7 種類目のスポットが検出された。

標準品との比較により 4 種類の化合物 [ジメトリダゾール、代謝物 A、B、C (A の硫酸抱合体)] が同定され、総排泄量の 82.8%であった。また、呈色反応により別に代謝物

² [2-methyl-¹⁴C]又は[ring-2-¹⁴C]ジメトリダゾール

Aと考えられるニトロイミダゾール化合物のグルクロン酸抱合体（代謝物D）が同定され、総排泄量の8.8%であった。総排泄量の10.9%は2種類の代謝物であり、ニトロ基を持たない化合物であることが明らかとなった。これらの2種類の代謝物のうちの1つは紫外吸収性を示さなかった。イミダゾール環を保持していれば紫外吸収性を示すことから、この代謝物はイミダゾール環が開裂した代謝物であると考えられた。これらの代謝物及び尿中総排泄量に対する割合を表2に示した。

以上のことから、排泄された化合物のほとんどは、2-メチル基の酸化が関係した経路を介して代謝されていた。（参照5）

表2 七面鳥における尿中代謝物及びその割合（%）

代謝物	割合（%）
ジメトリダゾール	3.2
代謝物A	9.4
代謝物B	25.8
代謝物C	44.4
代謝物D	8.8
ニトロ基を持たない未同定化合物（紫外線感受性）	6.2
ニトロ基を持たない未同定化合物	4.7

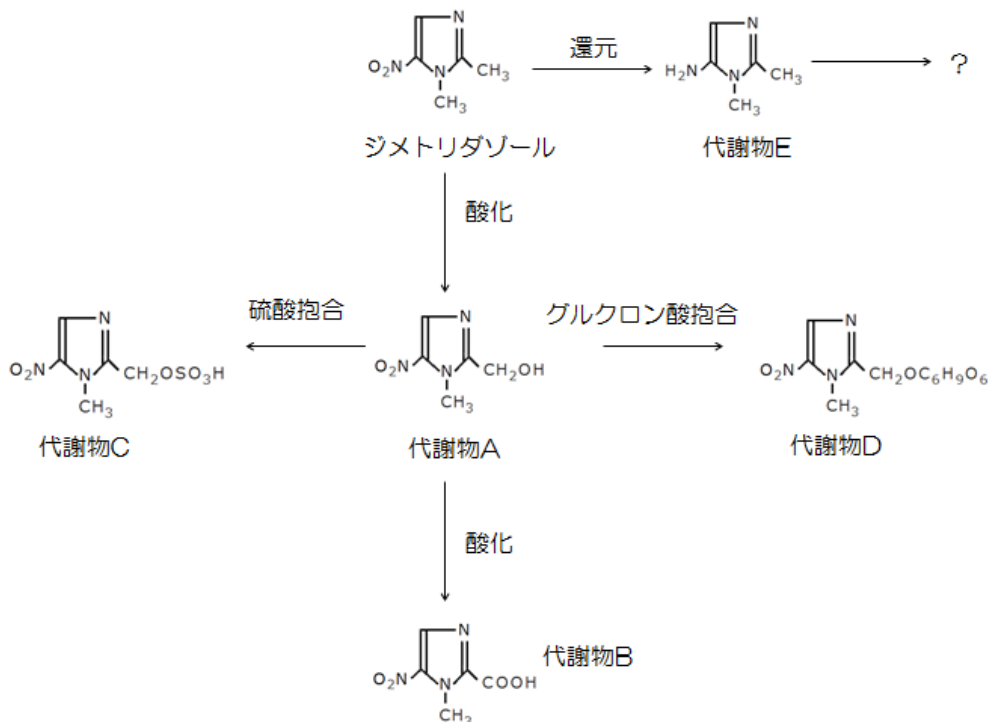


図2 七面鳥におけるジメトリダゾールの代謝（参照4）

総残留物の特性をさらに解明する試験で、放射活性が同様に生体高分子と関連していた。ジメトリダゾールの代謝によって5-ニトロ基が還元されてイミダゾールが断片化し、生体高分子に共有結合した放射能が残留したものと考えられた（図1）。（参照10）

七面鳥の可食部組織（及び卵）におけるジメトリダゾール残留物の代謝物プロファイルは十分に示されてはいない。七面鳥に ^{14}C 標識ジメトリダゾールを単回経口投与した試験では、投与 72 時間後の可食組織（腎臓、肝臓、筋肉及び皮膚）における放射活性濃度は定量限界（ $0.03\sim 0.05\ \mu\text{g/g}$ ）未満であったと報告された。しかし、その試験方法は確認されたものではなく、組織からの水溶性残留物が効率的には抽出されにくいベンゼン抽出法が用いられており、この結果からは明確な判断はできない。

しかしながら、メトロニダゾール及びイプロニダゾールのようなジメトリダゾールの類似物質である 5-ニトロイミダゾール類に属する他の薬剤の主要代謝物は、試験された全ての動物種で定性的に同様である。したがって、七面鳥におけるジメトリダゾールの代謝経路はおそらく広範であり、豚におけるジメトリダゾールと同様の代謝経路をたどると考えられた。（参照 8）

ジメトリダゾールについて提出された報告書では議論されていないが、メトロニダゾール等の他のニトロイミダゾール類で行われた試験の結果から、ジメトリダゾールの分解物として、発がん物質として知られているアセトアミドが生じる可能性が示唆された。また、ロニダゾールで行われた試験の結果から、活性代謝物又は代謝中間体が組織内にあるタンパク質や核酸等の生体成分と反応して付加体を生じる必要性を考慮する必要がある。現在のところ、家きん及び豚における組織中のジメトリダゾールの総残留物の物性は十分に特徴付けられていない。（参照 5）

総合的に考えて、七面鳥におけるジメトリダゾールの代謝では、① 2 位のメチル基が酸化され、代謝物 A 及び B が生成する、② 5-ニトロ基の還元では、アミノ化合物が生成する、③ 5-ニトロイミダゾール環の開裂を伴うアミノ化合物への代謝中間体は、化学発がん物質のイニシエーション機序と同様にタンパク質又は核酸と共有結合する可能性があり、また、5-ニトロイミダゾール環の開裂により発がん物質として知られているアセトアミドを生じる可能性がある。（参照 8）

2. 残留試験

(1) 残留試験（豚）

豚（2 頭）に [*N*-methy- ^{14}C]ジメトリダゾールを単回経口投与（29.8 又は 16.6 mg/kg 体重）し、投与 6 及び 17 時間後の各組織 [肝臓、腎臓、筋肉（前肢）及び脂肪] 中の総残留濃度が測定された。

各組織中の総残留濃度を表 3 に示した。（参照 5）

表 3 豚における組織中総残留濃度 ($\mu\text{g eq/g}$)

投与後時間	6 時間後	17 時間後
投与量	29.8 mg/kg 体重	16.6 mg/kg 体重
肝臓	15.40	3.00
腎臓	36.05	1.48
筋肉	8.59	0.42

脂肪	3.60	*
----	------	---

*: 測定せず。

豚 (4 頭、体重 12~22 kg) に [N-methyl-¹⁴C]ジメトリダゾールを単回経口投与 (19~37 mg/kg 体重) し、投与 24、48 及び 72 時間後の生検した筋肉及び投与 7 日後の各組織 (肝臓、腎臓、筋肉及び脂肪) 中の総残留濃度が測定された。

各組織中の総残留濃度を表 4 に示した。(参照 5)

表 4 豚における組織中総残留濃度 (µg eq/g)

試料	投与後時間 (時間)			
	24	48	72	168
肝臓	/	/	/	0.91
腎臓	/	/	/	0.81
筋肉	/	/	/	0.32
筋肉 (生検)	0.67 (3 頭)	0.27 (3 頭)	0.40 (1 頭)	/
脂肪	/	/	/	0.37

出荷可能な体重に近い豚 (3 頭/時点) にジメトリダゾールを 5 日間飲水投与 (飲水濃度 0.02%) し、休薬期間 (0、3、5、6 又は 7 日) 後の組織中のジメトリダゾール濃度が微分パルスポーラログラフ法 (検出限界 2 ng/g) により測定された。

各組織中のジメトリダゾール濃度を表 5 に示した。(参照 5)

表 5 豚における組織中のジメトリダゾール濃度 (ng/g)

試料	休薬期間 (日)				
	0	3	5	6	7
肝臓	ND	*	*	ND	*
腎臓	235	ND	ND	ND	ND
筋肉	301	ND	ND	ND	ND
皮膚	123	*	*	ND	*
脂肪	25	*	*	ND	*

ND: 検出限界 (2 ng/g) 未満、*: 分析せず。

豚 (3 頭/時点) にジメトリダゾールを 14 日間混餌投与 [混餌濃度 0.24% (推奨用量の約 20 倍)] し、休薬期間 (0、1、2、3 又は 4 日) 後の各組織中のジメトリダゾール濃度が微分パルスポーラログラフ法 (検出限界未記載) により測定された。

各組織中のジメトリダゾール濃度を表 6 に示した。(参照 5)

表 6 豚における組織中のジメトリダゾール濃度 (ng/g)

試料	休薬期間 (日)				
	0	1	2	3	4
肝臓	4	<2	<2	*	*
腎臓	3,137	4	<2	<2	<2
筋肉	4,119	4	<2	<2	<2

皮膚	2,373	12	4	<2	<2
脂肪	754	<2	<2	*	*

*：分析せず。

豚(3頭/時点)にジメトリダゾールを少なくとも30日間混餌投与(混餌濃度0.0125%)し、休薬期間(0、1、2、3、4又は5日)後の各組織中のジメトリダゾール濃度が微分パルスポーラログラフ法(検出限界2 ng/g)により測定された。

各組織中のジメトリダゾール濃度を表7に示した。(参照5)

表7 豚における組織中のジメトリダゾール濃度 (ng/g)

試料	休薬期間 (日)					
	0	1	2	3	4	5
肝臓	ND	ND	ND	*	*	*
腎臓	168	ND	ND	ND	ND	ND
筋肉	261	ND	ND	ND	ND	ND
皮膚	147	ND	ND	*	*	*
脂肪	53	ND	ND	*	*	*

ND：検出限界(2 ng/g)未満、*：分析せず。

子豚(2~3か月齢、雌1頭/時点)にジメトリダゾールを14日間混餌投与(混餌濃度0.031%)し、投与終了2、6、12、25及び49時間後の各組織(肝臓、腎臓、筋肉、脂肪及び皮膚)中のジメトリダゾール及び代謝物Aの濃度が電気化学的検出器付きHPLC(検出限界0.5 ng/g)により測定された。

ジメトリダゾール及び代謝物Aの各組織中濃度を表8に示した。(参照5)

表8 子豚におけるジメトリダゾール及び代謝物Aの組織中濃度 (ng/g)

試料	分析対象	投与終了後時間				
		2	6	12	25	49
肝臓	ジメトリダゾール	ND	ND	ND	ND	ND
	代謝物A	0.9	ND	ND	ND	ND
腎臓	ジメトリダゾール	1.7	ND	ND	ND	ND
	代謝物A	92	6.7	0.7	ND	ND
筋肉	ジメトリダゾール	20	1.3	ND	ND	ND
	代謝物A	500	100	3.2	ND	ND

ND：検出限界(0.5 ng/g)未満

(2) 残留試験(鶏)

鶏にジメトリダゾールを6日間飲水投与(飲水濃度0.05%)又は14日間混餌投与(混餌濃度0.025又は0.05%)し、休薬期間(0、1又は2日)後の各組織中のジメトリダゾール濃度がポーラログラフ法³(検出限界0.1 µg/g)により測定された。

³ 初期のポーラログラフ法であるため、ジメトリダゾール及びニトロ基を有する代謝物(代謝物A及びB)を含んだ濃度が測定されている。(参照5、8)

各組織中のジメトリダゾールの平均濃度を表 9 に示した。(参照 5)

表 9 鶏における組織中のジメトリダゾール濃度 (µg/g)

試料	休薬期間 (日)								
	0			1			2		
	A	B	C	A	B	C	A	B	C
肝臓	1.7	ND	0.5	ND	ND	*	ND	ND	*
腎臓	0.5	ND	0.1	ND	ND	*	ND	ND	*
筋肉	2.9	ND	0.4	ND	ND	*	ND	ND	*
皮膚	1.8	ND	0.1	ND	ND	*	ND	ND	*

A: 0.05%ジメトリダゾールを 6 日間飲水投与。B: 0.025%ジメトリダゾールを 14 日間混餌投与。
C: 0.05%ジメトリダゾールを 14 日間混餌投与。ND: 検出限界 (0.1 µg/g) 未満、*: 試料なし。

鶏にジメトリダゾールを 3 週間混餌投与 (混餌濃度 125、250 又は 500 ppm) し、最終投与後 6 日間の卵中のジメトリダゾール濃度がポーラログラフ法³(検出限界未記載)により測定された。

500 ppm 投与群の卵中のジメトリダゾール濃度を表 10 に示した。(参照 10)

表 10 鶏卵中のジメトリダゾール濃度 (µg/g)

試料 (n=6~22)	最終投与後日数						
	0	1	2	3	4	5	6
アルブミン	5.6±1.2	4.8±1.1	0.6±0.2	0.3±0.1	0.2±0.2	<0.1	<0.1
卵黄	4.5±1.8	4.2±1.7	1.4±1.0	0.4±0.1	0.1±0.1	<0.1	<0.1
全卵*	5.1±1.0	4.6±1.2	0.9±0.4	0.3±0.1	0.1±0.1	<0.1	<0.1

*: 卵殻を除く。

(3) 残留試験 (七面鳥)

七面鳥にジメトリダゾールを 24 週齢まで混餌投与 (混餌濃度 0.025%、0.05%、0.1% 又は 0.2%) し、種々の休薬期間 (0.025%及び 0.05%投与群については、0、3、6、12、24 及び 48 時間、0.1%及び 0.2%投与群については、0、3、6、12、24、48、72 及び 96 時間) 後の各組織 (肝臓、腎臓、胸肉、脂肪及び大腿部皮膚) 中のジメトリダゾール濃度がポーラログラフ法³ (検出限界 0.05 µg/g) により測定された。

各組織中のジメトリダゾール濃度を表 11 及び表 12 に示した。(参照 5)

表 11 七面鳥における組織中のジメトリダゾール濃度 (µg/g) ①

試料	混餌濃度	休薬期間 (時間)					
		0	3	6	12	24	48
肝臓	0.05%	6.67	1.17	2.34	0.10	ND	ND
	0.025%	0.12	ND	0.12	ND	ND	ND
腎臓	0.05%	0.64	0.11	0.06	0.08	ND	ND
	0.025%	0.15	0.05	ND	ND	ND	ND
筋肉	0.05%	3.44	1.98	0.71	0.92	ND	ND
	0.025%	0.10	0.09	0.08	ND	ND	ND

脂肪	0.05%	2.27	1.31	0.75	0.89	0.08	ND
	0.025%	0.12	ND	0.05	ND	0.05	ND
皮膚	0.05%	3.28	1.29	1.10	0.78	0.06	ND
	0.025%	0.06	0.08	0.12	ND	ND	ND

ND：検出限界（0.05 µg/g）未満

表 12 七面鳥における組織中のジメトリダゾール濃度（µg/g）②

試料	混餌濃度	休薬期間（時間）							
		0	3	6	12	24	48	72	96
肝臓	0.2%	14.88	14.68	8.50	0.21	1.07	0.24	*	0.16
	0.1%	15.20	6.52	6.96	4.75	0.48	ND	ND	0.06
腎臓	0.2%	17.76	12.44	6.75	0.90	0.14	0.14	*	0.08
	0.1%	6.80	0.88	1.65	1.42	0.10	ND	ND	ND
筋肉	0.2%	12.72	12.40	8.66	0.29	1.04	0.23	*	0.06
	0.1%	11.56	5.75	5.24	3.31	0.22	0.08	0.05	0.06
脂肪	0.2%	*	0.03	2.69	*	0.69	0.29	*	0.11
	0.1%	7.40	3.41	2.99	1.81	0.10	ND	0.08	ND
皮膚	0.2%	15.68	6.60	6.67	0.27	0.75	0.22	*	0.10
	0.1%	7.40	3.90	3.84	3.12	0.26	0.10	0.07	0.06

ND：検出限界（0.05 µg/g）未満、*：その休薬時間における試料不足又は試験鶏なし。

七面鳥にジメトリダゾールを6日間飲水投与（飲水濃度0.05%）し、各組織中のジメトリダゾール濃度がポーラログラフ法³（検出限界0.1 µg/g）により測定された。

各組織中のジメトリダゾール濃度を表13に示した。（参照5）

表 13 七面鳥における組織中のジメトリダゾール濃度（µg/g）

組織	休薬期間（日）		
	0	1	2
肝臓	0.68	0.22	ND
腎臓	ND	ND	ND
筋肉	0.92	ND	ND
皮膚	0.38	ND	ND

ND：検出限界（0.1 µg/g）未満

七面鳥（10及び20週齢、6羽/時点）にジメトリダゾールを、20週齢の群には0.08%の濃度で7日間、10週齢の群には0.02%の濃度で10週間混餌投与し、休薬期間（0、1、2、3、5、7、10又は14日）後の各組織（肝臓、腎臓、筋肉及び皮膚）中のジメトリダゾール濃度がGC（検出限界2 ng/g）により測定された。

7日間及び10週間混餌投与後の各組織中のジメトリダゾール濃度を表14に示した。（参照5）

表 14 七面鳥における組織中のジメトリダゾール濃度（ng/g）

投与期間・ 混餌濃度	試料	休薬期間（日）					
		0	1	2	3	5	7

7日間 混餌濃度 0.08%	肝臓	9.2	ND		ND	ND	
	腎臓	ND	ND		ND	ND	
	筋肉	168	ND		ND	ND	
	皮膚	170	4.3		ND	ND	
10週間 混餌濃度 0.02%	肝臓	ND	ND	ND	ND	ND	NS
	腎臓	ND	ND	ND	ND	ND	NS
	筋肉	125	ND	ND	ND	ND	NS
	皮膚	145	2.5*	3.7*	3.0*	2.5*	2.6*

ND：検出限界（2 ng/g）未満、NS：採材されなかった。*：試料が汚染されていたと考えられた。

（４）残留試験（豚及び七面鳥）

七面鳥及び豚（1羽又は頭/時点）を用いた¹⁴C標識ジメトリダゾールの経口投与による残留試験2試験の結果から、結合残留物の量に関する情報が評価された。

両動物種において、総放射活性の約50%は排泄されなかった。しかし、結合残留物の性質については不明であった。（参照9）

豚及び七面鳥を用いた新たな残留試験2試験が、治療用量で実施された。両動物種において、ジメトリダゾール及びその主要な水酸化代謝物が分析され、豚では投与9日後まで、また七面鳥では投与12日後までの皮膚/脂肪から検出された。

標的動物種におけるジメトリダゾールの生体内変化に関する情報は不十分であり、マーカ―残留物や標的組織を特定することはできなかった。

測定された代謝物（ジメトリダゾール及びその水酸化代謝物）の毒性学的及び分析的な有意性が不明であるなど、ルーチン分析法は情報不足により不適切であった。（参照9）

3. 遺伝毒性試験

ジメトリダゾールの *in vitro* 及び *in vivo* の遺伝毒性試験結果を表15及び16に示した。（参照4、8、9）

表15 *in vitro* 試験

検査項目	試験対象	用量	結果
復帰突然変異試験	<i>Salmonella typhimurium</i> TA1530、TA1532、 TA1534、LT ₂ 、his-G46	0.03 mmol/L (−S9)	陽性 (参照4)
	<i>S. typhimurium</i> TA98、TA100、TA1535、 TA1537	0.03 mmol/L (±S9)	陽性 (参照4)
	<i>S. typhimurium</i> TA97a、TA98、TA100、 TA102	0.01 µg/mL (±S9)	陽性 (参照4)
	<i>S. typhimurium</i> TA100 Frl (ニトロ還元酵素 欠損株)	100 µg/mL 400 mg/kg 体重を経口又は静 脈内投与したラットの尿	陰性 (参照4)

Luria and Delbrück's fluctuation test	<i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Escherichia coli</i> K12HfrH, <i>Citrobacter freundii</i> 425	0.01 mmol/L	陽性 (参照 4)
有糸分裂遺伝子変換試験	酵母菌 (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>) D4	500 µg/mL	陽性 (参照 4)
前進突然変異試験	CHO 細胞 (<i>HGPRT</i> 遺伝子座)	~7,500 µg/mL (±S9) ^a	陰性 (参照 8)
染色体変異試験	CHO 細胞 (<i>HGPRT</i> 遺伝子座)	500~2,800 µg/mL (-S9) 10~820 µg/mL (+S9)	陰性 (参照 4)
DNA 修復試験	CHO 細胞	≤20 µg/mL ^b	陰性 (参照 8)
不定期 DNA 合成試験	CHL 細胞	200 µg/mL	陰性 (参照 4)
コメットアッセイ	ヒトリンパ球	71~354 µmol/L (10~50 µg/mL) (±S9)	陽性 ^c (参照 8)

a : 5,000 µg/mL 以上の S9 存在下で細胞毒性がみられた。(参照 8)

b : 20 µg/mL 超で細胞毒性がみられた。(参照 8)

c : S9 非存在下で DNA 損傷がみられた。(参照 8)

表 16 *in vivo* 試験

検査項目	試験対象	用量	結果
伴性劣性致死試験	キイロショウジョウバエ (<i>Drosophila melanogaster</i>)	0.7、1.4 及び 2.8 mmol/L	陰性 (参照 4)
優性致死試験	CDA マウス	1,000 mg/kg 体重/日	陰性 (参照 4)
小核試験	CD1 マウス骨髄細胞	305~915 mg/kg 体重、経口投与	陰性 (参照 4)
	マウス骨髄細胞	220 mg/kg 体重、腹腔内投与	陰性 (参照 8)
不定期 DNA 合成試験	F344 ラット肝細胞	1,000 mg/kg 体重/日	陰性 (参照 4)
優性致死試験	マウス	代謝物 A 75 及び 750 mg/kg 体重/日、 経口投与	陰性 (参照 8)

ジメトリダゾールは、*in vitro* のニトロ還元酵素活性を有する *S. typhimurium* 菌株を用いた復帰突然変異試験、細菌を用いた fluctuation test 及び酵母菌を用いた有糸分裂遺伝子変換試験では陽性を示し、ニトロ還元酵素活性欠損株の *S. typhimurium* 菌株を用いた復帰突然変異試験では陰性を示したことから、ジメトリダゾールの遺伝毒性にニトロ還元酵素活性が関連していることが考えられた。(参照 4、7、9)

一方で、ジメトリダゾールは *in vitro* のヒトリンパ球を用いたコメットアッセイにおいて陽性を示した。この試験は好気性下で行われており、S9 非存在下で有意に用量依存的な DNA 損傷がみられ、S9 存在下ではこの損傷はみられなかった。また、この遺伝毒性反応は、嫌気性下で減少し、抗酸化物質 (8-ヒドロキシキノリン、ビタミン C 等) に

より消失した。これらの結果から、ジメトリダゾールは酸化的な DNA 損傷を誘発し、嫌気性下では異なる機作を示すことが考えられ、ヒトでは好気性下で遺伝毒性を示す可能性が示唆された。(参照 8)

in vitro の CHO 細胞を用いた染色体変異試験及び DNA 修復試験、CHL 細胞を用いた不定期 DNA 合成試験、*in vivo* の全ての試験では陰性を示した(参照 4、8、9)ことから、ジメトリダゾールが *in vivo* では遺伝毒性を示さない可能性が示唆された。しかし、類縁のメトロニダゾールについては、ヒトに DNA 損傷を起こすことが報告されており、食品安全委員会動物用医薬品専門調査会は、ジメトリダゾールが生体にとって問題となる遺伝毒性を示す可能性については判断できなかった。

4. 急性毒性試験

ジメトリダゾールの急性毒性試験結果を表 17 に示した。(参照 4、8)

表 17 ジメトリダゾールの経口又は静脈内投与による LD₅₀ (mg/kg 体重)

動物種	雌雄	投与方法	LD ₅₀ (mg/kg 体重)
マウス	雌雄	経口	1,790
			1,790*~2,000 60*~290
	不明	静脈内	290
			60*
ラット	雌雄	経口	1,600*~2,500 70*
	不明	静脈内	70*

*: ジメトリダゾール (40%)、リン酸二水素カリウム (22%) 及び硫酸カリウム (38%) を含む「可溶性エムトリル (emtryl soluble)」として投与された。

ジメトリダゾールの経口投与による急性毒性は低い。マウス及びラットの両動物種にみられた臨床所見は、鎮静や呼吸停止による死亡などであった。(参照 8)

5. 亜急性毒性試験

(1) 2 か月間亜急性毒性試験 (ラット) <参考資料 4>

ラットの雌雄を用いたジメトリダゾールの 2 か月間経口投与 (100、2,000 及び 5,000 ppm) による亜急性毒性試験が実施された。

雌においてプロゲステロン量の上昇が、2,000 ppm 投与群 (+112%) 及び 5,000 ppm 投与群 (+167%) でみられた。

本試験の著者は、明らかにみられたホルモンの変調 (血漿中プロゲステロン濃度の上昇) がラットの発がん性試験 [6. (2)] でみられた良性乳腺腫瘍の増殖を招いたと報告している。しかし、投与群の雄ではプロゲステロン濃度に変化はみられなかった。(参照 9)

4 ホルモン値についての記載のみで、内容が乏しいことから参考資料とした。

(2) 3 か月間投与試験 (ラット) <参考資料⁵⁾>

ラットを用いたジメトリダゾールの3 か月間混餌投与 (0、50 又は 100 mg/kg 体重/日) による亜急性毒性試験が実施された。

臨床症状、体重増加量又は尿検査における投与の影響は報告されておらず、本試験のデータは得られていない。また、病理組織学的検査で異常はみられなかったが、検査に供された動物数は少数 (各群雌雄各 2 例まで) であった。(参照 8)

(3) 13 週間亜急性毒性試験 (ラット) <参考資料⁶⁾>

ラット (Simonsen Albino (SPF)、雌雄各 10 匹/群) を用いたジメトリダゾールの 13 週間混餌投与 [混餌濃度 0%、0.2%、0.4%、0.6%、0.8% 又は 1% (0、200、400、600、800 又は 1,000 mg/kg 体重/日に相当)⁷⁾] による亜急性毒性試験が実施された。

1%投与群の雌 3 例は、投与 5 週後に運動失調、斜頸、貧血、興奮及び痙攣がみられ、最初の症状が出現した約 4 週後に死亡した。

0.8%以上投与群の雄の尿中にアルブミンが排出された。

病理組織学的検査では、投与群の雄全例に精巣の萎縮及び変性がみられた。精巣の変化は、一次精母細胞及び二次精母細胞の精子形成停止を伴った精細管の重度の萎縮に関連していた。投与群 (豪州資料では 0.2%及び 0.8%を除く投与群) の雌の卵巣において、原始卵胞数の減少及び顆粒膜細胞の変性の増加が認められた。0.6%投与群を除く各投与群 (豪州資料では 0.6%及び 0.8%を除く投与群) において胃炎が認められた。白血球の僅かな限局性浸潤及びいくつかの例でみられる心筋線維化を特徴とする心臓の変化が、対照群、0.4%及び 1%投与群の各 1 例並びに 0.6%及び 0.8%投与群の各 3 例 (豪州資料では 0.2%及び 1%を除く投与群) に観察された。投与群におけるこの心筋線維化の頻度の増加は、本剤投与に起因する心筋毒性を示唆するものと考えられた。(参照 4、8、10)

JECFA は、500 mg/kg 体重/日⁸⁾相当の投与により神経系の臨床症状が、最低用量の 100 mg/kg 体重/日相当以上の投与により用量に関連した精巣萎縮がみられたと報告している。(参照 4、10)

(4) 4 週間亜急性毒性試験 (イヌ) <参考資料⁹⁾>

イヌ (ビーグル種、雌雄各 1 匹/群) を用いたジメトリダゾールの 4 週間混餌投与 [混餌濃度 0.36% 又は 1.08% (~90 又は 270 mg/kg 体重/日に相当)¹⁰⁾] による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。

⁵⁾ 詳細が不明で、内容が乏しいことから参考資料とした。

⁶⁾ JECFA 評価書 (参照 4) と豪州資料 (参照 8) とで報告されている例数が異なっており、試験の詳細が不明であることから参考資料とした。

⁷⁾ 豪州資料に基づく換算値。

⁸⁾ JECFA 評価書 (参照 4) に “In the short-term toxicity studies, clinical effects on the nervous system were seen when dimetridazole was incorporated into the diets of rats at 500 mg/kg bw/day...” とあったことから、原文どおり訳して記載した。

⁹⁾ JECFA 評価書 (参照 4) と豪州資料 (参照 8) とで報告されている例数が異なっており、試験の詳細が不明であることから参考資料とした。

¹⁰⁾ 豪州資料 (参照 8) に基づく換算値。

0.36%投与群に比べ、1.08%投与群では摂餌量の著しい減少が示された。投与開始2週後に1.08%投与群の雌は、運動失調の初期症状を示し、それは後駆でより顕著であった。その3日後に、同投与群の雄に同様の症状がみられた。この麻痺状態は、本試験終了までの間、雌雄でさらに悪化した。0.36%投与群では、毒性症状は認められなかった。

1.08%投与群において、腎臓の軽度のネフローゼ、出血及び点状出血、心臓及び脾臓の出血並びに小葉中心性肝線維化及び肝臓の出血が報告された。

病理組織学的検査では、肺の間質組織が増殖し、気腔（肺胞腔）領域が通常約1/2～2/3に減少した。1.08%投与群の腎臓では、曲尿細管及び髓放線を構成する尿細管において中等度の混濁腫脹がみられた。0.36%投与群での反応はより軽度であった。

1.08%投与群（豪州資料では0.36%投与群）の雄の精巣では、成熟精母細胞が存在せず、精子細胞が中等度に変性した精細管の軽度の萎縮が観察された。0.36%投与群の雄の精巣では、精子細胞のごく軽度の退行性変化及び精母細胞数の減少がみられた。（参照4、8）

JECFAは、270 mg/kg 体重/日相当の投与により神経系の臨床症状が、最低用量の90 mg/kg 体重/日相当以上の投与により用量に関連した精巣萎縮がみられたと報告している。（参照4、8）

（5）3か月間投与試験（イヌ）＜参考資料¹¹＞

イヌ（雌雄各1匹/群）を用いたジメトリダゾールの3か月間強制経口投与（12.5又は50 mg/kg 体重/日）による亜急性毒性試験が実施された。

一般状態では、全例に散瞳を伴う眼の充血及び興奮状態の亢進がみられた。50 mg/kg 体重/日投与群の1例に腹部、後肢及び尾部の筋肉に拘縮がみられた。臨床化学検査及び尿検査の結果からは、肝臓又は腎臓の機能に異常はみられなかった。50 mg/kg 体重/日投与群で、慢性腎盂腎炎、肝臓の脂肪化、骨髓細胞数の低下及び甲状腺コロイドの異常がみられた。（参照8）

（6）13週間亜急性毒性試験（イヌ）①＜参考資料¹²＞

イヌ（ビーグル種、約12～30週齢、雄雌各2匹/群）を用いたジメトリダゾールの13週間経口投与（0、16、33、66又は132 mg/kg 体重/日）による亜急性毒性試験が実施された。

体重増加及び摂餌量について、全投与群、特に66 mg/kg 体重/日以上投与群において減少した。66 mg/kg 体重/日投与群において、拒食症、運動失調、痙攣及び後弓反張（強直性発作）がみられた。

132 mg/kg 体重/日投与群では、投与開始39日後に1例が死亡し、残り3例が安楽死処置された。この投与群では、全例が66 mg/kg 体重/日投与群と基本的に同じ症状を示したが、その症状はより早期に発現し、より高度かつ長時間続いた。（参照4、8）

¹¹ 試験に供した動物数が各群雌雄各1匹と少数であり、試験の詳細が得られなかったことから参考資料とした。

¹² 試験の詳細が不明であることから参考資料とした。

(7) 13 週間亜急性毒性試験 (イヌ) ②

イヌ (ビーグル種、雄雌各 4 匹/群) を用いたジメトリダゾールの 13 週間経口投与 (0、5、10、20 又は 40 mg/kg 体重/日) による亜急性毒性試験が実施された。

40 mg/kg 体重/日投与群の 1 例が骨髄生検のための麻酔により死亡したことを除いて、投与群に死亡はみられなかった。

臨床症状、体重、摂餌量、尿検査、血液及び血液生化学的検査、眼科的及び神経学的検査、臓器重量又は病理組織学的検査について、投与に関連した影響はみられなかった。

(参照 4、8)

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、投与に関連した影響はみられず、参考データではあるが、他のイヌを用いた亜急性毒性試験 [5. (5) 及び(6)] の結果を勘案すると、イヌの亜急性毒性に対する NOAEL は最高用量である 40 mg/kg 体重/日と判断した。

6. 慢性毒性及び発がん性試験

1973～1977 年の間に実施されたラットを用いた長期試験 3 試験の結果が報告された。それらは、その当時のガイドラインの要件には合致していたが、現行の発がん性試験のガイドラインに準拠していない。(参照 4)

(1) 46 週間発がん性試験 (ラット) <参考資料¹³>

ラット (SD 系、雌 35 匹/投与群、雌 30 匹/対照群) を用いたジメトリダゾールの 46 週間混餌投与 [混餌濃度 0% 又は 0.2% (0 又は 200 mg/kg 体重/日に相当)] による発がん性試験が実施された。投与終了後、さらに 20 週間、対照飼料を与えた。気道感染を制御するため、対照群及び投与群にバイシリン (Bicillin)¹⁴ 0.2 mL を投与開始 0、9、21、31、41 及び 56 週に筋肉内投与した。

投与開始 66 週 (最終投与 20 週後) では対照群 (4/35 例) と比較して、投与群 (25/35 例) で良性乳腺腫瘍が明らかに増加した。また、1 匹当たりの平均乳腺腫瘍数が、対照群の 1.0 と比較して、投与群では 1.7 倍に増加した。悪性乳腺腫瘍はいずれの群にもみられなかった。ジメトリダゾールが腫瘍発生率の実質的な増加を引き起こしたかどうか、又は自然発生的腫瘍の進行時間を短縮させたかどうかは、66 週間のみの本試験においては決定できなかった。

ラットのこの系統は、通常、乳腺腫瘍の高い発生率を有する。(参照 4)

JECFA は、投与群では良性乳腺腫瘍の発生率が有意に増加したと評価している。(参照 4)

¹³ 抗生物質が投与されていること、また、雌のみを用いて、投与群の設定が 1 用量のみであることから参考資料とした。

¹⁴ ペニシリン系抗生物質

(2) 122 週間発がん性試験 (ラット)

ラット (CFY 系、雌雄各 50 匹/群) を用いたジメトリダゾールの 122 週間混餌投与 [混餌濃度 0、100、400 又は 2,000 ppm (雄では約 0、3.8、15.1 及び 77.7 mg/kg 体重/日、雌では約 0、4.6、18.3 及び 94.1 mg/kg 体重/日に相当)] による発がん性試験が実施された。病理組織学的検査は各群 20 匹のみ行われた。

死亡率は 2,000 ppm 投与群の雌雄及び 400 ppm 投与群の雌で有意に増加した。(参照 8)

試験期間を通じて、100 及び 400 ppm 投与群の雄の平均体重は、対照群より軽度増加したが、2,000 ppm 投与群では、対照群と同じか、それより軽度減少する傾向がみられた。雌では、試験初期の 20 週間を除き、全投与群の平均体重は対照群より軽度減少する傾向があった。平均摂餌量については、対照群及び投与群の間に明らかな差はみられなかった。

対照群、100 及び 400 ppm 投与群に比べて 2,000 ppm 投与群の雌雄において、結節が、より早期に触知され、より高い発生率であった。

2,000 ppm 投与群の雌雄において、乳腺の良性腫瘍 (腺腫、線維腺腫及び線維腫) の有意な増加が認められ、400 ppm 投与群の雌において、2,000 ppm 投与群よりは僅かであるが増加が観察された。400 ppm 以上投与群の雌のこの部位において、腫瘍の発生個数 (担がん動物 1 匹当たりの腫瘍数) の増加が観察された。投与群の雌及び 2,000 ppm 投与群の雄の各 2 例の結節については、病理組織学的検査は行われなかった。乳腺における悪性腫瘍は、投与群で増加することはなかった。(参照 4)

JECFA は、400 ppm 以上投与群の雌において、1 匹当たりの腫瘍個数の増加とともに、良性乳腺腫瘍の発生率が用量相関的に増加したと評価している。(参照 4)

EMEA は、2,000 ppm 投与群の雄及び 400 ppm 以上投与群の雌で良性乳腺腫瘍の発生頻度が増加したが、対照群の雌でも自然発生による良性乳腺腫瘍が高率にみられたと報告している。(参照 9)

また、APVMA は、本試験における NOEL を 100 ppm と設定している。(参照 8)

食品安全委員会動物用医薬品専門調査会は、病理組織学的検査が十分に行われていないことから、NOAEL の設定ができなかった。また、400 ppm (18.3 mg/kg 体重/日に相当) 以上投与群の雌において、1 匹当たりの腫瘍の発生個数の増加とともに良性乳腺腫瘍の発生頻度率が増加していることから、ジメトリダゾールには発がん性が示唆された。

(3) 128 週間発がん性試験 (ラット) <参考資料¹⁵⁾>

ラット (CFY 系、雌雄各 50 匹/群) を用いたジメトリダゾールの 128 週間混餌投与 [混餌濃度 0 又は 10 ppm (雄では 0 及び約 0.45 mg/kg 体重、雌では 0 及び約 0.57 mg/kg 体重に相当)] による発がん性試験が実施された。実験プロトコルはラットを用いた 122 週間発がん性試験 [6. (2)] と基本的に同様であった。病理組織学的検査は、副腎、脾臓、下垂体、甲状腺 (気管を含む。)、肝臓及び全肉眼病変部位に限定された。

試験終了時の生存率は、対照群の雄及び雌で 32%及び 20%、投与群の雄及び雌で 12%

¹⁵⁾ 対照群と投与群の 2 群のみであり、また、詳細が確認できないことから参考資料とした。

及び22%であった。生存率の低さは試験期間の長さ起因していた。ジメトリダゾールの投与は、平均体重及び平均摂餌量に影響を及ぼさなかった。投与に起因する臨床症状はなかった。

臓器重量について、肝臓及び卵巣の相対重量の増加が、投与群の雄及び雌でそれぞれみられた。

投与群の雄に肝臓のうっ血が、雌に胆管の過形成及び肝細胞の変性がみられた。

病理組織学的検査は限られた数の組織で実施されたが、乳腺に及ぼす腫瘍性影響の評価には、影響がないか、あっても僅かであると予想された。

病理組織学的検査では、投与群で悪性腫瘍を有する動物数が僅かに増加した。投与群では、雄で下垂体腺腫が減少し、雌では悪性の乳腺腫瘍の発生率が僅かに増加したが、統計解析により、投与群及び対照群の間の腫瘍の発生率に有意な差は認められなかった。投与群の雌雄に、良性又は悪性の乳腺腫瘍の(有意な)増加はみられなかった。しかし、中間検査において、投与群の雄に対照群よりも多くの担がんラットが認められた。(参照4、8)

JECFA は、雌の乳腺腫瘍の僅かな増加は、統計的に有意ではなかったと報告している。(参照4)

また、APVMA では、唯一の投与群において生存率の減少及び肝臓の変化がみられたことからNOELは設定できなかつたと報告している。(参照8)

7. 生殖発生毒性試験

(1) 3世代繁殖試験(ラット) <参考資料¹⁶>

ラット(CFY系、雄10匹及び雌20匹/群)にジメトリダゾールを混餌投与[混餌濃度0、100又は2,000ppm(0、約10又は約200mg/kg体重/日に相当)]し、3世代繁殖試験が実施された。被験物質の投与はF₀世代の交配約80日前に開始し、3世代にわたって継続された。

2,000ppm投与群のF₀雄では体重増加量及び摂餌量の著しい低下がみられたが、雌ではみられなかった。この影響は、F_{1b}又はF_{2b}動物の交配前期間には観察されなかった。受胎率、生存率及び妊娠期間は、合計6回の出産のいずれにおいても対照群と投与群でほぼ同じであった。

F₀及びF_{2b}世代の交配時には、母動物の哺育能力と児動物の死亡率に及ぼす有害影響は観察されなかったが、投与群において、児動物(F_{1b})の死亡率が増加した。この死亡率の増加は、ほぼ授乳を停止した母動物数の増加によるものであった。F_{1b}母動物における授乳の停止が投与によって誘発された可能性は除外できなかったが、同様の影響はF₀又はF_{2b}のいずれでも観察されなかったため、投与によるものではないと考えられた。

得られた結果のいくつかは矛盾していたが、この報告書の著者は、ジメトリダゾールがラットの生殖機能に何らかの悪影響を及ぼしたとの断定はできないと結論している。

(参照4、8)

¹⁶ 本試験の用量設定の公比が大きいこと、100ppm投与群の影響が記載されておらず、詳細が確認できないことから参考資料とした。

(2) 発生毒性試験 (ウサギ)

妊娠ウサギ (NZW 種、23 匹/群) の妊娠 6~18 日にジメトリダゾールを強制経口投与 (0、30、60 又は 120 mg/kg 体重/日) し、発生毒性試験が実施された。妊娠 29 日に母動物を安楽死させ、子宮内容物の検査を行った。

母動物では、摂餌量及び体重増加量の減少や流産といった母体毒性が、用量依存性を伴って全ての投与群に認められた。120 mg/kg 体重/日投与群では、死亡及び全胚吸収がみられた。胎児体重及び胎盤重量の軽度の減少 (投与群不明) がみられたが、胎児の成長・発育はジメトリダゾールの投与による影響を受けなかった。催奇形性作用もみられなかった。(参照 4、8)

JECFA は、投与量に関連した胎児体重の減少がみられ、最高用量の 120 mg/kg 体重/日のみで有意差があったと報告している。(参照 4)

APVMA は、本試験において NOEL は設定できなかったとしている。(参照 8)

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、全投与群に母体毒性がみられたことから、母動物に対する LOAEL を 30 mg/kg 体重/日と設定した。一方、120 mg/kg 体重/日投与群で投与量に関連した胎児重量の減少がみられたが、記述が曖昧であることから、胎児毒性に対する NOAEL の設定ができなかった。催奇形性はみられなかった。

8. ヒトにおける知見

利用可能な情報はない。(参照 4)

III. 食品健康影響評価

1. 国際機関等における評価

(1) JECFA における評価

JECFA におけるジメトリダゾールの評価は 1990 年に公表されている。*in vitro* 及び *in vivo* のほ乳動物を用いた試験系において、ジメトリダゾールは変異原性作用を示さなため、JECFA は、ラットにおける良性乳腺腫瘍数の増加の発生に関するメカニズムは遺伝毒性によるものではないと考えた。しかし、可能性のある発がんメカニズムを示唆する証拠は提出されなかった。

ラットを用いた複数の投与量が設定された長期試験において、ジメトリダゾールの NOEL は混餌濃度 100 ppm (4 mg/kg 体重/日に相当) と報告されているが、JECFA は、第二の動物種を用いた発がん性試験の結果がないため、このラットの試験の結果のみに基づいて一日摂取許容量 (ADI) を設定することはできないと判断した。(参照 4、10)

(2) EU (EMEA 及び SCAN) における評価

EU では、EMEA 及び動物栄養に関する科学委員会 (The Scientific Committee for Animal Nutrition (SCAN)) がジメトリダゾールについて評価している。

1996 年に公表された EMEA の評価書によれば、初回の評価は EMEA により行われた。提出された代謝試験は、投与動物体内におけるジメトリダゾールの代謝物の正確な定性的及び定量的評価をするためには十分ではなかった。しかし、検出感度が不十分な手法を用いて実施されたものであるが、入手可能な情報から、ジメトリダゾールの相当量が代謝され、生成された代謝物は迅速に消失することが示された。これらの情報に基づき、ジメトリダゾール及びニトロイミダゾール構造を保持したその代謝物を含む抽出可能な残留物に関して、暫定的最大残留基準値を 10 µg/kg とすることが提案された。

(参照 6) その後、新たに発がん性に関する資料等が提出された。提出された資料から、申請者はラットで観察された良性乳腺腫瘍の増加はプロゲステロン濃度上昇により誘発されたものとしていたが、EMEA は、プロゲステロン濃度は雌でのみ上昇し、腫瘍は雌雄両性で発生していることから、プロゲステロン濃度に因果関係があるものではなく偶然に発生したものである可能性があると判断した。また、EMEA は、他のニトロイミダゾール類がマウスに悪性腫瘍を引き起こすことを認識しており、ジメトリダゾールに関しては、利用できるマウスを用いた慢性毒性/発がん性併合試験はないが、EMEA はジメトリダゾールのマウスを用いた発がん性試験を特に要求しなかった。EMEA では、NOEL が特定できなかったことから、ADI は設定できなかったとしている。(参照 9)

2000 年に SCAN は、飼料添加剤としてのジメトリダゾールの使用についての意見を発表している。SCAN は、示されたエビデンスの重みから、ジメトリダゾールはほ乳動物に対して遺伝毒性物質であるとはみなさないとし、少数の意見としながらも遺伝毒性発がん物質ではないと判断している。その結果、ジメトリダゾールの発がん性に閾値はあるとして、CFY ラットを用いた 122 週間の発がん試験の NOEL 4.6 mg/kg 体重/日に安全係数 1000 (この安全係数には CFY ラットを用いた 122 週間発がん性試験が GLP に準拠していないこと及びホルモンに関するデータが提案されている発がん機作に雄は一致していないことを考慮している。) を適用し、毒性学的 ADI を 0.0046 mg/kg 体重/

日と算出している。¹⁷ (参照 14)

(3) 豪州 (APVMA) における評価

APVMA は、ジメトリダゾールについて 1986 年及び 1987 年に評価し、2007 年に再評価している。

1986 年の評価において、APVMA はラットを用いた 2 年間の発がん性試験の NOEL 3.8 mg/kg 体重/日に安全係数 2,000 を適用し、ADI を 0.002 mg/kg 体重/日と設定した。この大きな安全係数は、データが不完全であったことによるものであった。

複数の国でジメトリダゾールの食用動物への使用の中止、発がん性の未解決、投与動物の残留の消失を取り巻く不確かさにより、APVMA は 2002 年から再評価を始めた。2007 年に、毒性学的評価の結果から、試験の不足は重大であり、設定した ADI は支持できないとし、設定した ADI を削除した。(参照 8、15)

2. 食品健康影響評価

ジメトリダゾールの薬物動態試験の結果から、ジメトリダゾールは、生体成分を含む低分子に分解される以外に、類縁のロニダゾールと同様に、活性代謝物又は代謝中間体が組織タンパク質や核酸等と共有結合する可能性がある。

各種遺伝毒性試験により、ジメトリダゾールは *in vitro* のニトロ還元酵素活性を有する細菌を用いた復帰突然変異試験、細菌を用いた fluctuation test 及び酵母菌を用いた有糸分裂遺伝子変換試験では陽性を示し、ニトロ還元酵素活性欠損株を用いた復帰突然変異試験では陰性を示したことから、ジメトリダゾールの遺伝毒性にはニトロ還元酵素活性との関連があると考えられた。一方で、ジメトリダゾールは *in vitro* のヒトリンパ球を用いたコメットアッセイにおいて陽性を示し、好気性下の S9 非存在下で DNA 損傷がみられており、ヒトでは好気性下で遺伝毒性を示す可能性が示唆された。*in vivo* の全ての試験では陰性を示し、ジメトリダゾールは *in vivo* では遺伝毒性を示さない可能性が示唆された。しかし、類縁のメトロニダゾールについては、ヒトに DNA 損傷を起こすことが報告されており、ジメトリダゾールが生体にとって問題となる遺伝毒性を示す可能性については判断できなかった。

また、ラットを用いた発がん性試験が 3 試験報告されている。そのうち 2 試験では、詳細が報告されていないことから、ジメトリダゾールの発がん性について判断できなかった。122 週間発がん性試験において、良性乳腺腫瘍の増加が認められ、ジメトリダゾールには発がん性が示唆された。ジメトリダゾールの発がん性試験にはラット以外の動物種を用いた試験はなく、また、遺伝毒性と発がん性の関連性が不明である。

各種毒性試験の結果から得られた NOAEL 等の最小値は、ウサギを用いた発生毒性試験における母体毒性に基づく LOAEL 30 mg/kg 体重/日であった。しかし、利用可能な毒性試験が限られており、ジメトリダゾールの毒性プロファイルが不十分であることから、現在得られている NOAEL 等を ADI の設定に用いることはできないと考えられ

¹⁷ ジメトリダゾールは EU において、動物用医薬品、飼料用添加物としての使用が禁止されている。(参照 16、17)

た。

以上のことから、ジメトリダゾールについては、共有結合残留物が生成される可能性があること、遺伝毒性を示す可能性を判断することはできず、発がん性が示唆されたこと及びADIの設定に適切なNOAEL等が得られなかったことから、ADIを設定できなかった。

表 18 JECFA、EMEA 及び APVMA 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)	無作用量等 (mg/kg 体重/日)		
			JECFA	EMEA	APVMA
マウス	5 日間亜急性毒性	100、250、500、 1,000 ppm、強制経口			— 1,000 ppm : 全例死亡
ラット	4 週間亜急性毒性	50、100、強制経口			— 投与による影響なし
	2 か月間亜急性毒性	100、2,000、 5,000 ppm、経口		— 2,000 ppm 雌 : 血漿中プロゲステロン濃度上昇	
	3 か月間亜急性毒性	0、50、100、混餌			— 投与による影響なし
	13 週間亜急性毒性	0%、0.2%、 0.4%、0.6%、 0.8%、1%、混餌	— 0.2%雄 : 精巣の萎縮及び変性		— 0.2%雄 : 精巣の萎縮及び変性
	46 週間発がん性	雌のみ 0%、0.2%、混餌 (Bicillin 筋肉内投与)	— 0.2% : 良性乳腺腫瘍増加		— 0.2% : 良性乳腺腫瘍増加 (頻度および数/個体)
	122 週間発がん性	0、100、400、 2,000 ppm (雄 : 0、3.8、15.1、 77.7、雌 : 0、 4.6、18.3、 94.1)、混餌	100 ppm (乳腺腫瘍に対する NOEL)	100 ppm : 乳腺腫瘍の増加	100 ppm 400 ppm 雌 : 死亡率の増加、良性乳腺腫瘍の増加 (頻度および数/個体)
	128 週間発がん性	0、10 ppm (雄 : 0、0.45、雌 : 0、 0.57)、混餌	— 10 ppm 雄 : 中間検査で担がん動物数の増加		— 10 ppm : 肝臓 (雄) 及び卵巣 (雌) の相対重量の増加、肝臓のうっ血 (雄)、胆管過形成及び肝実質細胞変性 (雌)、悪性乳腺腫瘍の増加 (雌)
	3 世代繁殖毒性	0、100、2,000 ppm (0、10、200)、混餌	— 生殖能への影響なし、催奇形性なし		— 2,000 ppm : F ₀ 雄の体重増加量及び摂餌量の低下

動物種	試験	投与量 (mg/kg 体重/日)	無作用量等 (mg/kg 体重/日)		
			JECFA	EMEA	APVMA
ウサギ	発生毒性	0、30、60、 120、経口 (妊娠 6~18日)	— 母動物：30：摂餌量、体重の 減少、流産 胚：120：死亡・胚吸収増加 催奇形性なし		— 母動物：30：摂餌 量、体重の減少、 流産 胚：吸収率の増加
イヌ	4週間亜 急性毒性	0.36%、1.08% (~90、270) 混餌	— 0.36%：摂餌量減少、肺 (間 質組織増殖)、腎臓 (小程度 の混濁腫脹)、精巣 (退行性 変化及び精母細胞数減少)		— 0.36%：成熟精母 細胞の不在及び精 細胞の中等度の変 性を伴う輸精管の 軽度萎縮
	10~30 日間投与	50、100、恐らく 経口			— 運動失調、脊髓灰 白質に微小出血
	13週間 亜急性毒 性	0、16、33、66、 132、経口	— 16：体重増加量及び摂餌量減 少		— 16：体重増加量及 び摂餌量減少
	13週間 亜急性毒 性	0、5、10、20、 40、経口	— 有害影響なし		40 (NOEL) 有害影響なし
ADI 設定根拠			—	—	—
ADI 設定根拠資料			—	—	—
ADI			—	—	—

<別紙 1：代謝物/分解物略称>

略称	名称
代謝物 A	2-ヒドロキシメチル-1-メチル-5-ニトロイミダゾール
代謝物 B	1-メチル-5-ニトロイミダゾール-2-カルボン酸
代謝物 C	1-メチル-5-ニトロイミダゾール-2-イルメチルヒドロゲンスルフェート
代謝物 D	1-メチル-5-ニトロイミダゾール-2-イルメチルグルコシドウロニックアシッド
代謝物 E	1,2-ジメチル-5-アミノイミダゾール

<別紙 2：検査値等略称>

略称等	名称
ADI	一日摂取許容量
APVMA	オーストラリア農薬・動物用医薬品局 (Australian Pesticides and Veterinary Medicines Authority)
CHL 細胞	チャイニーズハムスター肺線維芽細胞
CHO 細胞	チャイニーズハムスター卵巣由来細胞
CVMP	欧州医薬品審査庁動物用医薬品委員会
GC	ガスクロマトグラフィー
EMA	欧州医薬品審査庁
HPLC	高速液体クロマトグラフィー
JECFA	FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議
LD ₅₀	半数致死量
LOAEL	最小毒性量
NOAEL	無毒性量
NOEL	最大無作用量
SCAN	動物栄養に関する科学委員会 (The Scientific Committee for Animal Nutrition)
TLC	薄層クロマトグラフィー

<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. 塩野義製薬株式会社. 医薬品添付文書“フラジール®内服錠 250 mg”, 2014 年 8 月改訂（第 13 版）
4. JECFA: Dimetridazole. Toxicological evaluation of certain veterinary drug residues in food. WHO Food Additives Series, No. 25, 1990, nos 667 on INCHEM
5. JECFA: Dimetridazole. Residues of some veterinary drugs in foods and animals, 1989
6. EMEA: Committee for Veterinary Medicinal Products, DIMETRIDAZOLE (1), Summary Report, 1996
7. EMEA: Committee for Veterinary Medicinal Products, DIMETRIDAZOLE (2), Summary Report, 1996
8. APVMA: The reconsideration of registrations of products containing dimetridazole and their associated approved labels: Final Review Report and regulatory Decision. 28 June 2007
9. EMEA: Committee for Veterinary Medicinal Products, DIMETRIDAZOLE (3), Summary Report, 1996
10. JECFA: Dimetridazole. Evaluation of certain veterinary drug residues in food (Thirty-fourth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives). WHO Technical Report Series, No. 788, 1989
11. 食品安全委員会. 「食品健康影響評価の結果の通知について」（平成 26 年 5 月 20 日付け府食第 389 号）別添 1：動物用医薬品評価書メトロニダゾール 2014 年 5 月
12. Koch RL, Chrystal EJ, Beaulieu BB Jr, Goldman P: Acetamide - a metabolite of metronidazole formed by the intestinal flora. Biochemical Pharmacology, 1979 Dec 15; 28(24): 3611-3615.
13. Bendahmane M, Chauvet Monges AM, Braguer D, Peyrot V, Crevat A: The *in vitro* effect of some nitroimidazoles on microtubule formation. Biochemical Pharmacology, 1984 Jun 15; 33(12): 1937-1940.
14. EUROPEAN COMMISSION: Opinion of the Scientific Committee for Animal Nutrition on the use of Dimetridazole in animal feedingstuffs. expressed on 12 September 2000
15. Australian Government Department of Health: ADI LIST, Acceptable Daily Intakes for Agricultural and Veterinary Chemicals, Current as of 30 June 2014
16. EUROPEAN COMMISSION: Commission Regulation (EC) No 2205/2001 of 14 November 2001 amending Council Directive 70/524/EEC concerning additives in feeding stuffs as regard withdrawal of the authorization of certain additives. Official Journal of the European Communities, L 297/3, 15.11.2001
17. EUROPEAN COMMISSION: Commission Regulation (EC) No 1798/95 of 25 July

1995 amending Annex IV to Council Regulation (EEC) No 2377/90 laying down a Community procedure for the establishment of maximum residue limits of veterinary medicinal products in foodstuffs of animal origin. Official Journal of the European Communities, No L 178/20, 26.7.95