

(案)

動物用医薬品評価書

クロサンテル

2015年3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、使用状況等	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 (牛)	7
(3) 薬物動態試験 (羊)	8
(4) 代謝試験 (ラット)	10
(5) 代謝試験 (牛)	10
(6) 代謝試験 (羊)	11
2. 残留試験	12
(1) 残留試験 (牛)	12
(2) 残留試験 (羊)	15
3. 遺伝毒性試験	17
4. 急性毒性試験	18
5. 亜急性毒性試験	18
(1) 13週間亜急性毒性試験 (ラット)	18
(2) 3か月間亜急性毒性試験 (イヌ)	19
(3) 亜急性毒性試験 (羊) <参考資料>	20
6. 慢性毒性及び発がん性試験	20
(1) 18か月間発がん性試験 (マウス)	20
(2) 24か月間発がん性試験 (ラット)	21
7. 生殖発生毒性試験	22
(1) 3世代繁殖試験 (ラット) ①<参考資料>	22
(2) 生殖毒性試験 (ラット) ②	23

(3) 生殖毒性試験（牛及び羊、経口又は筋肉内投与）＜参考資料＞	23
(4) 生殖毒性試験（羊）＜参考資料＞	23
(5) 周産期・授乳期投与試験（ラット）	24
(6) 発生毒性試験（ラット）	24
(7) 発生毒性試験（ウサギ）	24
8. その他の知見	25
9. ヒトにおける知見	25
III. 食品健康影響評価	26
1. 国際機関等における評価	26
(1) JECFA における評価	26
(2) EMA（EMEA）における評価	26
(3) 日本における評価	26
2. 食品健康影響評価について	26
・表 20 JECFA における各種試験の無毒性量等の比較	28
・別紙：検査値等略称	29
・参照	30

〈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3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）
2013年 8月 1日 第155回動物用医薬品専門調査会
2015年 1月 15日 第175回動物用医薬品専門調査会
2015年 3月 3日 第551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9月30日まで)		
山手 丈至（座長*）	頭金 正博	山崎 浩史
小川 久美子（座長代理*）	能美 健彦	吉田 敏則**
石川 さと子	福所 秋雄	渡邊 敏明
石川 整	舞田 正志	
寺本 昭二	松尾 三郎	*：2012年8月22日から
天間 恭介	山口 成夫	**：2012年10月1日から

(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

寄生虫駆除剤である「クロサンテル」(CAS No. 57808-65-8) について、JECFA 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は、薬物動態 (ラット、牛及び羊)、代謝 (ラット、牛及び羊)、残留 (牛及び羊)、遺伝毒性、急性毒性 (マウス、ラット、牛及び羊)、亜急性毒性 (ラット及びイヌ)、発がん性 (マウス及びラット)、生殖発生毒性 (ラット及びウサギ) 等の試験成績である。

各種遺伝毒性試験により、クロサンテルは生体にとって問題となる遺伝毒性は示さないと考えられた。マウス及びラットを用いた発がん性試験において、発がん性は認められなかったことから、クロサンテルは遺伝毒性発がん物質ではないと考えられ、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。

クロサンテルの各種毒性試験において最も低い用量で認められた影響は、ラットを用いた 13 週間亜急性毒性試験における血糖値の軽度の上昇及び精巣上体の精子肉芽腫の発生頻度の増加並びに 24 か月間発がん性試験における精巣上体の精子肉芽腫の発生頻度の増加並びにイヌを用いた 3 か月間亜急性毒性試験における総ビリルビンの上昇であり、いずれも無毒性量 (NOAEL) は 2.5 mg/kg 体重/日であった。

以上のことから、これらの試験の NOAEL 2.5 mg/kg 体重/日に安全係数として 100 (種差 10 及び個体差 10) を適用し、ADI を 0.025 mg/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

寄生虫駆除剤

2. 有効成分の一般名

和名：クロサンテル

英名：Closantel

3. 化学名

CAS (No. 57808-65-8)

英名：N-[5-Chloro-4-[(4-chlorophenyl) cyanomethyl]-2-methylphenyl]-2-hydroxy-3,5-diiodobenzamide

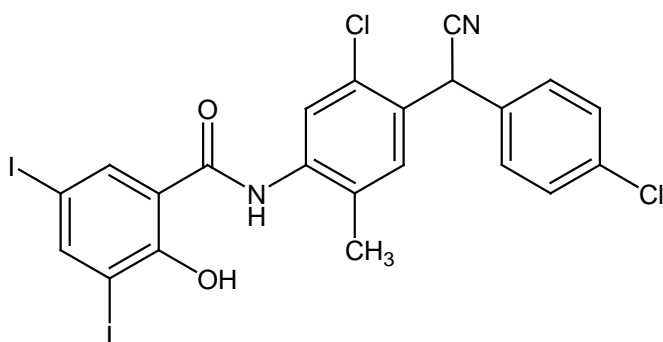
4. 分子式

$C_{22}H_{14}Cl_2I_2N_2O_2$

5. 分子量

663.07

6. 構造式



(参照 2)

7. 使用目的、使用状況等

クロサンテルはサリチルアニリド誘導体で、主に肝蛭 (*Fasciola hepatica*) 等の吸虫類 (trematodes)、血液や血漿を餌とする線虫類 (nematodes) 及び節足動物 (arthropods) の複数の種や発育過程に対して使用される広範囲のスペクトルを有する寄生虫駆除剤である。

海外では、クロサンテルは、牛や羊に広く使用されており、予防及び治療を目的として、ドレンチ¹剤、ボラス²剤及び注射剤 (皮下又は筋肉内投与) が用いられる。また、

¹ drench : 飲薬。動物に口から強制的に飲ませる方法で与える水薬。(参照 4)

² bolus : 丸薬。食塊 (容易に呑み込める大きさに作られた食物や薬剤の球状塊、あるいは消化管を通過するような塊。) (参照 4)

羊にはドレンチ剤としてメベンダゾールや複数の他のベンズイミダゾールとの合剤が、牛にはボーラス剤としてレバミゾールとの合剤が用いられる。(参照 3)

日本では、動物用又はヒト用医薬品としての承認はない。

なお、ポジティブリスト制度導入に伴う残留基準値³が設定されている。(参照 1)

³ 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 の評価書等を基に、クロサンテルの毒性に関する主な知見を整理した。(参照 3~8)

検査値略称を別紙に示した。

各種薬物動態、代謝及び残留試験で用いられた ^{14}C 標識クロサンテルは、カルボニル基の炭素を ^{14}C で標識したもの (以下「[carbonyl- ^{14}C]クロサンテル」という。) であった。

1. 薬物動態試験

(1) 薬物動態試験 (ラット)

① ラット (Wistar 系、雄 5 匹) を用いたクロサンテル製剤 (0.5%懸濁液) の単回経口投与 (20 mg/kg 体重) による薬物動態試験が実施された。

血清中のクロサンテル濃度は、投与 1 日後に最高値 ($73.1 \pm 10.3 \mu\text{g/mL}$) に達し、その後は単一指数的に消失した。半減期は 2.8 日で、薬物濃度曲線下面積 ($\text{AUC}_{0-\infty}$) は $408 \mu\text{g} \cdot \text{日/mL}$ であった。(参照 4)

② ラット (Wistar 系、体重約 242 g、雄 5 匹) を用いた [carbonyl- ^{14}C]クロサンテルの経口投与 (10 mg/kg 体重) による薬物動態試験が実施された。総放射活性濃度を燃焼計数方式又は直接計数方式により測定した。

投与 10 日後の血漿中の総放射活性濃度は $3.54 \mu\text{g/mL}$ であった。

投与後 10 日間の排泄率は糞中では投与量の 88.4%、尿中では投与量の 0.4% で、主な排泄経路は糞中であった。投与後 2 日以内に、投与量の約半分が排泄された。(参照 3、5、6)

(2) 薬物動態試験 (牛)

① 牛 (ホルスタイン種、去勢雄 4 頭及び未経産雌 5 頭) を用いた [carbonyl- ^{14}C]クロサンテルの単回経口投与 (10 mg/kg 体重) による薬物動態試験が実施された。全血中の総放射活性を燃焼-LSCにより、血漿中の総放射活性を直接計数方式により測定した。また、尿及び糞中の総放射活性をそれぞれ LSC 及び燃焼-LSC により、各組織 (肝臓、腎臓、筋肉及び腸間膜の脂肪) 中の総放射活性を直接計数方式により測定した。

全血及び血漿中の総放射活性濃度は投与 48 時間後に最高値 (全血: $26.8 \mu\text{g eq/mL}$ 、血漿: $35.7 \mu\text{g eq/mL}$) に達した。血漿中総放射活性の半減期は 11 日、 $\text{AUC}_{0-\infty}$ は $593 \mu\text{g eq} \cdot \text{日/mL}$ であった。

投与後 42 日間までに、投与量の 90% が糞中に、0.25% 未満が尿中に排泄された。

血漿中放射活性濃度に対する組織中放射活性濃度の比を表 1 に示した。これらのデータから、これらの比は羊の場合 [II. 1. (3) ①] と同様に投与後の経過時間とは無関係であることが示唆され、血漿からの放射活性の消失は、組織からの残留物の消失を反映すると考えられた。(参照 5)

表 1 牛における ^{14}C 標識クロサンテルの経口投与後の血漿中放射活性濃度
(1 とする) に対する組織中放射活性濃度の比

組織	投与後日数 (日)		
	14	28	42
肝臓	0.227	0.312	0.423
腎臓	0.153	0.169	0.192
筋肉	0.044	0.044	0.050
脂肪 (腸間膜)	0.067	0.108	0.077

- ② 牛 (ホルスタイン種、体重 270 ± 28 kg、雌雄各 6 頭、4 頭/時点) を用いたクロサンテル製剤 (5%懸濁液) の単回経口投与 (10 mg/kg 体重) による薬物動態試験が実施された。

血漿中のクロサンテル濃度は、投与 2 日後までに最高値 (平均 30.7 $\mu\text{g/mL}$) に達した。半減期は平均 11 日、 $\text{AUC}_{0-\infty}$ は平均 517 $\mu\text{g} \cdot \text{日/mL}$ であった。(参照 5)

- ③ 泌乳牛 (3 頭) を用いたクロサンテル製剤 (5%注射液) の単回筋肉内投与 (5 mg/kg 体重) による薬物動態試験が実施された。

血漿中のクロサンテル濃度は、投与 2~4 日後に最高値 (約 45 $\mu\text{g/mL}$) に達した。血漿容積を牛の体重の 5% と仮定すると、この最高濃度は投与量の約 45% に相当すると考えられた。

乳汁中のクロサンテル濃度は投与 4 日後に最高値 (1 $\mu\text{g/mL}$) に達した。1 日の産乳量を 20 L と仮定すると、投与量の約 1% が乳汁中へ排泄されると考えられた。

投与 4 日後以降の血漿及び乳汁中から排泄されるクロサンテルの半減期は、いずれも約 12 日で、両体液間の動的平衡を示した。しかしながら、乳汁中濃度は、血漿中濃度の約 $1/45$ であった。3 頭の間で血漿又は乳汁について大きな差はみられなかった。(参照 3)

- ④ 子牛 (体重 118 ± 22 kg、3 頭/群) を用いたクロサンテルの筋肉内投与 (2.5 mg/kg 体重) による薬物動態試験が実施された。

血漿中のクロサンテル濃度は投与 14 日後に平均で 10 $\mu\text{g/mL}$ であった。半減期は 12 日で、投与 70 日後までに、クロサンテルは血漿中にはほとんど検出されなくなった (検出限界 0.1 $\mu\text{g/mL}$)。組織 (肝臓、腎臓、筋肉及び脂肪) 中では、クロサンテルは投与 56 日後に検出されなくなった。(参照 5、6)

(3) 薬物動態試験 (羊)

- ① 羊 (テクセル種、体重 27~35 kg、雄 3 頭及び雌 2 頭/群) を用いた [carbonyl- ^{14}C] クロサンテル (溶媒: 5%プロピレングリコール及び水) の胃管を用いた経口投与 (10 mg/kg 体重) 又は筋肉内投与 (5 mg/kg 体重) による薬物動態試験が実施された。全血中の総放射活性を燃焼-LSC により、血漿中の総放射活性を直接計数方式により測定した。尿中及び糞中の総放射活性をそれぞれ LSC 及び燃焼-LSC により、各組織 (肝

臓、腎臓、筋肉及び腸間膜の脂肪) 中の総放射活性を直接計数方式により測定した。

血漿中の放射活性濃度は、両投与経路ともに投与 8~24 時間後に最高値 (経口投与: $47.0 \pm 11 \mu\text{g eq/mL}$ 、筋肉内投与: $47.9 \pm 4.4 \mu\text{g eq/mL}$) に達した。半減期は、経口投与では 26.7 日、筋肉内投与では 22.7 日であった。(参照 3) $AUC_{0-\infty}$ は、経口投与では $1,303 \mu\text{g eq} \cdot \text{日/mL}$ 、筋肉内投与では $1,027 \mu\text{g eq} \cdot \text{日/mL}$ と両投与経路でほぼ同じであったことから、経口投与時のクロサンテルの全身生物学的利用率は、筋肉内投与時の半分であることが示された。(参照 3、5)

血漿中放射活性濃度に対する全血中放射活性濃度の比は 0.65 であったことから、血球に結合する割合は無視できる程度であるが、血漿タンパク質に結合した画分は非常に高い (99%超) と考えられた。この結果は全血又は血漿に ^{14}C 標識クロサンテルを添加した場合と同様であった。(参照 3、5)

経口又は筋肉内投与後 8 週間以内に、投与量の約 80% が糞中に、0.5% が尿中に排泄された。経口投与後 2 日間の糞中の放射活性排泄率が筋肉内投与時より高いこと (経口投与: 43.3%、筋肉内投与: 10.4%) から、経口投与後の全身生物学的利用率は筋肉内投与時よりも小さいことが示された。

組織中の総放射活性濃度は、両投与経路でほぼ同じであった。総放射活性濃度は、肺及び腎臓で高く (投与 14~21 日後で $3.3 \sim 3.8 \mu\text{g eq/g}$)、腎臓中の半減期は 25 日であった。肝臓における総放射活性濃度は、心臓 (投与 14~21 日後で $1.7 \sim 2.8 \mu\text{g eq/g}$) と同等であった。

両投与経路における血漿中放射活性濃度に対する組織中放射活性濃度の比を表 2 に示した。血漿中濃度は組織中濃度より高かった。これらの比は、投与後の経過時間及び投与経路に依存しないことから、血漿中からの放射活性の消失は、組織中からの残留物の消失を非常によく反映すると考えられた。(参照 3、5、6)

表 2 羊における ^{14}C 標識クロサンテルの経口又は筋肉内投与後の血漿中放射活性濃度 (1 とする) に対する組織中放射活性濃度の比

投与方法 (投与量)	組織	投与後日数 (日)				
		14	21	35	42	56
経口 (10 mg/kg 体重)	肝臓	0.081	0.084	0.077	0.099	0.078
	腎臓	0.172	0.157	0.153	0.111	0.163
	筋肉	0.039	0.040	0.034	0.016	0.028
	脂肪 (腸間膜)	0.009	0.004	0.007	0.003	0.013
筋肉内 (5 mg/kg 体重)	肝臓	0.083	0.119	0.090	0.107	0.095
	腎臓	0.135	0.155	0.156	0.158	0.235
	筋肉	0.023	0.025	0.033	0.021	0.027
	脂肪 (腸間膜)	0.010	0.026	0.006	0.007	0.013

- ② 羊 (体重 $47 \pm 11 \text{ kg}$ 、3 頭/群) を用いたクロサンテルの単回経口投与 (5 又は 10 mg/kg 体重) による薬物動態試験が実施された。血液試料は投与後 2 週間毎に採取された。

血漿中クロサンテル濃度は両投与量群ともに投与 14 日後に最も高かった (5 mg/kg

体重投与群：14.5 µg/mL、10 mg/kg 体重投与群：33.9 µg/mL)。半減期は両投与量群ともに 24 日で、投与 84 日後の血漿中のクロサンテル濃度は、5 mg/kg 体重投与群では 1.7 µg/mL に、10 mg/kg 体重投与群では 3.8 µg/mL に減少した。(参照 4、6)

- ③ 羊（雌雄各 2 頭/群）を用いたクロサンテル（溶媒：5%プロピレングリコール及び水）の単回経口投与（10 mg/kg 体重）又は単回筋肉内投与（5 mg/kg 体重）による薬物動態試験が実施された。

血漿中のクロサンテル濃度は、両投与経路ともに投与 8～24 時間後に最高値（経口投与：48～62 µg/mL、筋肉内投与：51～68 µg/mL）に達した。半減期は両投与経路ともに約 15 日であった。筋肉内投与では投与約 4 日後までに投与量の最大 60%が血漿中に存在したが、経口投与では投与量の 25～30%のみであった。

組織中のクロサンテル濃度は、血漿中濃度の 1/7～1/21 であり、肺及び腎臓では高く、肝臓、筋肉及び脂肪ではやや低かった。(参照 3)

(4) 代謝試験（ラット）

ラットに[carbonyl-¹⁴C]クロサンテルを経口投与（10 mg/kg 体重）した試験 [II. 1. (1) ②] において、投与 10 日後の血液中、投与後 10 日間の尿及び糞（24 時間毎に採取）のクロサンテル及びその代謝物が HPLC により同定された。

投与 10 日後の血漿中（3.54 µg/mL）では、総放射活性の 93.4%がクロサンテル、4.7%がモノヨードクロサンテルであった。

糞中代謝物は、未変化体クロサンテル（投与後 24 時間で糞中放射活性の 90%、投与 192～240 時間で 76%）及びモノヨードクロサンテル（初回採取試料中放射活性の 3.4%、最終採取試料中放射活性の 19%）であった。モノヨードクロサンテルの大部分は、3-モノヨードクロサンテルであった。脱ヨウ素化クロサンテル（微量）及び未同定代謝物（糞中放射活性の約 3～6%）も存在した。

尿中には、クロサンテル及びモノヨードサリチル酸と共溶出される代謝物が認められた。クロサンテルの代謝物は、クロサンテルの還元的脱ヨウ素化及びアミド加水分解によって生ずると考えられた。硫酸又はグルクロン酸抱合体は全く検出されなかった。(参考 3、5、6)

(5) 代謝試験（牛）

牛に[carbonyl-¹⁴C]クロサンテルを単回経口投与（10 mg/kg 体重）した試験 [II. 1. (2) ①] において、代謝物が検討された。代謝物のパターンは radio-HPLC により同定された。

血漿中の総放射活性は全て未変化体クロサンテルであった。

糞、腎臓、筋肉及び脂肪中における総放射活性の主要成分は未変化体クロサンテル（糞：82%、腎臓：70～80%、筋肉：80～100%、脂肪：60～100%）であった。肝臓では、未変化体クロサンテルは僅か（6～15%）で、総放射活性の 40～77%は 3-モノヨードクロサンテルであった。

投与後 2 週間の糞のメタノール抽出物中において、投与量の約 6%を占める代謝物が

検出され、この代謝物は胆汁中にも検出された。この代謝物は、質量及びUV分析により、ベンズアミド構造の芳香環に水酸基が一つ置換したモノヨードクロサンテル誘導体の硫酸抱合体と推定された (図1参照)。(参照5)

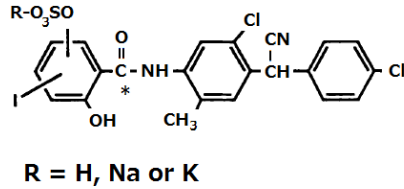


図1 牛の糞及び胆汁中のクロサンテル代謝物 (*は¹⁴C標識炭素を示す。)

(6) 代謝試験 (羊)

羊に[carbonyl-¹⁴C]クロサンテルを経口投与(10 mg/kg 体重)又は筋肉内投与(5 mg/kg 体重)した試験[II. 1. (3)①]において、代謝物が検討された。代謝物のパターンはradio-HPLCにより同定された。

経口又は筋肉内投与後の糞中総放射活性の主要成分は未変化体クロサンテル(80~90%)であった。糞中の二つの代謝物が、3-モノヨードクロサンテル及び5-モノヨードクロサンテルと同定され、3-モノヨードクロサンテルは5-モノヨードクロサンテルよりも多かった。糞中には、脱ヨウ素化クロサンテルは検出されなかった。

筋肉、腎臓及び脂肪中では、総放射活性のほとんどは未変化体クロサンテルであった。肝臓では、筋肉内投与後の総放射活性の61%が、経口投与後の総放射活性の71%が未変化体クロサンテルで、主要代謝物は、モノヨードクロサンテルであった。

尿中では、未同定代謝物が認められたが、尿中総放射活性排泄率が投与量の0.5%に過ぎないため、これらの構造解析は試みられなかった。羊におけるクロサンテルの代謝経路を図2に示した。

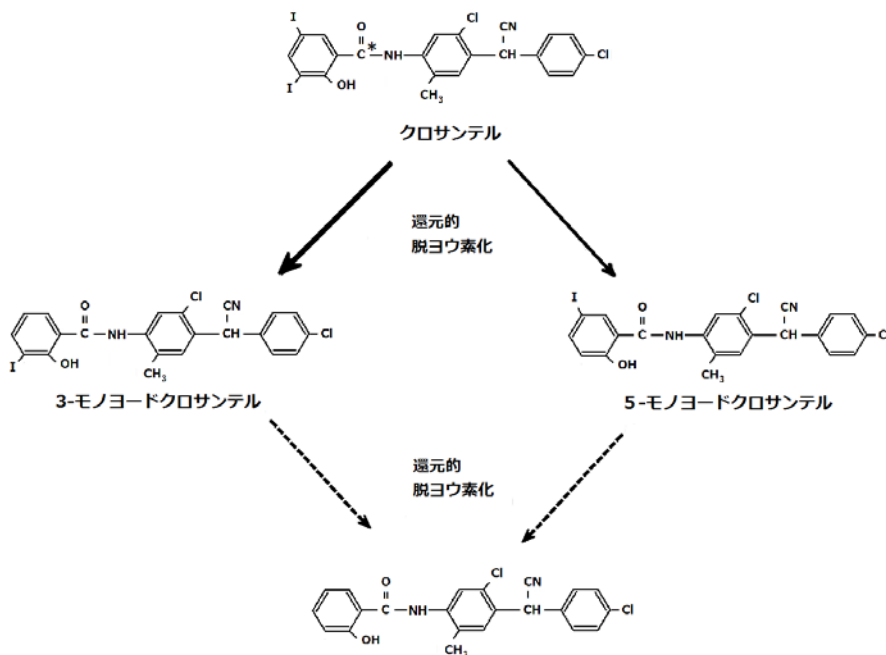


図2 羊におけるクロサンテルの代謝経路 (*は¹⁴C標識炭素を示す。)

以上のことから、クロサンテルの主要代謝経路は、モノヨードクロサンテル異性体を生成する還元的な脱ヨウ素化反応であった。完全な脱ヨウ素化も起こり得るが、脱ヨードクロサンテルは検出されなかった。また、アミド部位の加水分解がもう一つの可能性として起こり得るが、その代謝経路により産生される代謝物（例えば、3,5-ジヨードサリチル酸）は同定されなかった。JECFA 評価書では、これは、アミド結合の周囲の立体障害により、加水分解が起こりにくくなっているためと考察されている。（参照 3、5、6）

2. 残留試験

(1) 残留試験（牛）

① 経口投与

a. 牛に[carbonyl-¹⁴C]クロサンテルを単回経口投与（10 mg/kg 体重）した試験 [II. 1. (2)①] において、投与 14、28 及び 42 日後の各組織（肝臓、腎臓、筋肉及び腸間膜の脂肪）中の総残留濃度及びクロサンテル濃度が測定された。

結果を表 3 に示した。総残留濃度は肝臓で最も高く、クロサンテル濃度は腎臓で最も高かった。（参照 5）

表 3 牛における ¹⁴C 標識クロサンテル単回経口投与後の組織中の総残留濃度 (TR) 及びクロサンテル濃度 (C) (µg/g)

組織	投与後日数 (日)					
	14 ^a		28 ^b		42 ^c	
	TR	C	TR	C	TR	C
肝臓	3.71	0.54*	2.41	0.17*	1.13	<0.1
腎臓	2.50	1.87	1.28	1.05	0.47	0.38
筋肉	0.71	0.57	0.34	0.37	0.13	0.16*
脂肪 (腸間膜)	1.09	0.78	0.83	0.52	0.20	0.18

a : 未経産牛 2 頭及び去勢牛 1 頭

b : 未経産牛 1 頭及び去勢牛 2 頭

c : 未経産牛 2 頭及び去勢牛 1 頭

* : 0.1 µg/g 以下であった 1 例を除いた平均値

b. 牛にクロサンテル製剤（5%懸濁液）を単回経口投与（10 mg/kg 体重）した試験 [II. 1. (2)②] において、各組織（肝臓、腎臓、筋肉及び脂肪）中のクロサンテル濃度を HPLC（検出限界 0.1 µg/g）により測定した。

結果を表 4 に示した。投与 14 及び 28 日後では、腎臓で最も高い残留がみられた。（参照 5）

表 4 牛におけるクロサンテル単回経口投与後の組織中のクロサンテル濃度 (µg/g)

組織	投与後日数 (日)		
	14	28	42
肝臓	0.68±0.52	0.16±0.02 ^a	0.49 ^c
腎臓	2.14±1.00	0.83±0.31	0.33±0.26

筋肉	0.41±0.10	0.19±0.05 ^a	0.19±0.10 ^b
脂肪	0.65±0.20	0.18±0.03 ^b	ND

a : 0.1 µg/g 以下の 2 例を除外した平均値

n=4

b : 0.1 µg/g 以下の 1 例を除外した平均値

c : 0.1 µg/g 以下の 3 例を除外した平均値

ND : 全例で 0.1 µg/g 以下

- c. 妊娠牛（10 頭）を用いたクロサンテルの経口投与（10 mg/kg 体重/日）による残留試験が実施された。投与を乾乳期の初め（分娩 45～55 日前）に行い、少なくとも分娩 28 日後までの乳汁中のクロサンテル濃度を測定した。

乳汁中のクロサンテル濃度は、約 10～500 ng/g の範囲であった。初乳期以降（分娩約 3 日後から）では、クロサンテル濃度は 50 ng/g 以下に減少した。全体として初乳期後の時点のクロサンテルの濃度は 30 ng/g 未満であった。95 パーセンタイル値は 50 ng/g 未満であった。（参照 7）

② 皮下投与

去勢牛（体重 200 kg、3 頭/群）を用いたクロサンテルの反復皮下投与（投与開始及び投与開始 21 日後に 15 mg/kg 体重/日、投与開始 50、80 及び 120 日後に 10 mg/kg 体重/日を投与）による残留試験が実施された。投与開始 21、35、65 及び 135 日後の血漿中並びに投与開始 35、65、95、135 及び 150 日後の各組織（肝臓、腎臓、筋肉及び脂肪）中のクロサンテル濃度を HPLC により測定した。

試験期間中の血漿中のクロサンテル濃度は 88～150 µg/mL であった。

組織中のクロサンテル濃度を表 5 に示した。組織中のクロサンテル濃度は、腎臓中で最も高かった。（参照 5、6）

表 5 牛におけるクロサンテル反復皮下投与後の組織中のクロサンテル濃度（µg/g）

組織	投与開始後日数*（日）				
	35（14）	65（15）	95（15）	135（15）	150（30）
肝臓	15.6	14.6	14.1	15.7	10.3
腎臓	20.5	19.7	20.1	19.4	12.7
筋肉（腰筋）	8.47	6.69	4.99	5.25	2.94
筋肉（半腱様筋）	4.36	4.15	3.84	2.79	2.82
脂肪（皮下）	7.65	7.51	9.04	10.1	2.48
脂肪（腎周囲）	3.55	6.29	5.77	11.2	4.56

* : () は各投与後日数を指す。

③ 筋肉内投与

- a. 子牛（平均体重 166 kg、雄 2 頭及び雌 1 頭/時点）を用いたクロサンテルの単回筋肉内投与（2.5 mg/kg 体重）による残留試験が実施された。血清（各時点の 1 頭及び休薬 56 日後まで生存した雌 1 頭）中並びに投与 14、28 及び 56 日後の各組織（肝臓、腎臓、筋肉及び腎周囲脂肪）中のクロサンテル濃度を HPLC（検出限界 0.1 µg/g 又は µg/mL）により測定した。

結果を表 6 に示した。組織中のクロサンテル濃度は、投与 14 及び 28 日後では腎臓で最も高かった。試験期間中に脂肪中のクロサンテルの濃度は僅かに増加した。(参照 5、6)

表 6 牛におけるクロサンテル単回筋肉内投与後の血清中及び組織中のクロサンテル濃度 (µg/g 又はµg/mL)

対象	投与後日数 (日)			
	14	28	42	56
血清	21	13	9	6.8
肝臓	1.54	1.43	0.56	
腎臓	2.84	2.93	1.39	
筋肉	0.67	0.70	0.29	
脂肪 (腎周囲)	2.08	1.97	2.36	

- b. 子牛 (平均体重 203 kg、雄 2 頭及び雌 1 頭/時点) を用いたクロサンテルの筋肉内投与 (5 mg/kg 体重) による残留試験が実施された。投与 28 日後 (雌 1 頭) 及び投与 84 日後 (雄 1 頭) の血清中並びに投与 28 及び 56 日後の各組織 (肝臓、腎臓、筋肉及び脂肪) 中のクロサンテル濃度を HPLC (検出限界 0.1 µg/g 又はµg/mL) により測定した。

結果を表 7 に示した。[II. 2. (1)③ a] の結果 (表 6) と対比して、本試験では、クロサンテルが脂肪から消失した。(参照 5、6)

表 7 牛におけるクロサンテル単回筋肉内投与後の血清中及び組織中のクロサンテル濃度 (µg/g 又はµg/mL)

対象	投与後日数 (日)		
	28	56	84
血清	20		2.3
肝臓	1.71	0.58	
腎臓	4.95	1.58	
筋肉	0.94	0.39	
脂肪	6.03	1.31	

- c. 泌乳牛 (平均体重 350 kg、3 頭) を用いたクロサンテルの単回筋肉内投与 (5 mg/kg 体重) による残留試験が実施された。乳汁中のクロサンテル濃度を UV 検出器付き HPLC (検出限界 0.5 µg/g(又はµg/mL)) により測定した。

結果を表 8 に示した。クロサンテル濃度は、投与 4~7 日後に最高となった。(参照 5、6)

表 8 牛におけるクロサンテル単回筋肉内投与後の
乳汁中のクロサンテル濃度 ($\mu\text{g/g}$ (又は $\mu\text{g/mL}$))

投与後日数 (日)	1	2	3	4	5	6
乳汁中濃度	0.47	0.80	0.66	1.01	0.88	0.92
投与後日数 (日)	7	14	21	28	35	
乳汁中濃度	1.07	0.48	0.52	0.08	0.22	

(2) 残留試験 (羊)

① 経口投与

- a. 羊 (体重 26.9 ± 2.1 kg、雄 2 頭及び雌 1 頭/時点) を用いたクロサンテルの単回経口投与 (5 mg/kg 体重) による残留試験が実施された。投与 14、18 及び 42 日後の各組織 (肝臓、腎臓、筋肉及び脂肪) 中のクロサンテル濃度を HPLC (検出限界 0.1 $\mu\text{g/g}$) により測定した。別途雄 1 頭について同様に投与し、投与 56 日後の血清中のクロサンテルを同様に測定した。

血清中のクロサンテル濃度は 1.6 $\mu\text{g/mL}$ であった。

組織中のクロサンテル濃度を表 9 に示した。投与 14 日後のクロサンテル濃度は腎臓及び脂肪で高かった。(参照 5、6)

表 9 羊におけるクロサンテル単回経口投与後の組織中のクロサンテル濃度 ($\mu\text{g/g}$)

組織	投与後日数 (日)		
	14	28	42
肝臓	1.00 ± 0.50	0.48 ± 0.33	0.23 ± 0.09
腎臓	2.43 ± 0.71	0.78 ± 0.62	0.62 ± 0.35
筋肉	1.13 ± 0.11	0.20 ± 0.07	0.22 ± 0.04
脂肪	2.17 ± 0.75	0.45 ± 0.26	0.80 ± 0.33

- b. 羊にクロサンテルを単回経口投与 (5 又は 10 mg/kg 体重) した試験 [II. 1. (3)②] において、投与 14、56 及び 84 日後の各組織 (肝臓、腎臓、筋肉及び脂肪) 中のクロサンテル濃度が HPLC (検出限界 0.1 $\mu\text{g/g}$) により測定された。

結果を表 10 に示した。投与 14 日後のクロサンテル濃度は、両投与量群ともに腎臓で最も高かった。(参照 5、6)

表 10 羊におけるクロサンテル単回経口投与後の組織中のクロサンテル濃度 ($\mu\text{g/g}$)

投与量 (mg/kg 体重)	組織	投与後日数 (日)		
		14	56	84
5	肝臓	1.7	0.43	0.06
	腎臓	2.7	0.47	0.17
	筋肉	2.0	0.09	ND
	脂肪	2.6	0.06	ND
10	肝臓	0.9	0.81	0.10
	腎臓	2.6	0.65	0.25

	筋肉	2.3	0.24	0.13
	脂肪	1.7	0.19	0.10

ND：不検出

② 経口及び筋肉内投与

a. 羊に[carbonyl-¹⁴C]クロサンテルを筋肉内投与及び胃管を用いて経口投与した試験 [II. 1. (3)①] において、投与 14、21、35、42 及び 56 日後の各組織（肝臓、腎臓、筋肉及び腸間膜の脂肪）中の総残留濃度が直接計数方式により、クロサンテル濃度が HPLC により測定された。

結果を表 11 に示した。総残留濃度及びクロサンテル濃度は、いずれの時点においても両投与量群ともに腎臓で最も高かった。（参照 5、6）

表 11 羊における ¹⁴C 標識クロサンテル経口投与後の組織中の総残留濃度 (TR) 及びクロサンテル濃度 (C) (µg/g)

投与量 (mg/kg 体重)	組織	投与後日数 (日)									
		14		21		35		42		56	
		TR	C	TR	C	TR	C	TR	C	TR	C
5	肝臓	2.11	1.59	1.95	0.59	1.05	0.79	1.00	0.70	0.67	0.36
	腎臓	3.44	3.53	2.54	2.45	1.83	1.90	1.48	1.42	1.66	1.36
	筋肉	0.59	0.58	0.41	0.32	0.39	0.35	0.20	0.20	0.19	0.10
	脂肪 (腸間膜)	0.25	0.23	0.42	0.40	0.07	<0.1	0.07	<0.1	0.09	<0.1
10	肝臓	1.54	1.24	1.58	1.15	0.99	0.67	1.92	1.18	0.67	0.49
	腎臓	3.27	3.20	2.96	2.87	1.97	1.91	2.15	1.95	1.40	0.88
	筋肉	0.75	0.78	0.75	0.75	0.44	0.39	0.31	0.30	0.24	0.15
	脂肪 (腸間膜)	0.17	0.17	0.08	<0.1	0.09	<0.1	0.06	<0.1	0.11	<0.1

b. 羊 (体重 35.7~51.4 kg、雌雄各 2 頭/群) を用いたクロサンテルの筋肉内投与 (5 mg/kg 体重) 又は経口投与 (10 mg/kg 体重) による残留試験が実施された。投与 14、28、42 及び 56 日後の各組織（肝臓、腎臓、筋肉及び脂肪）中のクロサンテル濃度を GC-ECD (検出限界 0.1 µg/g) により測定した。

結果を表 12 に示した。組織中のクロサンテル濃度は、概して経口及び筋肉内投与でほぼ同じで、両投与群ともに腎臓で最も高かった。（参照 5、6）

表 12 羊におけるクロサンテル経口又は筋肉内投与後の組織中のクロサンテル濃度 (µg/g)

投与方法 (投与量)	組織	投与後日数 (日)			
		14	28	42	56
経口 (10 mg/kg 体重)	肝臓	1.7	0.8	0.8	0.4
	腎臓	2.7	0.7	0.6	1.2
	筋肉	2.0	<0.4	<0.4	<0.3
	脂肪	2.6	0.7	0.5	0.9

筋肉内 (5 mg/kg 体重)	肝臓	0.9	0.7	0.3	<0.5
	腎臓	2.6	1.2	1.2	0.8
	筋肉	2.3	1.1	<0.5	NA
	脂肪	1.7	0.4	<0.4	<0.5

NA：分析せず

3. 遺伝毒性試験

クロサンテルの *in vitro* 及び *in vivo* の遺伝毒性試験結果を表 13 及び 14 にまとめた。
(参照 3)

表 13 *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> TA98、TA100、TA1530、 TA1535、TA1538	10～2,000 µg/plate (±S9 ^a)	陰性
	<i>S. typhimurium</i> TA97、TA98、TA100、 TA1535、TA1538	1～1,000 µg/plate (±S9 ^a)	陰性
細胞毒性試験	マウスリンフォーマ細胞 (L 5178Y)	0.3～500 µg/mL (±S9)	陽性 ^b
	チャイニーズハムスターV79 細胞	0.3～500 µg/mL	
	CHO 細胞	0.3～500 µg/mL	
DNA 修復試験	培養ラット肝細胞	0.3～100 µg/mL	陰性

a：ラット肝由来

b：3 試験系全てにおいて細胞毒性作用がみられた。S9mix 存在下で低下。

表 14 *in vivo* 試験

検査項目	試験対象	用量	結果
伴性劣性致死試験	<i>Drosophila melanogaster</i>	10～50 ppm	陰性
優性致死試験	雄マウス	10、40 及び 160 mg/kg 体重、 単回経口投与	陰性
	雌マウス	10、40 及び 160 mg/kg 体重、 単回経口投与	陰性

in vitro のほ乳類細胞を用いた細胞毒性試験では、細胞毒性が認められたが、細菌を用いた復帰突然変異試験、培養ラット肝細胞を用いた DNA 修復試験並びに *in vivo* の *Drosophila melanogaster* を用いた伴性劣性致死試験及びマウスを用いた優性致死試験の結果はいずれも陰性であった。

in vitro 及び *in vivo* において、ほ乳類に対する染色体異常誘発性を評価する試験は実施されていないが、提出された遺伝毒性結果及びクロサンテルの部分構造が直接 DNA に反応すると考えにくいことから、クロサンテルは生体にとって問題となる遺伝毒性は

示さないと考えられた。

4. 急性毒性試験

クロサンテルのマウス、ラット、牛及び羊における急性毒性試験の結果を表 15 に示した。

表 15 クロサンテル経口投与における LD₅₀ (mg/kg 体重)

動物種	投与方法	LD ₅₀ (mg/kg 体重)	
		雄	雌
マウス	経口	331	453
ラット	経口	342	262
牛	経口	> 40	
羊	経口	> 40	

ラット及びマウスにおける致死量の範囲で観察された肉眼的影響は、筋緊張低下、運動失調、下痢及び呼吸困難であった。牛及び羊では、毒性の臨床所見は、食欲不振、努力性呼吸、横臥、全身性脱力感及び視力減退又は消失で、投与約 1 週間後に現れた。致死量では死亡に先立って、食欲不振、筋緊張低下及び四肢麻痺がみられた。(参照 3)

5. 亜急性毒性試験

(1) 13 週間亜急性毒性試験 (ラット)

ラット (Wistar 系、雌雄各 10 匹/群) を用いたクロサンテルの混餌投与 [混餌濃度として 0、25、100 又は 400 ppm (0、2.5、10 又は 40 mg/kg 体重/日に相当)] による 13 週間亜急性毒性試験が実施された。

本試験において認められた毒性所見を表 16 に示した。

死亡率、臨床上の行動又は体重に投与による影響はみられなかった。

摂餌量は、25 及び 400 ppm 投与群の雌で軽度な減少がみられた。

血液学的検査及び血液生化学的検査では、400 ppm 投与群の雌雄に赤血球数 (RBC) の軽度な減少、同投与群の雄にリンパ球数の軽度な増加がみられた。しかし、400 ppm 投与群の雄及び 100 ppm 以上投与群の雌に血糖値の軽度な上昇が、400 ppm 投与群の雄に総ビリルビン (T.Bil) の上昇がみられた。(参照 3)

細隙灯顕微鏡検査では、眼に異常はみられなかった。(参照 8)

臓器重量については、対照群と投与群との間で全般的に同程度であった。全投与群の雄に心臓の重量の減少及び雌に肺の相対重量の増加が認められたが、記録された値は背景の対照値の範囲内であった。400 ppm 投与群の雄に精巢の絶対重量の増加が認められた。

剖検では、精巢上体の嚢胞性拡張が 25 ppm 投与群の 1 例、100 ppm 投与群の 2 例及び 400 ppm 投与群の 7 例に認められ、これらは投与及び用量に関連しているとみなされた。

病理組織学的検査では、100 ppm 投与群の 1 例及び 400 ppm 投与群の雄 8 例に、精

巢上体の精子肉芽腫、浮腫及び線維症がみられた。また、400 ppm 投与群の雄の肝臓の一部に小葉中心性脂肪沈着がみられた。同様のタイプの沈着が、100 ppm 投与群の雄 2 例及び 25 ppm 投与群の 1 例にみられた。(参照 3) 両群の脂肪沈着はごく軽度であり、明らかにびまん性に広がっているものではなく、正常範囲の変化であると考えられた。これらの脂肪沈着は雌にはみられなかった。(参照 8)

JECFA は本試験における最大無作用量 (NOEL) を 25 ppm と設定した。(参照 3)

食品安全委員会動物用医薬品専門調査会は、100 ppm 以下投与群でみられた肝小葉中心性脂肪沈着は有意差が認められないことから毒性とはみなさなかつた。また、25 ppm 投与群の雄にみられた精巢上体の嚢胞性拡張は、組織学的病理所見を伴わなかつたことから毒性とはみなさなかつた。したがって、100 ppm 以上投与群の雄に精巢上体の嚢胞性拡張、精子肉芽腫等、雌に血糖値の上昇がみられたことから、本試験の無毒性量 (NOAEL) を雌雄とも 25 ppm (2.5 mg/kg 体重/日に相当) と設定した。

表 16 ラットを用いた 13 週間亜急性毒性試験における毒性所見

混餌濃度 (ppm)	雄	雌
400	<ul style="list-style-type: none"> ・ RBC 減少、リンパ球数増加 ・ 血糖値及び T.Bil 上昇 ・ 精巢の絶対重量の増加 ・ 精巢上体の嚢胞性拡張(7) ・ 精巢上体の精子肉芽腫、浮腫及び線維症(8) ・ 肝小葉中心性脂肪沈着(例数不明) 	<ul style="list-style-type: none"> ・ RBC 減少
100 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・ 精巢上体の嚢胞性拡張(2) ・ 精巢上体の精子肉芽腫、浮腫及び線維症(1) ・ 肝小葉中心性脂肪沈着(2) 	<ul style="list-style-type: none"> ・ 血糖値上昇
25	毒性所見なし	毒性所見なし

() 内は例数

(2) 3 か月間亜急性毒性試験 (イヌ)

イヌ (ビーグル種、雌雄各 3 匹/群) を用いたクロサンテル製剤 (粉剤) のゼラチンカプセル経口投与 (0、2.5、10 又は 40 mg/kg 体重/日) による 3 か月間亜急性毒性試験が実施された。

認められた毒性所見を表 17 に示した。

死亡率、臨床上的行動、体重、眼科検査、心拍数、心電図及び血圧値に投与による影響はみられなかつた。

血液学的検査及び血液生化学的検査の各項目は、背景の値の範囲内であったが、投与 13 週に 40 mg/kg 体重/日投与群において、凝固時間の短縮が認められた。また、投与 13 週に 10 mg/kg 体重/日以上投与群において、T.Bil の軽度な上昇が認められた。投与 8 週及び 13 週には、40 mg/kg 体重/日投与群において、血清 AST の軽微な増加が認められた。

尿検査、臓器重量及び剖検では、投与による影響はみられなかつた。(参照 3)

病理組織学的検査では、投与による影響は認められなかつた。(参照 8)

JECFA は本試験における NOEL を 2.5 mg/kg 体重/日と設定した。(参照 3)

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、10 mg/kg 体重/日以上投与群の雌雄で T.Bil の上昇がみられたことから、NOAEL を 2.5 mg/kg 体重/日と設定した。

表 17 イヌを用いた 3 か月間亜急性毒性試験における毒性所見

投与量 (mg/kg 体重/日)	雌雄
40	・血液凝固時間の短縮 ・AST の軽度な増加
10 以上	・T.Bil 上昇
2.5	毒性所見なし

(3) 亜急性毒性試験 (羊) <参考資料⁴>

羊 (サフォーク種、雌雄各 3 頭/群) を用いたクロサンテル (10 倍量) の経口投与 (0、10 又は 40 mg/kg 体重) 又は筋肉内投与 (5 又は 20 mg/kg 体重) による反復投与試験が実施された。投与は 4 週間隔で 10 回行われた。試験動物は、最終投与から 1 日並びに 4、8、12 及び 16 週後に安楽死処置した。これらについては病変部の可逆性を調べ、また、様々な臓器中のクロサンテルの残留濃度を測定した。

4 例が腎臓病で死亡した。クロサンテルは、死亡率に影響しなかった。40 mg/kg 体重の経口投与群で、一過性の流涎及び下痢が観察された。20 mg/kg 体重の筋肉内投与群で、体重増加の軽度減少が認められた。

血液学的パラメーターについては投与による影響はみられなかった。

血液生化学的検査では数例に用量依存性のない僅かな変動がみられた。

剖検では、20 mg/kg 体重の筋肉内投与群の 2 例の投与部位に反応がみられた。

病理組織学的検査では、筋肉内両投与群の投与部位に炎症が確認された。20 mg/kg 体重の筋肉内投与群の 2 例及び 40 mg/kg 体重の経口投与群の 2 例において、精巢の精上皮に不規則な変性が認められた。(参照 3)

6. 慢性毒性及び発がん性試験

慢性毒性試験は実施されていない。

(1) 18 か月間発がん性試験 (マウス)

マウス (albino Swiss 系、雌雄各 50 匹/群) を用いたクロサンテルの混餌投与 [混餌濃度として 0、25、100 又は 400 ppm (0、5、20 又は 80 mg/kg 体重/日に相当)] による 18 か月間発がん性試験が実施された。

投与群の雌雄ともに、生存率又は死亡発生時期への有意な影響はみられなかった。一般状態、行動及び外観又は剖検並びに腫瘍発生頻度及び腫瘍のタイプに対する用量依存

⁴ 家畜を用いた試験であることから、参考資料とした。なお、投与量は 1 回当たりと考えられるが、原文のとおり記載した。

的な影響は認められなかった。(参照 3)

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、投与の影響がみられなかったことから、NOAEL を最高用量の 80 mg/kg 体重/日と設定した。また、発がん性は認められなかった。

(2) 24 か月間発がん性試験 (ラット)

ラット (Wistar 系、雌雄各 50 匹/群) を用いたクロサンテルの混餌投与 [混餌濃度として 0、25、100 又は 400 ppm (0、2.5、10 又は 40 mg/kg 体重/日に相当)] による 24 か月間発がん性試験が実施された。

試験終了時における累積死亡率を表 18 に示した。この極めて高い死亡率は、本試験に用いられたラットの系統が、典型的に短い平均寿命をもつ系統であったことに関連している可能性があった。死亡率において、投与による用量依存性はみられなかった。雌では死亡率の軽度の増加が 400 ppm 投与群で認められたが、雄では最終的な死亡率に投与による影響はみられなかった。総死亡数は、雌雄ともに 25 及び 100 ppm 投与群では投与による影響はみられなかった。(参照 3)

認められた毒性所見 (非腫瘍性病変) を表 19 に示した。

400 ppm 投与群の雄における精巣の小型化及び軟化並びに精巣上体の嚢胞性拡張の発生率の有意な増加を除いて、観察された剖検所見は、群間で同等であった。(参照 8)

病理組織学的検査では、100 ppm 以上投与群の雄の精巣上体に精子肉芽腫がみられた。400 ppm 投与群の雌雄において、視神経の空胞化の増加が認められた。

全腫瘍発生率は、0、25、100 及び 400 ppm 投与群においてそれぞれ、雄で 40%、46%、58%及び 42%、雌で 84%、75%、64%及び 47%であった。100 ppm 以上投与群の雌において全腫瘍発生率の用量依存的な減少がみられた。100 ppm 投与群の雄にみられた下垂体腺腫発生率の増加は、この投与群の生存率が高く生存期間が長くなったことに関連する可能性が高いと考えられた。

100 ppm 投与群の雄において、造血器系腫瘍の発生率が有意に増加した。この増加は、この投与群だけでみられたこと、同一実験条件で同じ Wistar ラットを用いた他の 9 件の発がん性試験の背景対照データと比較すると、対照群の雄ラットにおける造血系腫瘍の発生率 (3/48 例) が異常に低かったことから、クロサンテルの投与に起因するものではないと考えられた。また、背景対照データとの比較に基づき、本試験の 25 及び 100 ppm 投与群の雄でみられた造血器系腫瘍の発生率は、Wistar ラットの背景データの範囲内であったが、対照群及び 400 ppm 投与群の雄では背景データの範囲内より有意に低かった。雌では異なる群間の様々な腫瘍タイプの分布は非常に類似していた。(参照 3、8)

JECFA は本試験における NOEL を 2.5 mg/kg 体重/日と設定した。(参照 3)

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、100 ppm 以上投与群の雄に精巣上体の精子肉芽腫の有意な増加が、400 ppm 投与群の雌に視神経の空胞化がみられたことから、NOAEL を雄で 25 ppm (2.5 mg/kg 体重/日に相当)、雌で 100 ppm (10 mg/kg 体重/日に相当) と設定した。また、発がん性は認められないと判断した。

表 18 ラットにおける 24 か月間発がん性試験における累積死亡数 (n/N)

混餌濃度 (ppm)	0	25	100	400
雄	46/50 (92%)	43/50 (86%)	38/50 (76%)	49/50 (98%)
雌	32/50 (64%)	37/50 (74%)	36/50 (72%)	42/50 (84%)

() 内は累積死亡率 (%)

表 19 ラットの 24 か月間発がん性試験における毒性所見 (非腫瘍性病変)

投与量 (ppm)	雄	雌
400	<ul style="list-style-type: none"> ・精巣の小型化及び軟化、精巣上体の嚢胞性拡張 ・精巣上体の精子肉芽腫 (30/50) ・視神経の空胞化 	・視神経の空胞化
100 以上	・精巣上体の精子肉芽腫 (7/50)	100 以下
25	毒性所見なし	毒性所見なし

() 内は例数

7. 生殖発生毒性試験

(1) 3 世代繁殖試験 (ラット) ①<参考資料⁵>

ラット (Wistar 系、雌雄各 20 匹/群) を用いたクロサンテルの強制経口投与 (0、2.5、10 又は 40 mg/kg 体重/月) による 3 世代繁殖試験が実施された。投与は各世代 2 回繁殖させた 3 世代に月 1 回行われた。親動物については、一般状態、妊娠中の母動物の体重増加及び摂餌量、雌雄の死亡及び肉眼的病理検査、交尾率、妊娠率並びに妊娠期間を、児動物については、同腹児数、出生時体重、3 週齢の体重及び生存率並びに異常の有無を調べた。また、精巣及び精巣上体については、病理組織学的検査を行った。

親動物では、40 mg/kg 体重/月投与群の F₁ 及び F₂ 世代で、2 回目の繁殖時に同腹児数の減少を伴った体重増加量の僅かな低下がみられた。摂餌量には投与による影響はみられなかった。雌雄の死亡率、交尾率及び妊娠期間に投与による影響はみられなかった。交尾率及び妊娠期間には各群に差はみられなかったが、40 mg/kg 体重/月投与群では妊娠率の低下傾向がみられた。

児動物では、40 mg/kg 体重/月投与群を除いて、同腹児数に悪影響は認められなかったが、40 mg/kg 体重/月投与群では、第 2 世代 (F_{1b}) 及び第 3 世代 (F_{2a} 及び F_{2b}) に着床数の僅かな減少がみられた。胚毒性作用は認められなかった。出生時及び 3 週齢の体重並びに 3 週齢の生存率に投与による影響はみられなかった。

病理組織学的検査では、ラットを用いた亜急性毒性試験及び発がん性試験 [II. 5. (1) 及び II. 6. (2)] で報告された精子肉芽腫が 10 mg/kg 体重/月投与群の 56 例中 1 例及び 40 mg/kg 体重/月投与群の 46 例中 14 例に確認された。

著者らは、本試験の NOEL を 2.5 mg/kg 体重/月と設定した。(参照 3)

JECFA は、40 mg/kg 体重/月投与群で妊娠率の低下及び着床数の減少がみられ、精子

⁵ 投与時期と交配時期の関連が不明であることから、参考資料とした。

肉芽腫が 10 mg/kg 体重/月以上投与群でみられたが、2.5 mg/kg 体重/月投与群ではみられなかったとしている。(参照 3)

(2) 生殖毒性試験 (ラット) ②

ラット (Wistar 系、雌雄各 20 匹/群) を用いたクロサンテルの混餌投与 [混餌濃度として 0、25、100 又は 400 ppm) による生殖毒性試験が実施された。雄に交配の少なくとも 60 日前から投与し、非投与の雌と交配させた。雌に交配の少なくとも 14 日前から投与し、非投与の雄と交配後の妊娠期間も投与を続けた。

親動物では、死亡例はみられなかった。400 ppm 投与群の雄と交配した非投与雌で体重増加量が低下した。摂餌量に投与による影響はみられなかった。400 ppm 投与群の雄と交配した非投与雌で妊娠率が低下した。

児動物では、400 ppm 投与群の雄と交配した非投与雌において、着床数及び同腹児数の減少がみられた。クロサンテルの投与に起因する奇形はみられなかった。(参照 3)

JECFA は、400 ppm 投与群の雄と交配した非投与雌で妊娠率の減少がみられたとしている。(参照 3)

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、400 ppm 投与群の雄と交配した非投与雌で妊娠率の低下並びに着床数及び同腹児数の減少が認められたことから、雄の生殖能に対する NOAEL を 100 ppm、雌の生殖能に対する NOAEL を最高用量の 400 ppm (40 mg/kg 体重/日に相当) と設定した。

(3) 生殖毒性試験 (牛及び羊、経口又は筋肉内投与) <参考資料⁶>

雄牛にクロサンテルを筋肉内投与 (約 2 mg/kg 体重を単回又は 5 mg/kg 体重を 8 週間隔で 3 回) したところ、精液は正常であった。(参照 3)

羊にクロサンテルを経口投与 (20 mg/kg 体重を 8 週間隔で 3 回) したところ、精液は正常であった。(参照 3)

羊にクロサンテルを経口投与 (15 mg/kg 体重を 3 又は 4 週間隔で 3 又は 5 回) したところ、精液は正常であり、精巣及び精巣上体は正常な構造を示した。(参照 3)

(4) 生殖毒性試験 (羊) <参考資料⁷>

羊 (雌 274 頭、10 群) の交配 11、17 又は 23 日後に、クロサンテルを単回経口投与 (0、20 又は 40 mg/kg 体重) し、生殖毒性試験が実施された。

卵巣周期又はその後の排卵、交配及び妊娠において、投与による影響は認められなかった。胎児毒性又は催奇形性は、臨床試験において報告されなかった。(参照 3)

⁶ 家畜を用いた試験であることから参考資料とした。なお、投与量は 1 回当たりと考えられるが、原文のとおり記載した。

⁷ 家畜を用いた試験であることから参考資料とした。

(5) 周産期・授乳期投与試験（ラット）

ラット（Wistar 系、雌）を用いたクロサンテルの混餌投与 [混餌濃度として 0、25、100 又は 400 ppm (0、2.5、10 又は 40 mg/kg 体重/日に相当)] による周産期・授乳期投与試験が実施された。投与期間は妊娠 16 日から分娩 3 週間までであった。

群間に差異はなく、投与に起因する影響は認められなかった。(参照 3)

本試験において、母動物及び児動物に投与による影響が認められなかったことから、NOAEL は最高用量である 400 ppm (40 mg/kg 体重/日に相当) と考えられた。

(6) 発生毒性試験（ラット）

妊娠ラット（Wistar 系）を用いたクロサンテルの混餌投与 [混餌濃度として 0、25、100 又は 400 ppm (0、2.5、10 又は 40 mg/kg 体重/日に相当)] による器官形成期投与試験が実施された。投与を妊娠 6～15 日に行い、母動物を交尾 22 日に安楽死処置した。

群間に差異はなく、投与に起因する影響は認められなかった。(参照 3)

JECFA は、本試験及びウサギを用いた発生毒性試験 [II. 7. (7)] では、最高用量の 40 mg/kg 体重/日まで投与しても、催奇形性作用及び毒性影響は認められず、ウサギの試験は妊娠 6～18 日に強制経口投与で実施されているが、本試験は妊娠 6～15 日の混餌投与で実施されているとしている。(参照 3)

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、母動物及び胎児に投与による影響が認められなかったことから、NOAEL は最高用量である 400 ppm (40 mg/kg 体重/日に相当) と設定した。催奇形性は認められなかった。

(7) 発生毒性試験（ウサギ）

ウサギ（NZW 種、19 匹/対照群及び 20 匹/投与群）を用いたクロサンテルの強制経口投与 (0、10 又は 40 mg/kg 体重/日) による器官形成期投与試験が実施された。投与を妊娠 6～18 日に行い、母動物を妊娠 28 日に安楽死処置した。

対照群の雌 1 例は、肺炎のため試験開始 2 日後に死亡した。群間において、体重、妊娠及び胎児毒性に差異はなく、投与による影響は認められなかった。

対照群の母動物 1 例由来の胎児 2 例に肋骨分岐がみられた。10 mg/kg 体重/日投与群では、異なる母動物 3 例由来の胎児 3 例に、左前肢の変形、肋骨分岐又は波状肋骨が認められた。40 mg/kg 体重/日投与群では、異なる母動物 2 例由来の胎児 2 例に、胸部骨の変形又は無頭蓋症が認められた。(参照 3)

JECFA は、ラットを用いた発生毒性試験 [II. 7. (6)] 及び本試験では、最高用量の 40 mg/kg 体重/日まで投与しても、催奇形性作用及び毒性影響は認められず、本試験は妊娠 6～18 日に強制経口投与で実施されているが、ラットの試験は妊娠 6～15 日の混餌投与で実施されているとしている。(参照 3)

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、母動物及び胎児に投与による影響が認められなかったことから、NOAEL は最高用量である 40 mg/kg 体重/日と設定した。催奇形性は認められなかった。

8. その他の知見

サリチルアニリドの作用機序は、二報の論文で概説されており、クロサンテルは、電子伝達系が関連したリン酸化の脱共役をもたらす水素イオノフォアであると述べられている。

人為的に肝蛭 (*F. hepatica*) に感染させた羊にクロサンテル (5 mg/kg 体重、対照群は未処置) を筋肉内投与した。投与 4、8、12 及び 24 時間後に安楽死処置し、肝臓から吸虫を回収した。肝蛭の吸収組織 (腸、胃腔上皮、外被及び実質細胞) のほとんどの共通の形態的变化は、ミトコンドリアに関係していた。

肝蛭 (ラット及び羊に寄生) を用いた *ex vivo* 及び *in vitro* の試験から、クロサンテルは、*in vitro* でラットの肝臓のミトコンドリアにおける電子伝達系のリン酸化を阻害することが示された。

肝蛭 (ラットに寄生) を用いた *ex vivo* 及び *in vitro* の試験から、クロサンテルは、*in vivo* ではラットの肝臓のミトコンドリアに影響を与えず、肝蛭のミトコンドリアにおけるリン酸化を阻害することが示された。

肝蛭 (ラットに寄生) を用いた *in vitro* の試験から、クロサンテルは、ラットの肝臓における電子伝達系の酸化的リン酸化の脱共役剤であり、肝蛭のミトコンドリアのリン酸化阻害剤であることが示された。(参照 3)

9. ヒトにおける知見

肝蛭 (*F. hepatica*) 症の患者 5 名にクロサンテルを単回経口投与 (2.5 mg/kg 体重)、及び患者 1 名に単回皮下投与 (2.5 mg/kg 体重) した。

経口投与された患者は全て薬物の苦味を訴え、そのうち 1 名は吐き気を呈して嘔吐した。その患者には砂糖を加えてその用量を再投与したところ、忍容性は良好であった。

皮下投与後では、頻脈、発汗、口中の金属味、排尿排便の誘発、皮膚の発赤、神経過敏、緊張、興奮及び苦痛の感覚が生じた。

血液検査 (Ht、WBC 及び差動的プロトロンビン時間)、生化学的検査 (ALP、血清 AST、血清 ALT、コレステロール及び血糖値) 及び尿検査 (投与前及び投与 7 日後の 2 回の検査) では、変化はみられなかった。(参照 3)

患者 14 名にクロサンテルを単回経口投与 (5 mg/kg 体重) した。忍容性は良好であったが、ズビニ鉤虫に対する作用は低かった。(参照 3)

患者 13 名にクロサンテルを単回投与 (投与経路不明、6 名に 5 mg/kg 体重、3 名に 7.5 mg/kg 体重、4 名に 10 mg/kg 体重) した。

全ての投与患者で、下痢、眠気、視力障害等の副作用が観察された。(参照 3)

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 は、ラットを用いた毒性試験の NOEL 2.5 mg/kg 体重/日に安全係数 100 を適用して、クロサンテルの ADI を 0~0.03 mg/kg 体重/日と設定した。(参照 3)

(2) EMA (EMEA) における評価

EMEA の動物用医薬品委員会 (CVMP) は 1996 年にクロサンテルを評価しており、ラットにおける NOEL 2.5 mg/kg 体重/日に、安全係数 100 を適用して、ADI を 0.03 mg/kg 体重/日とする JECFA の評価を追認した。CVMP は 2011 年に牛及び羊の乳への残留基準を設定する際に、この ADI の設定に係る更なる評価は不要としている。(参照 7、9)

(3) 日本における評価

日本では、クロサンテルは 1995 年に厚生省 (畜水産食品中に残留する動物用医薬品の基準値設定に関する食品衛生調査会乳肉水産食品・毒性合同部会) において評価されている。

クロサンテルの毒性試験における最も小さい指標は、Wistar ラットを用いた 24 か月間の発がん性試験の NOEL の 2.5 mg/kg 体重/日であり、安全係数 100 で除して ADI を 25 µg/kg 体重/日と設定している。(参照 10)

2. 食品健康影響評価について

各種遺伝毒性試験により、クロサンテルは生体にとって問題となる遺伝毒性は示さないと考えられた。マウス及びラットを用いた発がん性試験において、発がん性は認められなかったことから、クロサンテルは遺伝毒性発がん物質ではないと考えられ、ADI を設定することが可能であると判断した。

クロサンテルの各種毒性試験において最も低い用量で認められた影響は、ラットを用いた 13 週間亜急性毒性試験における血糖値の軽度の上昇及び精巣上体の精子肉芽腫の発生頻度の増加並びに 24 か月間発がん性試験における精巣上体の精子肉芽腫の発生頻度の増加並びにイヌを用いた 3 か月間亜急性毒性試験における T.Bil の上昇であり、NOAEL はいずれも 2.5 mg/kg 体重/日であった。

クロサンテルの ADI の設定に当たっては、この NOAEL に安全係数 100 (種差 10 及び個体差 10) を適用し、0.025 mg/kg 体重/日と設定することが適当であると考えられた。

以上より、クロサンテルの食品健康影響評価については、ADI として次の値を採用することが適当と考えられる。

クロサンテル 0.025 mg/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 20 JECFA 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)
マウス	18 か月間 発がん性	0、25、100、400 ppm (約 0、5、20、80)、混餌投与	— 発がん性なし
ラット	13 週間亜 急性毒性	0、25、100、400 ppm (0、 2.5、10、40)、混餌投与	2.5 精巣上体の嚢胞性拡張及び精子肉芽腫、血糖 値の軽度の増加等
	24 か月間 発がん性	0、25、100、400 ppm (0、 2.5、10、40)、混餌投与	2.5 精巣上体の精子肉芽腫の増加 発がん性なし
	生殖毒性	0、2.5、10、40 mg/kg 体重 /月、強制経口投与	2.5 妊娠率及び着床率の低下、精子肉芽腫
	生殖毒性	0、25、100、400 ppm、混 餌投与 (雄：交配 60 日前 ～、雌：交配 14 日前～妊 娠期間中)	— 40：投与群の雄と交配させた非投与雌の妊娠 率減少
	発生毒性	0、25、100、400 ppm (0、 2.5、10、40)、混餌投与 (妊 娠 6～15 日)	— 催奇形性なし
	周産期・授 乳期投与	0、25、100、400 ppm (0、 2.5、10、40)、混餌投与 (妊 娠 16 日～哺乳 3 週間)	— 投与に起因する影響なし
ウサギ	発生毒性	0、10、40、強制経口投与 (妊娠 6～18 日)	— 催奇形性及び胎児毒性作用なし
イヌ	3 か月間亜 急性毒性	0、2.5、10、40、経口投与	2.5 T.Bil の軽度の上昇
羊	反復投与	0、10、40、経口投与/5、 20、筋肉内投与、投与は 4 週間隔で 10 回実施。	— 催奇形性及び胎児毒性なし
	生殖毒性	0、20、40、経口投与 (交 配 11、17 又は 23 日後)	— 影響なし
ADI 設定根拠			NOEL : 2.5 mg/kg 体重/日 SF : 100
ADI 設定根拠資料			ラットを用いた毒性試験
ADI			0～0.03 mg/kg 体重/日

— : JECFA では明確に NOEL を設定していない。

〈別紙：検査値等略称〉

略称等	名称
ADI	一日摂取許容量
ALP	アルカリホスファターゼ
ALT	アラニンアミノトランスフェラーゼ
AST	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
AUC	薬物濃度曲線下面積
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
EMA (EMEA)	欧州医薬品庁（欧州医薬品審査庁）
GC-ECD	電子捕獲検出器付きガスクロマトグラフィー
HPLC	高速液体クロマトグラフィー
Ht	ヘマトクリット値
JECFA	FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議
LD ₅₀	半数致死量
LSC	液体シンチレーション計測法
NOAEL	無毒性量
NOEL	最大無作用量
radio-HPLC	ラジオ・高速液体クロマトグラフィー
RBC	赤血球数
T.Bil	総ビリルビン
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. The Merck Index, 15th Ed. 2013
3. JECFA: Closantel. Toxicological evaluation of certain veterinary drug residues in food. WHO Food Additives Series, No. 27, 1991, nos 695 on INCHEM.
4. ブラッド獣医学辞典, 文永堂出版, 1998 年
5. JECFA: “Closantel”. Residues of some veterinary drugs in foods and animals, 41/5. 1992.
6. JECFA: “Closantel”. Residues of some veterinary drugs in foods and animals, 41/3. 1990.
7. EMA: “Closantel”. European public MRL assessment report, 2012.
8. 日本イーライリリー株式会社. クロサンテルの残留基準の設定に関する追加資料, 2013 年（非公表）
9. EMEA: “CLOSANTEL”. Committee for Veterinary Medicinal Products, Summary Report, 1996.
10. 厚生省. 「畜水産食品中に残留する動物用医薬品の基準値設定に関する分科会審議概要」