

NOAEL/LOAEL が低い試験  
(いずれもホルモン作用試験)

(1) 黄体ホルモン様作用 (ウサギ) 1968 年、ドイツ語

ウサギ (幼若雌、10 匹/群、体重: 1,500 g) にエストロン (5 µg/匹) を 6 日間筋肉内投与後、CMA を 5 日間強制経口投与 (0、10、20、30 µg/L 乳を 200 mL/日: 0、0.00133、0.00266、0.004 mg/kg 体重/日相当) した。最終投与翌日に両子宮角について組織学的検査を実施した。

10 µg/L 以上の投与群の各 5~6 例で明瞭に子宮内膜増殖がみられたが、対照群では全例でみられなかった。CMA 濃度が 5、8 µg/L (0.000666、0.00106 mg/kg 体重/日相当) の場合は有意な反応はみられなかった。

食品安全委員会動物用医薬品専門調査会は、〇〇mg/kg 体重/日以上で〇〇がみられたことから、NO(A)EL/LO(A)EL を〇〇mg/kg 体重/日と設定した。  
(参照 X)

※下線部について、5 又は 8 µg/L の投与量は、結果には記載があるがメソッドに記載がないため、評価書に記載可能か検討が必要。

【寺岡専門委員】

- CMA の経口投与量は事務局案が正しいと思います。0.0013 mg/kg/day
- 私は DeepL と ChatGTP-5 でドイツ語文を日本語に直してみましたが、原案 (机上配布資料 3) と実質的に同じ内容でした。AI 翻訳の精度は上がっているように思います。
- 参考資料 2 の p2 の 3 (1) について: ホルモン製剤なのでホルモン作用が最も低濃度で現れる可能性が高いはずですが。しかし、提案されている ADI と解釈が異なる可能性、実験方法の記述不足など、留意する必要があります。そもそも、(根拠と思われる) ドイツ語の原著論文にはウサギの系統や月齢が明期されていません。以前、「ラットやマウスの系統や週齢が不明の試験は参考試験。POD の根拠にはならない。」として、ADI を評価しない試験がありました (2021 年 オルトジクロロベンゼン)。ウサギではどうでしたでしょうか? また、図 7 とその説明の限りでは 10 µg/L (1.5 kg ウサギ) で影響があります。EMEA はこの値をもとに NOEL が 0.007 mg/kg/体重/日としている可能性があります。LOEL ではないでしょうか? それ以下の CMA (5 or 8 µg/L) が NOEL/NOAEL にあたると思います。しかし、その前にこの論文を採用するか、参考資料とするか討議する必要があります。
- (この試験を参考資料にしなかった場合) 食品安全委員会動物用医薬品専門調

1 査会は、0.00133 mg/kg 体重/日以上で子宮内膜の増殖がみられたことから、  
2 LOAEL を 0.0013 mg/kg 体重/日と設定した。

#### 3 4 【熊本専門委員】

5 少なくとも「評価資料」とすることは厳しいと思われる。エンドポイントが組織  
6 学的に観察した子宮内膜のスコアであるが、サンプルサイズに対する差異が示  
7 されず、統計解析も不十分である。子宮重量も（測定されているようだが）示さ  
8 れていない。また、ステロイドホルモンにおいては僅かな構造の違いで作用が大  
9 大きく変わるが、CMA および事前投与された estrone と純度等に関する記載が  
10 なく、質保証が十分ではない（P3 中央に CAP = chlormadinone acetate, from  
11 Syntex とのみ記載）。

#### 12 13 【小川専門委員】

14 内容を適切に判断できるのであれば、ドイツ語文献であることを理由に削除に  
15 はできないと考えます。しかし、5、8 µg/L については追加の試験とありますが、  
16 詳細不明瞭です。

17 0.00133 mg/kg を LOAEL とすることも検討可能と思いますが、系統等を含め  
18 詳細が不明瞭であることから、参考資料としてはどうかと思います。

#### 19 20 【齋藤専門委員】

21 方法と結果の記述について整合性が取れないことから、参考資料になると思  
22 います。

#### 23 24 【事務局】

25 ウサギの場合でもマウスやラットと同様に、系統や週齢が不明の場合、参考資料  
26 とした例もあります（2023 年 フェノキシエタノール）。また、ラットにおいて  
27 系統不明であっても参考資料としなかった例もあります（2020 年 酢酸トレン  
28 ボロン）。この点も踏まえ、ご検討ください。

#### 29 30 （2）プロゲステロン様活性検討（ウサギ）2009 年

31 ウサギ（NZW 系、試験開始時体重：1 kg、雌 6 匹/群）に、β エストラジオ  
32 ールを 6 日間反復皮下投与（0.005 mg/kg 体重/日）して発情周期を同期後、  
33 CMA、代謝物 A（3β-OH CMA）又は代謝物 B（3α-OH CMA）を 5 日間反復  
34 経口投与（それぞれ 0（溶媒）、0.005 又は 0.045 mg/kg 体重/日、溶媒：コー  
35 ン油）した。最終投与終了後、剖検して摘出した子宮の重量測定及び組織学的  
36 評価（子宮内膜の増殖程度を 0～2 の 3 段階でスコア化）を実施した。

1 結果を表に示した。

2 全ての投与群で、顕著な分泌像を伴った子宮腺の増加 (**an increase in the**  
3 **number of endometrial glands with a marked secretory pattern**) を特徴とし  
4 た子宮内膜過形成を示し、子宮内膜上皮の乳頭状変化もみられた。子宮内膜増  
5 殖スコアは、各投与群において用量依存的な増加がみられた。子宮相対重量は、  
6 対照群と比較して各高用量群において統計学的に有意な高値がみられた。本試  
7 験では、各化合物のプロゲステロン様活性に実質的な差はみられなかった。

8 食品安全委員会動物用医薬品専門調査会は、〇〇mg/kg 体重/日以上で〇〇  
9 がみられたことから、NO(A)EL/LO(A)EL を〇〇mg/kg 体重/日と設定した。  
10 (参照 43)

11  
12 表 ウサギを用いたエストラジオール前投与後の CMA 及び代謝物の  
13 経口投与による子宮重量及び子宮内膜変化

群	投与量 (mg/kg 体重/日)	子宮	
		内膜増殖スコア <sup>a</sup>	相対重量 (g/kg 体重) <sup>b</sup>
対照	0	0.33	1.09 ± 0.36
CMA	0.005	1.42	1.72 ± 0.52
	0.045	1.92	2.67 ± 0.54*
代謝物 B 3α-OH-CMA	0.005	1.0	1.83 ± 0.43
	0.045	2.0	2.44 ± 0.97*
代謝物 A 3β-OH-CMA	0.005	1.33	1.93 ± 0.46
	0.045	1.75	2.48 ± 0.57*

14 a : 中央値

15 b : 6 匹の平均 ± 標準偏差

16 \* : p < 0.05 vs. 対照群

17  
18 【寺岡専門委員】

19 食品安全委員会動物用医薬品専門調査会は、0.045 mg/kg 体重/日以上で子宮相  
20 対重量の増加がみられたことから、NOAEL を 0.005 mg/kg 体重/日と設定し  
21 た。

22 スコアは偏差の情報がないので、判断できないと考えました。

23  
24 【熊本専門委員】

25 子宮のスコア化が 0,1,2 の 3 段階と粗いが (p75 右中央)、サンプルサイズに対  
26 する差異が示され、test compounds に関する記載もあり (p76 左中央)、評価可  
27 能であるとする。

## 【小川専門委員】

0.005 mg/kg 体重/日以上で用量依存的な子宮内膜増殖が見られたことから、LOAELを0.005 mg/kg 体重/日とすることを提案します。EUの評価(2000年)の後である2009年に企業から出された新しいデータであり、採用可能と考えます。

## 【齋藤専門委員】

評価資料としても差し支えないかと思えます。

## (3) 黄体ホルモン様作用 (ウサギ) 1965年

幼若ウサギ(系統不明、体重:0.8~1.2 kg、雌7匹/群)に、エストラジオール17βを6日間反復皮下投与(0.005 mg/匹、溶媒:ゴマ油)後、CMAを5日間皮下(総投与量:0.02又は0.08 mg/匹)又は経口投与(総投与量:0(溶媒)、0.01又は0.04 mg/匹(0.002又は0.008 mg/kg 体重/日相当)、溶媒:0.9%NaCl /0.5%CMC/0.4%ポリソルベート 80 /0.9%ベンジルアルコール 水溶液)した。同様に对照として、プロゲステロンを皮下投与(総投与量:0.5又は2.0 mg/匹)又はノルエチステロンを5日間経口投与(総投与量:0.5又は2.0 mg/匹)した。最終投与の翌日に剖検し、子宮を摘出して子宮内膜のCarbonic esterase活性を測定した。

結果を表に示した。

CMAは黄体ホルモン用作用を有し、経口投与ではノルエチステロンの38.5倍、皮下投与ではプロゲステロンの32.4倍の相対力価を示した。

食品安全委員会動物用医薬品専門調査会は、経口投与では〇〇mg/kg 体重/日以上で〇〇がみられたことから、NO(A)EL/LO(A)ELを〇〇mg/kg 体重/日と設定した。(参照44\_1.)

表 ウサギを用いたエストラジオール前投与後のCMA投与における子宮内膜のCarbonic esterase活性

	群	投与量 (mg/kg 体重/日)	供 試 数	Carbonic esterase 活性 *	相対力価
皮下 投与	溶媒対照	-	20	44.6 ± 4.2	CMA/プロゲ ステロン = 32.4
	プロゲステロン	0.1	20	92.0 ± 9.6	
		0.4	20	265.8 ± 15.5	
	CMA	0.004	7	108.6 ± 8.9	
0.016		6	321.5 ± 21.1		
経口	溶媒対照	-	7	60.0 ± 6.5	CMA/ノルエ

投与	ノルエチステロ ン	0.1	7	115.4 ± 7.5	チルステロン = 38.5
		0.4	7	223.5 ± 36.5	
	CMA	0.002	7	91.0 ± 6.7	
		0.008	7	207.3 ± 12.1	

\* : 平均±標準誤差

### 【事務局】

ウサギの体重が 0.8~1.2 kg のため、1.0 kg として体重当たりの投与量を計算しました。

### 【寺岡専門委員】

食品安全委員会動物用医薬品専門調査会は、経口投与では 0.002 mg/kg 体重/日以上で Carbonic esterase 活性の上昇がみられたことから、LOAEL を 0.002 mg/kg 体重/日と設定した。

資料からは CMA の経口投与による Carbonic esterase 活性の増加が有意であるかどうかわかりません。しかし、2 集団それぞれの平均値、標準誤差、例数がわかっているならば、t 検定を行うことは可能なようです (<https://bellcurve.jp/statistics/course/9446.html>)。GraphPad のサイト (<https://www.graphpad.com/quickcalcs/ttest1/?format=sem>) で t 検定、welch 検定も計算できました。0.002 mg/kg 体重/日 投与の場合、溶媒対照に比べて、 $p=0.0061$  (t 検定)、 $0.0068$  (Welch 検定) でした。念のために確認したのですが、このサイトで算出した p 値と統計の本の例題の値は一致していました。分散分析についてはわかりませんが、t 検定、Welch 検定とも  $p < 0.05$  でしたので、有意な影響と考えてよいと思います。

### 【小川専門委員】

0.002mg/kg 体重/日 以上で子宮内膜の carbonic esterase 活性の増加がみられ、経口暴露においてプロゲステロン作用が強いことが示されていますが、毒性の指標とすることが可能か、これまでの評価方法と合わせて、議論が必要と考えます。(参考資料に留める方がよいと思われます)

### 【齋藤専門委員】

Carbonic esterase 活性について有意差検定に関するデータがないことから、参考資料になると思います。

### 【事務局】

1 動薬評価書において、毒性試験の項目に **Carbonic esterase** やカルボキシルエス  
2 テラーゼについて記載している例はありませんでした。なお、農薬評価書フェニ  
3 トロチオン（2017年）では、30日間亜急性毒性試験（ラット、参考資料）にお  
4 いて腎カルボキシルエステラーゼ低下及び肝カルボキシルエステラーゼ低下に  
5 ついて記載があり、毒性所見とはしておりませんでした（一般的なプロトコール  
6 と異なること及び雄のみの試験であることから参考資料とされた）。

7  
8 **【事務局】（追加）**

9 事務局より、（1）～（3）のホルモン作用試験を評価資料とするか参考資料と  
10 するか、参考資料とする場合はその理由についてもご意見いただきたいとお伺  
11 いしておりました。

12 それに加えて、（1）～（3）の試験でみられる所見が薬理作用の範疇と言える  
13 か、又は毒性と考えられるか、ご検討をお願いいたします。

14  
15 <参考：評価指針等>

16 「動物用医薬品に関する食品健康影響評価指針」の第3の3には、「動物用医薬  
17 品は、何らかの薬効を期待して使用するものであることから、動物に対して生物  
18 学的な影響を及ぼすことは当然起こり得る。したがって、危害要因判定はNOEL  
19 ではなくNOAELで判断することを基本とする。」とあります。

20 また、「残留農薬の食品健康影響評価における毒性試験での有害影響の判断に関  
21 する考え方」（令和3年2月22日農薬第一専門調査会決定）の2.4（1）で  
22 は、「肝肥大以外にも、機能的に有益な影響と判断される変化や、ストレスによ  
23 る二次的な変化、薬理学的変動等についても有害影響との区別が必要な場合が  
24 ある。」とされています。

25  
26 <参考：過去のホルモン剤の評価事例>

27 ・プレドニゾロン（2016年）

28 ホルモン作用のNOELは0.02 mg/kg 体重/日（チロシンアミノトランスフェラ  
29 ーゼ（TAT）活性上昇）であったが、「TAT活性はプレドニゾロン等のグルココ  
30 ルチコイドに反応して上昇するが一時的なものであり、毒性所見との関連性が  
31 明確でないため、TAT活性からADIを求めることは適切ではない」とし、結論  
32 としては発がん性試験における副腎皮質萎縮及び変性に基づくLOAEL 0.25  
33 mg/kg 体重/日をPODとしてADIを設定した。（安全係数は10追加）

34  
35 ・酢酸メレンゲステロール（2017年）

36 ホルモン作用（サルの月経周期変化）のLOAELをPODとしてADIを設定し

1 た。(安全係数は2追加 (NOAELに近いLOAEL))

2  
3 ・酢酸トレンボロン (2020年)

4 ホルモン作用(豚の血中ホルモン濃度等への影響)のNOAELをPODとして  
5 ADIを設定した。

6  
7 ・ゼラノール (2020年)

8 「エストロゲン様作用に基づく悪影響を指標として、これらの影響が認められ  
9 なかった用量を基にADIを設定することが適切であると判断した」として、  
10 慢性毒性発がん性試験での子宮腔の拡張のNOAELをPODとしてADIを設定  
11 した。

12  
13  
14 <参照>

15 43. Schneider J., Kneip C., Jahnel U. Comparative Effects of Chlormadinone  
16 Acetate and Its 3 $\alpha$ - and 3 $\beta$ -Hydroxy Metabolites on Progesterone,  
17 Androgen and Glucocorticoid Receptors. Pharmacology 2009; Vol. 84: 74-  
18 81

19 44. 三宅 有、小林文彦、堀部喜久蔵、糸賀鋭治、嘉久志寿人、野村泰治、門脇  
20 真澄、小田口州宏、原勝己、古川隆善、井手誠：Chlormadinone acetateの  
21 生物学的活性（I）諸種ホルモン活性に関する解析。日本内分泌学会雑誌。  
22 1965年；Vol.41(9): 1079-1093

23 X. Karg H. and Schams D. Beitrag zur Methodik der Rückstandsbestimmung von  
24 Gestagenen in der Milch, Milchwissenschaft, 1968年；Vol.23, 410-414

25