

No.2 アルトレノゲスト

ポジティブリスト制度施行に伴う
暫定基準の設定された農薬、動物用医薬品
及び飼料添加物に係る食品健康影響評価
に関する調査

調査報告書

平成25年1月

(株) 東レリサーチセンター

目 次

ページ

1. 調査の概要	1
2. 作業内容	1
2. 1 専門家の選定等	1
2. 2 翻訳	2
2. 3 評価書の情報の整理	3
3. 調査期間	3
4. 調査結果	3

1. 調査の概要

ポジティブリスト制度導入に伴い、食品安全委員会において、海外のリスク評価機関等で実施された評価結果を活用し、順次食品健康影響評価が行われている。

国際的な評価機関である FAO/WHO 合同残留農薬専門家会議（以下「JMPR」という。）及び FAO/WHO 合同添加物専門家会議（以下「JECFA」という。）と最新の評価を行っている欧州食品安全機関（以下「EFSA」という。）、欧州医薬品庁（以下「EMA」という。）の評価書が我が国での評価を行う上で有益性が高いため、今後、評価を行うべき農薬、動物用医薬品及び飼料添加物（以下「農薬等」という。）のうち、JMPR、JECFA、EFSA 及び EMA の評価結果を有しているものについて、それぞれの評価書の翻訳を行うとともに必要な情報を整理し、評価書ごとに毒性試験とその結果の概要を一覧表に取りまとめた。

2. 作業内容

ポジティブリスト制度導入に伴い暫定基準が設定された農薬等のうち、平成24年度に要請される予定の物質のうち表1に示す物質を調査対象とし、EMAにおける評価書の翻訳を行うとともに、必要な情報の整理を行った。

表 1 調査対象の農薬等

No.	物質名	用途
2	アルトレノゲスト	動物薬・ホルモン剤

2. 1 専門家の選定等

本調査では、5分野（①動物代謝、②植物代謝及び環境中運命（土壌中、水中、土壌残留）、③毒性（一般毒性、病理、発がん性）、④生殖発生毒性、⑤遺伝毒性）の専門家に、翻訳確認のご協力を頂いた。専門家一覧を表2に示した（五十音順）。

専門家の選定は、食品安全委員会事務局担当官殿の了解のもとに実施した。

表 2 専門家一覧

分野	氏名	所属※
② 植物代謝及び環境運命	上路 雅子	日本植物防疫協会 顧問
① 動物代謝、③ 毒性	宇佐見 誠	国立医薬品食品衛生研究所 安全性生物試験研究センター 薬理部 第4室長
④ 生殖発生毒性	江馬 眞	(独)産業技術総合研究所 安全科学研究部門 招聘研究員
① 動物代謝	黒瀬 陽平	北里大学獣医学部 准教授
③ 毒性	三枝 順三	(独)科学技術振興機構 技術参事

⑤ 遺伝毒性	下位 香代子	静岡県立大学 環境科学研究所 教授
① 動物代謝	須藤 まどか	(独)農業・食品産業技術総合研究機構 畜産草地研究所 栄養素代謝研究チーム長
③ 毒性	高木 篤也	国立医薬品食品衛生研究所 毒性部 室長
④ 生殖発生毒性	高橋 研	(財)残留農薬研究所 毒性部 生殖毒性研究室 主任
② 植物代謝及び 環境運命 ③ 毒性	中田 晴彦	熊本大学大学院 自然科学研究科 准教授
⑤ 遺伝毒性	松元 郷六	(財)残留農薬研究所 毒性部副部長 兼 遺伝毒性研究室長
② 植物代謝及び 環境運命	與語 靖洋	(独)農業環境技術研究所 有機化学物質研究領域 研究コーディネータ

(※平成 25 年 1 月現在)

2. 2 翻訳

EMA における評価書の必要部分を原文に忠実に翻訳を行った。調査対象の評価書を表 3 に示した。

翻訳に際しては「食品の安全性に関する用語集（食品安全委員会第 4 版）」等を用いて翻訳し、原文に記載の略称等は英語での正式名称、日本語訳をまとめた表を作成した。

2. 1 に示した専門家には、専門分野に係る試験方法、試験結果等（数値及び単位を含む。）の専門的な表現、記述等について翻訳文の確認を依頼した。

表 3 調査対象の評価書

番号	物質名	評価書タイトル	文書番号 (物質名_発行機関_通し番号)
2	アルトレノゲスト	Altrenogest: Summary Report (1) - Committee for Veterinary Medicinal Products	アルトレノゲスト _EMA_01
		Altrenogest: Summary Report (2) - Committee for Veterinary Medicinal Products	アルトレノゲスト _EMA_02
		Altrenogest: Summary Report (3) - Committee for Veterinary Medicinal Products	アルトレノゲスト _EMA_03
		Altrenogest (equidae and porcine species): European Public MRL Assessment Report (EPMAR) - Committee for Medicinal Products for Veterinary Use	アルトレノゲスト _EMA_04

2. 3 評価書の情報の整理

EMA における評価書の次の①～③の項目について情報の整理を行った。

- ① EMA の評価書について、評価書ごとに見出しを整理し、原文の目次を作成。
- ② 翻訳の見出し部分に原文の該当ページを記載。
- ③ 評価書ごとに毒性試験とその結果の概要を一覧表に取りまとめ。該当する試験がない場合はその旨を記載。

3. 調査期間

平成 24 年 6 月 19 日～平成 25 年 1 月 31 日

4. 調査結果

表 1 に示した物質における評価書（表 3）について「毒性試験とその結果の概要一覧」および「評価書の翻訳文」（以下、「和訳版」）を作成した。その結果を物質ごとに整理して、調査報告書にまとめた。

以上

添 付 資 料

評価書 (受領文書番号) : 4 報

- アルトレノゲスト _EMA_01
- アルトレノゲスト _EMA_02
- アルトレノゲスト _EMA_03
- アルトレノゲスト _EMA_04

アルトゲノレストの毒性試験と結果の概要一覧

(評価書 : EMA, COMMITTEE FOR VETERINARY MEDICINAL PRODUCTS ALTRENOGEST SUMMARY REPORT (1))

試験種類	供試動物等	投与量 (投与期間等)	結果	和訳版 (ページ)	原文 (ページ)
急性毒性 (腹腔)	ラット	—	LD ₅₀ =176 mg/kg bw	1	1
急性毒性 (腹腔)	マウス	—	LD ₅₀ =233 mg/kg bw	1	1
急性毒性 (経口)	イヌ	—	400 mg/kg bwまで許容	1	1
反復投与 毒性 (経口)	ラット	2ヶ月試験 : 0, 0.5, 2 mg/kg bw/day、 13週間試験 : 0, 1, 10, 100 mg/kg 飼料 (0.06 ~ 7.82 mg/kg bw/dayに相当) 1年試験 : 0, 2, 10, 50 mg/kg 飼料 (0.15 ~ 4.58 mg/kg bw/dayに相当)	全体的LOEL = 0.04 mg/kg bw/day (病理組織学的検査で、ホルモン依存器官の重量が減少に基づく)	1	1
反復投与 毒性 (経口)	イヌ	1年試験 : 0, 0.04, 0.2, 1 mg/kg bw/day			
耐性 (経口)	ブタ	4, 40, 200 µg /kg bw/day (3ヶ月間)	ホルモン無作用量=4 µg/kg bw/day (卵巣、子宮、乳腺、前立腺、精巣、精囊の重量が減少)	1	1
生殖毒性 (経口)	ラット	一世代試験 : 25, 50, 100 mg /kg 飼料の混餌投与 二世代試験 : 0.4, 4, 40 mg /kg 飼料の混餌投与	NOEL= 0.4 mg/kg 飼料 (0.03 mg/kg bw/dayに相当) (妊娠率の低下、精子形成の抑制、産児数と重量の減少、およびホルモン依存器官の重量の減少に基づく)	1	2
催奇形性 (経口)	ラット、 ブタ	二世代試験 (ラット) : 0.4, 4, 40 mg /kg 飼料の混餌投与 耐性試験 (ブタ) : 20 mg /dayを妊娠28 ~112日混餌投与	催奇形性は認められなかった。	1	2
遺伝毒性	—	<i>in vitro</i> : エームス試験、前進突然変異試験、染色体異常試験、DNA修復試験、 <i>in vivo</i> : ラットの染色体異常試験	遺伝毒性はなし	2	2
ADI	ヒト	—	薬理的ADI= 0.04 µg/kg bw (体重60kgのヒトで2.4 µgに相当) 根拠 : ホルモンの無作用量4 µg/kg bw/day (サルおよびブタで観察)、安全係数=100	2	2

動物用医薬品委員会

アルトレノゲスト

サマリーレポート (1)

(原文, 1 ページ)

1. アルトレノゲスト (またはアリトレンボロン) は、合成トリエン型 C21-ステロイド性プロゲスト疑似薬(synthetic trienic C21 steroidal progestomimetic)であり、19-ノルテストステロン系に属する。アルトレノゲストは経口活性の (プロ) ゲスターゲンである。ステロイドのように、アルトレノゲストはその脂溶性で、標的細胞に浸透し、そこでの特異的受容体に結合することにより作用する。獣医学では、アルトレノゲストは畜産学的目的 (発情期の同調化(oestrus synchronization)) で雌ブタおよび雌ウマに使用される。雌ブタの推奨投与量は 20 mg/動物/日を 18 日間連続経口投与で、雌ウマは 0.044 mg/kg 体重/日で 10~15 日間経口投与である。
2. アルトレノゲストの薬力学的活性はいくつかの動物モデルで実証されている。最も重要な作用はプロゲスト疑似作用と抗ゴナドロピン作用である。アルトレノゲストはまた弱いエストロゲン作用、同化作用およびアンドロゲン作用を示すが、コルチコイドまたは抗炎症性作用はない。全体的なホルモンの無作用量(An overall no-hormonal-effect level) 4 µg/kg 体重/日は、月経 3 周期にわたりアルトレノゲストを投与したサルで確立できた (月経周期の長さや血清中ホルモン濃度が影響した)。
3. 実験動物中のアルトレノゲストの薬物動態に関して入手可能なのは 1 試験のみである。アルトレノゲストを単回経口投与した後、ラットはアルトレノゲストを主に胆汁経路 (60%) で糞とともに排出した。尿中の排出はほとんどが 24 時間以内に完了し、投与量の約 20%に至った。
4. アルトレノゲストの急性毒性に関するデータはほとんど入手できていない。ラット及びマウスでは、腹腔内 LD₅₀ はそれぞれ 176 mg/kg 体重及び 233 mg/kg 体重である。イヌでは、経口投与量 400 mg/kg 体重までが許容されている。
5. アルトレノゲストの経口投与後の反復投与毒性試験データは、いくつか利用可能である。ラットでは、2 ヶ月間の試験 (投与量 0、0.5、2 mg/kg 体重/日)、13 週間試験 (0、1、10、100 mg/kg feed、0.06 から 7.82 mg/kg 体重/日に相当)、1 年間試験 (0、2、10、50 mg/kg feed、0.15~4.58 mg/kg 体重/日に相当) が行われ、またイヌでは 1 年間試験が行われた (0、0.04、0.2、1 mg/kg 体重/日)。これらの試験で、アルトレノゲストの薬理活性に直接関連する作用が認められ (ホルモン依存性の臓器重量の減少と組織学的変化)、全体的(overall)経口 LOEL は 0.04 mg/kg 体重/日であった。
6. ブタによる耐容性試験で観察された主な作用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、精囊の重量減少と組織学的変化)。ホルモンの無作用量 4 µg/kg 体重/日は、性成熟したブタにアルトレノゲストを 4 µg、40 µg、200 µg/kg 体重/日の用量で、3 ヶ月間経口投与した耐容性試験から確立された。
7. ラットに 25、50、100 mg/kg feed のアルトレノゲストを混餌投与した 1 世代繁殖試験および 0.4、4、40 mg/kg feed を混餌投与した 2 世代繁殖試験は入手可能である。これらの試験では、妊娠率の低下、精子形成の抑制、同腹児の数と重量の低下、およびホルモン依存器官の重量の低下がみられ、経口投与による NOEL は 0.4 mg/kg feed (0.03 mg/kg 体重/日に相当) であった。ラットの二世世代繁殖試験及びブタの妊娠 28 日から 112 日にアルトレノゲストを 20 mg/日を投与した耐容性試験では、催奇形性は見られなかった。
8. 長期毒性/発がん性試験は実施されていない。これらのデータは、所定の変異原性試験 (*in vitro*: エ

ームス試験、前進突然変異試験、染色体異常試験、DNA 修復試験、*in vivo*: ラットの染色体異常試験) で、アルトレノゲストは遺伝毒性を示さなかったため、必要ではないと見なしている。

9. 1997～1999 年の間で、アルトレノゲストは含まないがステロイドホルモンの遺伝毒性および発がん性に関する新しいデータが入手可能となった。これらのデータも 1999 年の FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議 (JFCFA)、1999 年の獣医公衆衛生に関する科学委員会 (SCVPH)、および 1999 年の国際がん研究機関 (IARC)においてレビューおよび議論された。主に 17 β -エストラジオールに関するデータを評価する上で、CVMP は、ステロイドホルモンは *in vivo* の遺伝毒性を欠いており、これらの化合物は長期暴露後や、生理学的な (ホルモン) 反応に要求される用量より相当高い用量の場合のみ、発がん性作用 (可能性) を発現することを結論づけた。したがって、遺伝毒性および発がん性に関する以前の結論は支持された。
10. ホルモンの無作用量 4 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日 (サル及びブタで観察) は、毒性 NOEL 0.03 mg/kg 体重/日 (ラットを用いた 2 世代生殖毒性試験で観察) よりも低いので、4 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日を ADI の根拠として用いるのは適切である。ホルモンの無作用量及び安全係数 100 に基づき、アルトレノゲストの薬理学的 ADI 0.04 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重 (体重 60 kg のヒトにあたり 2.4 μg に相当) を確立できる。
11. ブタ及びウマに推奨投与量の放射性標識したアルトレノゲストを経口投与した後、アルトレノゲストは容易に吸収され 3～6 時間後に濃度がピークに達する。長期投与にわたり、血漿中の蓄積がブタで見られた。血漿中濃度は両動物種で二相性に低下し、ブタの排出半減期は約 10 日である。両動物種の放射能は主に肝臓に分布し、より低値で腎臓、筋肉及び脂肪に分布する。排出データは限定されている。ブタでは、主な排出経路は胆汁を介した糞中であり、投与量の約 20%が尿中に排出される。ウマでは、24 時間以内で投与量の約 44%が尿中に、約 53%が糞中に排出される。

血漿、尿、組織中においては、代謝物の小分画のみが抽出及び同定可能であるが、そのデータは、全てのステロイドと同様に、アルトレノゲストの主な代謝経路は抱合であることを示唆している。脱アルキル反応 (トレンボロンを生成) は起こらない。

12. ブタを用いた残留試験は、放射性標識したアルトレノゲストで行われているのみである。推奨量 (20 $\text{mg}/\text{日}$ 、18 日連続) を経口投与した後、6 時間、5 日、10 日、15 日、30 日、60 日、179 日の休薬期間の後、ブタを屠殺した。肝臓に最も高い量の残留物がみられ (6 時間で 476 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、5 日で 105 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、15 日で 54 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、30 日以降は 30 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 未満に減少)、腎臓は低値だった (6 時間で 210 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、5 日で 23 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、15 日以降は 15 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 未満)。筋肉と脂肪では、総残留量はどの時点でも 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 未満だった。

臓器摘出後に、15 日及び 30 日の肝臓および腎臓検体をアルトレノゲストについて分析した。分画の一部は他の非極性の代謝産物だけでなく親化合物も存在するため、アルトレノゲストを特異的に測定できないが、肝臓の総放射能の 5%未満 (2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 未満に相当) 及び腎臓の総放射能の約 20% (2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 未満に相当) を示した。

13. ウマの残留試験を、放射性標識および非標識したアルトレノゲストを用いて推奨用量 (0.044 mg/kg 体重/日、10 日連続) で実施した。放射性標識検査では、ウマを 4 時間及び 15 日間の休薬期間後に屠殺した。4 時間後、最も高い総残留濃度は肝臓 (1062 $\mu\text{g}/\text{kg}$) であり、次いで腎臓 (84.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$)、筋肉 (12.4 $\mu\text{g}/\text{kg}$)、脂肪 (63.9 $\mu\text{g}/\text{kg}$) であった。これらの濃度は 15 日間の休薬期間の時点でそれぞれ 17.8、1.1、0.2 及び 0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ と低下した。

臓器摘出後、15 日後の肝臓検体をアルトレノゲストについて分析した。親化合物と他の非極性代謝産物が存在する分画の一部については、肝臓の総放射能の 5%未満 (1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 未満) を示した。実際、15 日の肝臓は 0.12 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 未満の親化合物 (アルトレノゲストの同量体を含む) を含んでいた。

非標識アルトレノゲストを用いた試験では、ウマを 4 時間、2 日、14 日の休薬期間の後に屠殺した。

4 時間時点のみ、アルトレノゲストの検出可能な量が肝臓 (5.5~17 µg/kg)、腎臓 (4.3~7.5 µg/kg)、筋肉 (1.6~5.8 µg/kg) 及び脂肪 (6.7~63.6 µg/kg) で測定された。その後は、アルトレノゲスト残留物は定量限界以下 (筋肉は 1 µg/kg、肝臓、腎臓および脂肪では 2 µg/kg) であった。

14. ブタ及びウマの代謝及び残留データから、その親化合物であるアルトレノゲストは唯一可能な標識残留物であることが明らかになった。すなわち、アルトレノゲストは抽出でき、検出及び定量でき、最も高いホルモン活性を持つ構造を示唆している。総残留物に対する標識残留物の比率 (標識/総残留物) を 15 日及び 30 日間の休薬期間後のブタ及びウマの肝臓並びにブタの腎臓について測定した。

ブタ及びウマの肝臓では、総残留物の 80%が組織巨大分子に不可逆的に結合するため不活性である。よって、肝臓の総残留物の 20%だけが非結合で、活性であり、アルトレノゲストはこれらの活性可能性のある残留物の約 25%だけを構成している。

ブタの腎臓では、総残留物の 20%が結合されており、80%が非結合であり活性の可能性はある。腎臓では、アルトレノゲストはこれらの活性可能性のある残留物の約 25%を構成する。

したがって、肝臓および腎臓での、総活性残留物に対する標識残留物の比は 1:4 である。

肝臓及び脂肪については、総活性残留物に対する標識残留物の比は測定できなかった。なぜなら、総残留物が非常に低値のため、代謝産物の同定ができないからである。それゆえ、総残留物のすべては非結合でありアルトレノゲストであることが推測される。筋肉及び脂肪中の残留量はどの時点でも非常に低値のため、実際にこれらの組織に対する MRL は要求されない。しかしながら、残留調査の目的に関しては、これらの組織のうち少なくとも 1 つについて MRL を確定する必要がある。アルトレノゲストの場合では、アルトレノゲストは脂溶性化合物であり、脂肪中の残留量は筋肉よりも高値であるので、脂肪が最も適している。

15. 提案された RIA 法及び HPLC 法のうち、HPLC 法は、ブタ及びウマの組織中のアルトレノゲストを測定するためのルーチン分析法として最も適切である。HPLC 法はよく記述されているが、特に特異性、ブタの組織に対する定量および検出限界の観点で完全に検証されていない。

ウマの肝臓、腎臓及び脂肪の定量限界は 2 µg/kg である。

結論及び勧告（原文, 4 ページ）

これらを考慮し：

- 薬理的 ADI は 0.04 µg/kg 体重（2.4 µg/人）と確定した
- アルトレノゲストは標識残留物として保持される
- ルーチン分析法は有用であるが、まだ十分に検証されていない

委員会は、下表に従い、アルトレノゲストを理事会規則（EEC）No 2377/90 の Annex III に含めると勧告する：

薬理的 活性物質	標識残留物	動物種	MRLs	標的組織	その他の条件
アルトレノゲスト	アルトレノゲスト	ブタ、ウマ	3 µg/kg 3 µg/kg 3 µg/kg	脂肪 肝臓 腎臓	畜産学的な目的のみ。 暫定 MRL は 2002.1.1 に有効期限切れ。

これらの MRL 値に基づき、一日摂取量は薬理的 ADI の約 81%とする。

要求事項 (原文, 5 ページ)

1. 申請者はアルトレノゲストの非結合性代謝物のホルモン活性に関する情報を提供する必要がある。
2. 提案された RIA 法及び HPLC 法のうち、HPLC 法は、ブタ及びウマの組織中のアルトレノゲストの定量のルーチン分析法として最も適切である。この方法はよく記述されるが、特異性並びにブタの組織については定量及び検出限界の観点で特に完全に確証されていない。よって、申請者は、医薬品に関する規則 VI 巻の要求事項に従い、ブタ及びウマ双方の肝臓、腎臓及び脂肪に対して MRL より低い定量限界で HPLC 法を完全に検証する必要がある。その方法は、国際的に認められた形式で提出しなければならない (例、ISO 78/2)。
3. 申請者は結合型の残留物の観点で、そのルーチン分析法で用いられる抽出法の適切性を議論する必要がある。

原文目次

SUMMARY REPORT(1)	1
Conclusions and recommendation.....	4
LIST OF QUESTIONS	5

略称等

略称等	正式名称(英語)	日本語訳
ADI	Acceptable Daily Intake	一日摂取許容量
CVMP	Committee for Medicinal Products for Veterinary Use	動物用医薬品委員会
DNA	Deoxyribo Nucleic Acid	デオキシリボ核酸
FAO	Food and Agriculture Organization	国際連合食糧農業機関
HPLC	High Performance Liquid Chromatography	高速液体クロマトグラフィー
IARC	International Agency for Research on Cancer	国際がん研究機関
JECFA	FAO/WHO Joint Expert Committee on Food Additives	FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議
LD ₅₀	Lethal Dose 50%	半数致死量
LOEL	Lowest Observed Effect Level	最小影響量
MRL	Maximum residue level	残留基準
NOEL	No Observed Effect Level	無影響量
RIA	Radioimmunoassay	ラジオイムノアッセイ
SCVPH	Scientific Committee on Veterinary Measures relating to Public Health	獣医公衆衛生に関する科学委員会.
WHO	World Health Organization	世界保健機関

アルトレノゲストの毒性試験と結果の概要一覧

(評価書 : EMA, COMMITTEE FOR VETERINARY MEDICINAL PRODUCTS
ALTRENOGEST SUMMARY REPORT (2))

試験種類	供試動物等	投与量 (投与期間等)	結果	和訳版 (ページ)	原文 (ページ)
急性毒性 (腹腔)	ラット	—	LD ₅₀ =176 mg/kg bw	1	1
急性毒性 (腹腔)	マウス	—	LD ₅₀ =233 mg/kg bw	1	1
急性毒性 (経口)	イヌ	—	400 mg/kg bw まで許容	1	1
反復投与 毒性 (経口)	ラット	2 ヶ月試験 : 0, 0.5, 2 mg/kg bw/day、 13 週間試験 : 0, 1, 10, 100 mg/kg 飼料 (0.06 ~7.82 mg/kg bw/day に相当) 1 年試験 : 0, 2, 10, 50 mg/kg 飼料 (0.15 ~ 4.58 mg/kg bw/day に 相当)	全体的LOEL = 0.04 mg/kg bw/day (病理組織学的検査で、ホル モン依存器官の重量が減少に 基づく)	1	2
反復投与 毒性 (経口)	イヌ	1 年試験 : 0, 0.04, 0.2, 1 mg/kg bw/day			
耐性 (経 口)	ブタ	4, 40, 200 µg/kg bw/day (3 ヶ月間)	ホルモン無作用量=4 µg/kg bw/day (卵巣、子宮、乳腺、前立腺、 精巣、精囊の重量が減少)	2	2
生殖毒性 (経口)	ラット	一世代試験 : 25, 50, 100 mg /kg 飼料の混 餌投与 二世代試験 : 0.4, 4, 40 mg /kg 飼料の混餌投 与	NOEL= 0.4 mg/kg 飼料 (0.03 mg/kg bw/dayに相当) (妊娠率の低下、精子形成の 抑制、産児数と重量の減少、 およびホルモン依存器官の重 量の減少に基づく)	2	2
催奇形性	ラット、 ブタ	二世代試験 (ラッ ト) : 0.4, 4, 40 mg /kg 飼料の混餌投与 耐性試験 (ブタ) : 20 mg /day を妊娠 28 ~ 112 日混餌投与	催奇形性は認められなかつ た。	2	2
遺伝毒性	—	<i>in vitro</i> : エームス試 験、前進突然変異試 験、染色体異常試験、 DNA 修復試験、 <i>in vivo</i> : ラットの染色 体異常試験	遺伝毒性はなし	2	2
ADI	ヒト	—	薬理的 ADI= 0.04 µg/kg bw (体重 60kg のヒトで 2.4 µg に 相当) 根拠 : ホルモンの無作用量 4 µg/kg bw/day (サルおよびブタで観	2	2

試験 種類	供試 動物等	投与量 (投与期間等)	結 果	和訳版 (ページ)	原文 (ページ)
			察)、安全係数=100		

動物用医薬品委員会

アルトレノゲスト

サマリーレポート (2)

(原文, 1 ページ)

1. アルトレノゲスト (またはアリトレンボロン) は、合成トリエン型 C21-ステロイド性プロゲスト疑似薬(synthetic trienic C21 steroidal progestomimetic)であり、19-ノルテストステロン系に属する。アルトレノゲストは経口活性の (プロ) ゲスターゲンである。すべてのステロイドのように、アルトレノゲストはその脂溶性で、標的細胞に浸透し、そこでの特異的受容体に結合することにより作用する。獣医学では、アルトレノゲストは畜産学的目的 (発情期の同調化(oestrus synchronization)) で雌ブタ及び雌ウマに使用される。雌ブタの推奨投与量は 20 mg/動物/日を 18 日間連続経口投与で、雌ウマは 0.044 mg/kg 体重/日で 10~15 日間経口投与である。

薬理的 ADI 0.04 µg/kg 体重は、サル及びブタにおけるホルモン作用の欠如に基づいており、以前の動物医薬品委員会で設定された。アルトレノゲストは下表に従い、理事会規則(EEC) No 2377/90 の Annex III に含まれている。

アルトレノゲストは下表に従い、理事会規則(EEC) No 2377/90 の Annex III に含まれている。

薬理的 活性物質	標識残留物	動物種	MRLs	標的組 織	その他の条件
アルトレノゲスト	アルトレノゲスト	ブタ、ウマ	3 µg/kg 3 µg/kg 3 µg/kg	脂肪 肝臓 腎臓	畜産学的な目的のみ。 暫定 MRL は 2003.1.1 に有効 期限切れ。

追加データは、要求事項に対する返答として、さらには暫定 MRL の勧告に対して提供された。

2. アルトレノゲストの薬理的活性はいくつかの動物モデルで実証されている。最も重要な作用はプロゲスト疑似作用と抗ゴナドロピン作用である。アルトレノゲストはまた弱いエストロゲン作用、同化作用およびアンドロゲン作用を示すが、コルチコイドまたは抗炎症性作用はない。全体的なホルモンの無作用量(An overall no-hormonal-effect level) 4 µg/kg 体重/日は、月経 3 周期にわたりアルトレノゲストを投与したサルで確立された (月経周期の長さや血清中ホルモン濃度が影響した)。
3. 実験動物中のアルトレノゲストの薬物動態に関して入手可能なのは 1 試験のみである。アルトレノゲストを単回経口投与した後、ラットはアルトレノゲストを主に胆汁経路 (60%) で糞とともに排出した。尿中の排出はほとんどが 24 時間以内に完了し、投与量の約 20%に至った。
4. アルトレノゲストの急性毒性についてはデータがほとんど入手できていない。腹腔内投与の LD₅₀ の値はラットで 176 mg/kg 体重、マウスで 233 mg/kg 体重であった。イヌは経口投与で 400 mg/kg 体重まで耐容した。
5. アルトレノゲストの経口投与後の反復投与毒性試験データは、いくつか利用可能である。ラットでは、2ヶ月間の試験 (投与量 0、0.5、2 mg/kg 体重/日)、13 週間試験 (0、1、10、100 mg/kg feed、0.06 から 7.82 mg/kg 体重/日に相当)、1 年間試験 (0、2、10、50 mg/kg feed、0.15~4.58 mg/kg 体重/日に相当) が行われ、またイヌでは 1 年間試験 (0、0.04、0.2、1 mg/kg 体重/日) が行われた。これらの試験で、アルトレノゲストの薬理活性に直接関連する作用が認められ (ホルモン依存性の

臓器重量の減少と組織学的変化)、全体的(overall)経口 LOEL は 0.04 mg/kg 体重/日であった。

6. ブタによる耐容性試験で観察された主な作用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、精嚢の重量減少と組織学的変化)。ホルモンの無作用量 4 µg/kg 体重/日は、性成熟したブタにアルトレノゲストを 4 µg、40 µg、200 µg/kg 体重/日の用量で、3 ヶ月間経口投与した耐容性試験から確立された。
 7. ラットに 25、50、100 mg/kg feed のアルトレノゲストを混餌投与した一世代繁殖試験及び 0.4、4、40 mg/kg feed を混餌投与した二世代繁殖試験は入手可能である。これらの試験では、妊娠率の低下、精子形成の抑制、同腹児の数と重量の低下、及びホルモン依存器官の重量の低下がみられ、経口投与による NOEL は 0.4 mg/kg feed (0.03 mg/kg 体重/日に相当)であった。ラットの二世代繁殖試験及びブタの妊娠 28 日から 112 日にアルトレノゲストを 20 mg/日を投与した耐容性試験では、催奇形性は見られなかった。
 8. 長期毒性/発がん性試験は実施されていない。これらのデータは、所定の変異原性試験 (*in vitro*: エームス試験、前進突然変異試験、染色体異常試験、DNA 修復試験、*in vivo*: ラットの染色体異常試験) で、アルトレノゲストは遺伝毒性を示さなかったため、必要ではないと見なしている。
 9. 1997~1999 年の間で、アルトレノゲストは含ま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データが入手可能となった。これらのデータも 1999 年の FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議 (JFCFA)、1999 年の公衆衛生に関する獣医対策科学委員会 (SCVPH)、及び 1999 年の国際がん研究機関 (IARC)においてレビューおよび議論された。主に 17β-エストラジオールに関するデータを評価する上で、CVMP は、ステロイドホルモンは *in vivo* の遺伝毒性を欠いており、これらの化合物は長期暴露後や、生理学的な(ホルモン)反応に要求される用量より相当高い用量の場合のみ、発がん性作用(可能性)を発現することを結論づけた。したがって、遺伝毒性および発がん性に関する以前の結論は支持された。
 10. ホルモンの無作用量 4 µg/kg 体重/日(サル及びブタで観察)は、毒性 NOEL 0.03 mg/kg 体重/日(ラットを用いた 2 世代生殖毒性試験で観察)よりも低いので、4 µg/kg 体重/日を ADI の根拠として用いるのは適切である。ホルモンの無作用量及び安全係数 100 に基づき、アルトレノゲストの薬理的 ADI 0.04 µg/kg 体重(体重 60 kg のヒトにあたり 2.4 µg に相当)を確立できる。
 11. ブタ及びウマに推奨投与量の放射性標識したアルトレノゲストを経口投与した後、アルトレノゲストは容易に吸収され 3~6 時間後に濃度がピークに達する。長期投与にわたり、血漿中の蓄積がブタで見られた。血漿中濃度は両動物種で二相性に低下し、ブタの排出半減期は約 10 日である。両動物種の放射能は主に肝臓に分布し、より低値で腎臓、筋肉及び脂肪に分布する。排出データは限定されている。ブタでは、主な排出経路は胆汁を介した糞中であり、投与量の約 20%が尿中に排出される。ウマでは、24 時間以内で投与量の約 44%が尿中に、約 53%が糞中に排出される。
- 血漿、尿、組織中においては、代謝物の小分画のみが抽出及び同定可能であるが、そのデータは、全てのステロイドと同様に、アルトレノゲストの主な代謝経路は抱合であることを示唆している。脱アルキル反応(トレンボロンを生成)は起こらない。
12. ブタを用いた残留試験は、放射性標識したアルトレノゲストで行われているのみである。推奨量(20 mg/日、18 日連続)を経口投与した後、6 時間、5 日、10 日、15 日、30 日、60 日、179 日目の休薬期間の後、ブタを屠殺した。肝臓に最も高い量の残留物がみられ(6 時間で 476 µg/kg、5 日で 105 µg/kg、15 日で 54 µg/kg、30 日以降は 30 µg/kg 未満に減少)、腎臓は低値だった(6 時間で 210 µg/kg、5 日で 23 µg/kg、15 日以降は 15 µg/kg 未満)。筋肉と脂肪では、総残留量はどの時点でも 2 µg/kg 未満だった。

臓器摘出後に、15 日及び 30 日の肝臓及び腎臓の検体をアルトレノゲストについて分析した。分画

の一部は他の非極性の代謝産物だけでなく親化合物も存在するため、アルトレノゲストを特異的に測定できないが、肝臓の総放射能の 5%未満 (2 µg/kg 未満に相当) 及び腎臓の総放射能の約 20% (2 µg/kg 未満に相当) を示した。

- ウマの残留試験を、放射性標識及び非標識したアルトレノゲストを用いて推奨用量 (0.044 mg/kg 体重/日、10 日連続) で実施した。放射性標識検査では、ウマを 4 時間及び 15 日間の休薬期間の後に屠殺した。4 時間後、最も高い総残留濃度は肝臓 (1062 µg/kg) であり、次いで腎臓 (84.1 µg/kg)、筋肉 (12.4 µg/kg)、脂肪 (63.9 µg/kg) であった。これらの濃度は 15 日間の休薬期間の時点でそれぞれ 17.8、1.1、0.2、0.5 µg/kg と低下した。

臓器摘出後、15 日後の肝臓検体をアルトレノゲストについて分析を行った。親化合物とその他の非極性の代謝産物が抽出された分画の一部としてアルトレノゲストは肝臓の総放射能の 5%未満を示した (1 µg/kg 未満)。実際、15 日の肝臓は 0.12 µg/kg 未満の親化合物 (アルトレノゲストの同量体を含む) を含んでいた。

非標識アルトレノゲストを用いた試験では、ウマを 4 時間、2 日、14 日の休薬期間後に屠殺した。4 時間の時点のみ、アルトレノゲストの検出可能な量が肝臓 (5.5~17 µg/kg)、腎臓 (4.3~7.5 µg/kg)、筋肉 (1.6~5.8 µg/kg) 及び脂肪 (6.7~63.6 µg/kg) で測定された。その後は、アルトレノゲスト残留物は定量限界以下 (筋肉は 1 µg/kg、肝臓、腎臓及び脂肪では 2 µg/kg) であった。

- アルトレノゲストの代謝産物のホルモン活性に関する情報は提供されていない。その他のステロイドの代謝と同様に、代謝により極性の増加したため、アルトレノゲストと比較して代謝産物のホルモン活性の低下が予想される。これらの極性代謝産物は脂溶性が低く、受容体に対する親和性も低いだろう。しかしながら、アルトレノゲストのグルクロニド抱合体は腸での脱抱合の後ホルモン活性があると予想される。また、アルトレノゲストの同量体、すなわち大部分の代謝産物のホルモン活性は知られていない。したがって、アルトレノゲストとアルトレノゲストの代謝産物間のホルモン活性比は測定できない。
- ブタ及びウマの代謝および残留データから、その親化合物であるアルトレノゲストは唯一可能な標識残留物であることが明らかになった。すなわち、アルトレノゲストは抽出でき、検出及び定量でき、最も高いホルモン活性を持つ構造を示唆している。総残留物に対する標識残留物の比率 (標識/総残留物) を 15 日及び 30 日の休薬期間のブタ及びウマの肝臓並びにブタの腎臓について測定した。

ブタ及びウマの肝臓では、総残留物の 80%が組織巨大分子に不可逆的に結合するため不活性である。よって、肝臓の総残留物の 20%だけが非結合で活性であり、アルトレノゲストはこれらの活性可能性のある残留物の最大で 25%を構成している。ウマの肝臓では、15 日目において、非結合及び活性残留の最小で 0.5%を構成している。ブタの肝臓での最小のパーセンテージは決定されていない。

ブタの腎臓では、総残留物の 20%が結合されており、80%が非結合であり活性の可能性はある。腎臓では、アルトレノゲストはこれらの活性可能性のある残留物の最大で約 25%を構成する。ブタ及び馬の腎臓での最小のパーセンテージは決定されていない。

肝臓及び脂肪については、総活性残留物に対する標識残留物の比は測定できなかった。なぜなら、総残留物が非常に低値のため、代謝産物の同定ができないからである。それゆえ、総残留物のすべては非結合でありアルトレノゲストであることが推測される。筋肉及び脂肪中の残留量はどの時点でも非常に低値のため、実際にこれらの組織に対する MRL は要求されない。しかしながら、残留調査の目的に関しては、これらの組織のうち少なくとも 1 つについて MRL を確定する必要がある。アルトレノゲストの場合では、アルトレノゲストは脂溶性化合物であり、脂肪中の残留量は筋肉よりも高値であるので、脂肪が適している。

16. 十分に検証されたルーチン分析である UV 検出を利用した HPLC 法は、ブタの肝臓、腎臓、皮膚及び脂肪、筋肉、並びにウマの腎臓、肝臓及び脂肪中のアルトレノゲストの残留物の測定に有用である。本法は ISO 標準 78/2 に従い記述されている。定量限界は、両動物種のすべての組織において 1.0 µg/kg である。しかしながら、これらの方法はアルトレノゲストの抱合体を加水分解するステップを含めておらず、定量された残留物はその同量体を含んでいなかった。

結論および勧告（原文, 4 ページ）

これらを考慮し：

- 薬理的 ADI は 0.04 µg/kg 体重（2.4 µg/人）と確定した
- アルトレノゲストは標識残留物として保持される
- 標識残留物は、標識組織である肝臓において総残留物の小部分のみであった
- アルトレノゲスト及びアルトレノゲストの代謝産物間のホルモン活性の比は測定できなかった
- 抽出可能な代謝産物は、（悪いケースにおいては）親化合物と同等のホルモン活性を持ち、（悪いケースでない場合には）総残留物に対する標識残留物の比は 0.25 と推定された
- 十分に検証されたルーチン分析法は有用であるが、アルトレノゲストの抱合体及びその同量体を測定できない。
- 申請者は懸案事項に対応することをコミットしている；

委員会は、修正された理事会規則(EEC) No 2377/90 の Article 4 に従い、以下の表の通り、アルトレノゲストの暫定的 MRL を 2 年間延長することを勧告する：

薬理的 活性物質	標識残留物	動物種	MRL	標的組織	その他の条件
アルトレノ ゲスト	アルトレノ ゲスト	ブタ	3 µg/kg 3 µg/kg 3 µg/kg	皮膚+脂肪 肝臓 腎臓	畜産学的な目的のみ。 暫定 MRL の有効期限 は 2005 年 1 月 1 日。
		ウマ	3 µg/kg 3 µg/kg 3 µg/kg	脂肪 肝臓 腎臓	

これらの MRL 値に基づき、理論上の最大一日摂取量は薬理的 ADI の 81%とする。

動物用医薬品委員会が理事会規則(EEC) No 2377/90 の Annex I にアルトレノゲストを含めることを検討する前に、要求事項に含まれる点の対応がなされるべきである。

要求事項（原文、5 ページ）

1. 申請者は、ブタ及びウマの組織におけるアルトレノゲストの主要な非結合性代謝物（脱抱合反応後の）の潜在的なホルモン活性を示す試験について報告を提供しなければならない。これらの試験が、1つ以上の代謝物がホルモン活性を示すならば、申請者は標識残留物とホルモン活性代謝物間の比を測定する情報を提供するか、またはホルモン活性代謝物を標識残留物の定義に含め、ルーチン分析法を調整する必要がある。
2. 申請者はブタ及びウマの組織における標識残留物の測定のために、アルトレノゲストの抱合体を加水分解する試料調整のステップを併せることにより、ルーチン分析法の改良をしなければならない。親化合物の抱合体の加水分解によりアルトレノゲストだけでなく、アルトレノゲストの同量体を生成する。したがって、この同量体は、その手法で定量される残留物の一部である必要がある。申請者はこの変更した手法に対する検証データを提供する必要がある。

原文目次

SUMMARY REPORT(2)	1
Conclusions and recommendation.....	4
LIST OF QUESTIONS	5

略称等

略称等	正式名称(英語)	日本語訳
ADI	Acceptable Daily Intake	一日摂取許容量
CVMP	Committee for Medicinal Products for Veterinary Use	動物用医薬品委員会
DNA	Deoxyribo Nucleic Acid	デオキシリボ核酸
FAO	Food and Agriculture Organization	国際連合食糧農業機関
HPLC	High Performance Liquid Chromatography	高速液体クロマトグラフィー
IARC	International Agency for Research on Cancer	国際がん研究機関
ISO	International Organization for Standardization	国際標準化機構
JECFA	FAO/WHO Joint Expert Committee on Food Additives	FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議
LD ₅₀	Lethal Dose 50%	半数致死量
LOEL	Lowest Observed Effect Level	最小影響量
MRL	Maximum residue level	残留基準
NOEL	No Observed Effect Level	無影響量
SCVPH	Scientific Committee on Veterinary Measures relating to Public Health	獣医公衆衛生に関する科学委員会.
UV	Ultraviolet	紫外
WHO	World Health Organization	世界保健機関

アルトレノゲストの毒性試験と結果の概要一覧

(評価書：EMA, COMMITTEE FOR MEDICINAL PRODUCTS FOR VETERINARY USE
ALTRENOGEST SUMMARY REPORT (3))

試験種類	供試動物等	投与量 (投与期間等)	結果	和訳版 (ページ)	原文 (ページ)
急性毒性 (腹腔)	ラット	—	LD ₅₀ =176 mg/kg bw	1	1
急性毒性 (腹腔)	マウス	—	LD ₅₀ =233 mg/kg bw	1	1
急性毒性 (経口)	イヌ	—	400 mg/kg bw まで許容	1	1
反復投与 毒性 (経口)	ラット	2ヶ月試験：0, 0.5, 2 mg/kg bw/day、 13週間試験：0, 1, 10, 100 mg/kg 飼料 (0.06 ～7.82 mg/kg bw/day に相当) 1年試験：0, 2, 10, 50 mg/kg 飼料 (0.15～ 4.58 mg/kg bw/day に 相当)	全体的LOEL = 0.04 mg/kg bw/day (病理組織学的検査で、ホル モン依存器官の重量が減少に 基づく)	1	2
反復投与 毒性 (経口)	イヌ	1年試験：0, 0.04, 0.2, 1 mg/kg bw/day			
耐性(経 口)	ブタ	4, 40, 200 µg/kg bw/day (3ヶ月間)	ホルモン無作用量=4 µg/kg bw/day (卵巣、子宮、乳腺、前立腺、 精巣、精囊の重量が減少)	2	2
生殖毒性 (経口)	ラット	一世代試験：25, 50, 100 mg /kg 飼料の混 餌投与 二世代試験：0.4, 4, 40 mg /kg 飼料の混餌投 与	NOEL= 0.4 mg/kg 飼料 (0.03 mg/kg bw/dayに相当) (妊娠率の低下、精子形成の 抑制、産児数と重量の減少、 およびホルモン依存器官の重 量の減少に基づく)	2	2
催奇形性	ラット、 ブタ	二世代試験 (ラッ ト)：0.4, 4, 40 mg /kg 飼料の混餌投与 耐性試験(ブタ)：20 mg /dayを妊娠28～ 112日混餌投与	催奇形性は認められなかつ た。	2	2
遺伝毒性	—	<i>in vitro</i> ：エームス試 験、前進突然変異試 験、染色体異常試験、 DNA修復試験、 <i>in vivo</i> ：ラットの染色 体異常試験	遺伝毒性はなし	2	2
ADI	ヒト	—	薬理的ADI= 0.04 µg/kg bw (体重60kgのヒトで2.4 µgに 相当) 根拠： ホルモンの無作用量4 µg/kg bw/day (サルおよびブタで観	2	2

試験 種類	供試 動物等	投与量 (投与期間等)	結 果	和訳版 (ページ)	原文 (ページ)
			察)、安全係数=100		

動物用医薬品委員会

アルトレノゲスト

サマリーレポート (3)

(原文、1ページ)

1. アルトレノゲスト (又はアイトレンボロン) は 19-ノルテストステロン系に属する合成トリエン型 C-21 ステロイド性プロゲスト疑似薬であり、口活性の (プロ) ゲスタゲンである。他のステロイド薬と同様に、アルトレノゲストはその脂溶性により標的細胞に浸透し特異的受容体に結合する。獣医学では、アルトレノゲストは若い雌ブタや雌ウマに畜産学的目的で使用される (発情期の同調化)。雌ブタの推奨用量は 18 日間連続経口投与で 20 mg/動物 1/日、雌ウマは 10 日~15 日の経口投与で 0.044 mg/kg 体重/日とする。

薬理的 ADI 0.04 µg/kg 体重は、サル及びブタにおけるホルモン作用の欠如に基づいており、以前の動物医薬品委員会で設定された。

アルトレノゲストは下表に従い、理事会規則(EEC) No 2377/90 の Annex III に含まれている。

薬理的活性物質	標識残留物	動物種	MRL	標的組織	その他条件
アルトレノゲスト	アルトレノゲスト	ブタ	3 µg/kg 3 µg/kg 3 µg/kg	皮膚 + 脂肪 肝臓 腎臓	畜産学的な目的のみ使用。暫定 MRL の期限は 2005 年 1 月 1 日。
		ウマ	3 µg/kg 3 µg/kg 3 µg/kg	脂肪 肝臓 腎臓	

代謝物のホルモン活性と分析方法の有効性に関する追加データは暫定 MRL の確立の勧告についての質問リストの答えとして提供された。

2. アルトレノゲストの薬理的活性について、多くの動物モデルで実証されている。最も重要な作用はプロゲスト疑似作用と抗コナドロン作用である。アルトレノゲストのエストロゲン作用、同化作用、アンドロゲン作用は弱い、コルチコイド又は抗炎症性作用はない。全体的なホルモンの無作用量(An overall no-hormonal-effect level) 4 µg/kg 体重/日は、月経 3 周期にわたりアルトレノゲストをサルに投与し確立された (月経周期の長さや血清中ホルモン濃度への影響)。
3. 実験動物のアルトレノゲストの薬物動態学は限られた研究が 1 つだけ入手可能である。アルトレノゲストを単回経口投与した後、ラットはアルトレノゲストを主に胆汁を経由し (60%) 糞便中で排出した。尿中の排出はほとんどが 24 時間以内に完了し、投与量の約 20%であった。
4. アルトレノゲストの急性毒性についてはデータがほとんど入手できていない。腹腔内投与の LD₅₀ の値はラットで 176 mg/kg 体重、マウスで 233 mg/kg 体重であった。イヌは経口投与で 400 mg/kg 体重まで耐容した。
5. アルトレノゲストの経口投与後の反復投与毒性試験データは、いくつか利用可能である。ラットでは、2ヶ月間の試験 (投与量 0、0.5、2 mg/kg 体重/日)、13週間試験 (0、1、10、100 mg/kg feed、

0.06 から 7.82 mg/kg 体重/日に相当)、1 年間試験 (0、2、10、50 mg/kg feed、0.15~4.58 mg/kg 体重/日に相当) が行われ、またイヌでは 1 年間試験 (0、0.04、0.2、1 mg/kg 体重/日) が行われた。これらの試験で、アルトレノゲストの薬理活性に直接関連する作用が認められ (ホルモン依存性の臓器重量の減少と組織学的変化)、全体的(overall)経口 LOEL は 0.04 mg/kg 体重/日であった。

6. ブタによる耐容性試験で観察された主な作用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、精囊の重量減少と組織学的変化)。ホルモンの無作用量 4 µg/kg 体重/日は、性成熟したブタにアルトレノゲストを 4 µg、40 µg、200 µg/kg 体重/日の用量で、3 ヶ月間経口投与した耐容性試験から確立された。
7. ラットに 25、50、100 mg/kg feed のアルトレノゲストを混餌投与した 1 世代繁殖試験及び 0.4、4、40 mg/kg feed を混餌投与した 2 世代繁殖試験は入手可能である。これらの試験では、妊娠率の低下、精子形成の抑制、同腹児の数と重量の低下、及びホルモン依存器官の重量の低下がみられ、経口投与による NOEL は 0.4 mg/kg feed (0.03 mg/kg 体重/日に相当) であった。ラットの 2 世代繁殖試験及びブタの妊娠 28 日から 112 日にアルトレノゲストを 20 mg/日を投与した耐容性試験では、催奇形性は見られなかった。
8. 長期毒性/発がん性の実験はまだ行われていない。所定の変異原性試験 (*in vitro*: エームス試験、前進突然変異試験、染色体異常試験、DNA 修復試験; *in vivo*: ラットの染色体異常試験) で、アルトレノゲストは遺伝毒性を示さなかったため、これらデータは必要ではないと見なしている。
9. アルトレノゲストは含まれていないが、1997 年から 1999 年の間に、ステロイドホルモンの遺伝毒性と発がん性のデータが入手可能となった。これらのデータは、1999 年の FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議 (JECFA)、1999 年度欧州委員会の公衆衛生に関する獣医対策科学委員会 Scientific Committee on Veterinary Measures Relating to Public Health (SCVPH)、1999 年には国際がん研究機関 (IARC) にてレビューと議論がされた。主に 17β-エストラジオールについてデータの評価が行われ、ステロイドホルモンは、*in vivo* の遺伝毒性作用に欠き、生理学的 (ホルモン) 反応に必要とされる量をはるかに上回る用量や、長時間にわたり暴露された後のみに発がん性作用 (可能性) があると CVMP は結論した。よって、遺伝毒性及び発がん性に関するこれまでの結論は支持された。
10. ホルモン無作用量の 4 µg/kg 体重/日 (サルとブタで観察) は毒性 NOEL の 0.03 mg/kg 体重/日より少なく (ラットの 2 世代生殖毒性試験で観察)、ADI の根拠として前者を使用するのが最も適切である。アルトレノゲストについて、ホルモン無作用量を基に、安全係数 100、薬理的 ADI、0.04 µg/kg 体重 (体重 60 kg のヒトでは 2.4 µg に相当) が確立できる。
11. 放射性標識したアルトレノゲストを推奨用量で、ブタとウマに経口投与した後、アルトレノゲストは直ぐに吸収され、3 時間から 6 時間でピークに達する。長期の投与で、ブタには血漿に蓄積がみられた。ブタの排出半減期が約 10 日間で、血漿濃度はブタとウマ両方で二相性に下降する。ブタとウマとも放射線は主に肝臓に分布し、腎臓、筋肉、脂肪への分布は低値だった。排出データは限られている。ブタの主な排出経路は胆汁を介した糞便中で、約 20%が尿中で排出される。ブタでの 2 回目の実験では、尿が主な排出経路だった (60%)。ウマは、24 時間で投与量の約 44%が尿から排出され、53%が糞便中から排出された。

血漿、尿、組織中においては、代謝物の小分画のみが抽出及び同定可能であるが、そのデータは、全てのステロイドと同様に、アルトレノゲストの主な代謝経路は酸化と抱合であることを示唆している。脱アルキル反応 (トレンボロンを生成) は起こらない。

12. ブタを用いた残留試験は、放射性標識したアルトレノゲストで行われているのみである。推奨量 (20 mg/日、18 日連続) を経口投与した後、6 時間、5 日、10 日、15 日、30 日、60 日、179 日間の休薬期間の後、ブタを屠殺した。肝臓に最も高い量の残留物がみられ (6 時間で 476 µg/kg、5 日で 105 µg/kg、15 日で 54 µg/kg、30 日以降は 30 µg/kg 未満に減少)、腎臓は低値だった (6 時間で 210 µg/kg、

5日で23 µg/kg、15日以降は15 µg/kg未滿)。筋肉と脂肪では、総残留量はどの時点でも2 µg/kg未滿だった。15日と30日の肝臓と腎臓の検体からは、アルトレノゲストは測定されなかった。

2回目の放射性残留試験では、ブタに推奨用量を経口投与(20 mg/日、18日連続)し、4.5時間、7日と15日の休薬期間の後、屠殺した。最も高い残留量を示したのは肝臓で(4.5時間で1444 µg/kg、7日で122 µg/kg、15日で62 µg/kgに減少)、腎臓は低値だった(4.5時間で372 µg/kg、7日で75 µg/kg、15日で11.7 µg/kgに減少)。筋肉の総残留量は4.5時間で30 µg/kgから7日で7.1 µg/kg、15日で3.6 µg/kgに減少した。脂肪のついた皮膚は、総残留量は4.5時間で91 µg/kg、7日に3.6 µg/kg、15日に1.6 µg/kgに減少した。組織の主な非結合性の代謝産物が測定された。4.5時間の肝臓の代謝産物は質量分析法(MS)を使って一部同定された。極性の代謝産物は、主にアルトレノゲストのグルタチオンとグルクロニド抱合体、アルトレノゲストの異性体、アルトレノゲストの水酸化体で構成されている。非イオン性の相対的に極性の代謝産物は、アルトレノゲスト、アルトレノゲスト異性体、アルトレノゲストの水酸化体から成る。非極性分画では代謝産物は測定されなかった。アルトレノゲスト異性体とその抱合体は光の影響下でアルトレノゲストとその抱合体から形成される。肝臓のアルトレノゲスト濃度は4.5時間で196 µg/kgから7日目に0.74 µg/kg、15日目に0.25 µg/kgに減少している。腎臓での濃度は4.5時間で11.6 µg/kgから7時間で0.26 µg/kgに減少した。筋肉は4.5時間で6.7 µg/kg、脂肪のついた皮膚は4.5時間で58.7 µg/kgだった。

13. ウマの残留試験を、放射性標識及び非標識したアルトレノゲストを用いて推奨用量(0.044 mg/kg体重/日、10日連続)で実施された。放射標識検査では、ウマを4時間と15日間の休薬期間の後、屠殺した。4時間では、最も高い総残留量は肝臓で検出され(1062 µg/kg)、腎臓(84.1 µg/kg)、筋肉(12.4 µg/kg)、脂肪(63.9 µg/kg)は低値だった。いずれも残留量は15日に肝臓で17.8 µg/kg、腎臓で1.1 µg/kg、筋肉で0.2 µg/kg、そして脂肪で0.5 µg/kgに減少した。

臓器摘出の後、15日の肝臓の検体のアルトレノゲストを分析した。親化合物とその他の非極性の代謝産物が抽出された分画の一部としてアルトレノゲストは肝臓の総放射能の5%未滿を示した(1 µg/kg未滿に相当)。実際、15日の肝臓の親化合物は0.12 µg/kg未滿であった(アルトレノゲストの同重体を含む)。

これら分画と代謝産物の追加試験で、極性分画におけるアルトレノゲストのグルタチオンと加水分解性抱合体の存在が確認された。また、追加の代謝産物の一部がグルタチオン抱合体として特定された。15日目に屠殺された雌ウマの腎臓、筋肉、脂肪におけるアルトレノゲストは測定されなかった。

非標識のアルトレノゲストを用いた試験では、ウマを4時間、2日と14日の休薬期間の後、屠殺した。4時間のみ、肝臓(5.5~17 µg/kg)、腎臓(4.3~7.5 µg/kg)、筋肉(1.6~5.8 µg/kg)並びに脂肪(6.7~63.6 µg/kg)でアルトレノゲストが検出された。その後の時点で、アルトレノゲストの残留量は定量の限界以下であった(筋肉は1 µg/kg、肝臓、腎臓、脂肪は2 µg/kg)。

14. アルトレノゲストの代謝産物のホルモン活性について追加の情報が提供された。その他のステロイドの代謝と同様に、代謝により極性の増加した水酸化代謝産物と抱合体が生じるため、アルトレノゲストと比較して代謝産物のホルモン活性の低下が予想される。これら極性代謝産物の脂溶性は低く、受容体に対する親和性も低いであろう。その他ステロイドの6-ヒドロキシル化はホルモン活性の損失(1%以下)を招く。しかし、アルトレノゲストのグルクロニド抱合体は腸での脱抱合の後ホルモン活性があると予想される。4.5時間で屠殺された雌ブタの肝臓の極性及び非イオン性の相対的に極性の分画の黄体ホルモン作用が、ヒトのプロゲステロン受容体Bを有するチャイニーズハムスターの卵巣細胞、マウスの乳腺腫瘍ウイルスプロモーターとルシフィラーゼ・レポーター遺伝子を使って測定された。非加水分解性の極性分画はアルトレノゲストと比較して非常に低い活性を示した。グルクロニド抱合体の酵素的加水分解の後、活性は、アルトレノゲストの活性の約14%に増加した。非イオン性の相対的に極性の分画は、アルトレノゲストの活性の約21%を示した。これはア

アルトレノゲストの含有量に基づいて予想される活性を下回っている。アルトレノゲスト異性体のホルモン活性は非常に低かった。それぞれの代謝産物の量がわずかであるため、この試験における個別の代謝産物のホルモン活性についての情報は提供されていない。

1日と15日に屠殺された雌ウマの肝臓の分画と先端部のホルモン活性の情報は、残留物の量が少なくマトリックス作用が低いため入手できない。ブタとウマの代謝産物と残留物データから、親化合物であるアルトレノゲストが唯一可能な標識残留物であるということが明らかになった。アルトレノゲストは抽出、検出と定量が可能で、最も高いホルモン活性の構造を示唆している。15日のデータに基づき、最悪の場合を仮定したときの雌ブタの肝臓における標識残留物と総ホルモン活性残留物の比を0.046と決定することができる。ブタの腎臓の標識比は決定できない。

同様の最悪の場合を仮定したとき、ウマの肝臓における比は0.083と決定することができる。ウマの腎臓の標識比は決定できない。15日の残留物とアルトレノゲストの量が少ないため、肝臓と比較して腎臓のアルトレノゲストの量が少ないため、腎臓のMRLは必要とされない。

代謝産物を特定するための総残留物の量が非常に低値のため、アルトレノゲストの濃度を決定できなかったことから、ウマとブタの筋肉と脂肪の総活性残留物に対する標識残留物の比率は決定できなかった。よって、全ての総残留物は非結合でアルトレノゲストであると推測される。筋肉と脂肪の残留物はどの時点でも非常に低値のため、実際MRLはこれらの組織には要求されない。しかし、残留調査の目的に関しては、これら組織の少なくとも1つについてMRLを確立する必要がある。アルトレノゲストの場合、アルトレノゲストは脂肪親和性の化合物であり、脂肪の残留物は筋肉よりも高値であるので、脂肪が最も適している。

15. ブタの肝臓、腎臓、脂肪のついた皮膚と筋肉、ウマの腎臓、肝臓と脂肪のアルトレノゲストの残留物を決定するための、ISO 基準 78/2 に準じた定期的な HPLC 分析法と MS の検出が入手可能である。定量の限界をブタの筋肉、脂肪のついた皮膚と腎臓で 1.0 µg/kg、ブタの肝臓で 0.2 µg/kg、ウマの脂肪、肝臓と腎臓で 1.0 µg/kg としてウマとブタともにこの方法は検証されている。この方法による定量の限界はウマの肝臓でウマの標的組織の MRL を若干上回る。しかし、同じ方法でブタの肝臓は 0.2 µg/kg で検証され、ウマは少数種であることを考慮し、ウマについてはこれ以上の検証は必要ないとされた。

結論と提案（原文、5ページ）

これらを考慮し：

- 薬理的 ADI 0.04 µg/kg 体重（2.4 µg/ヒト）が確立された。
- アルトレノゲストは標識残留物として留保された。
- 標的組織の肝臓では標識残留物は全残留物のなかで微量だった。
- アルトレノゲストと総ホルモン活性残留物の比率は、ブタの肝臓は 0.046、ウマの肝臓は 0.083 と決定された。
- ブタとウマとも脂肪と筋肉の残留物は低値で、標識と総残留物の標識比が決定できないため、定量限界が脂肪の MRL のみをブタとウマともにモニタリングの目的で提案される。
- ブタの検証済みルーチン分析方法は入手可能。
- 脂肪で検証されたウマのルーチン分析方法は入手可能。分析方法の定量の限界は肝臓では完全に検証されていないが、ブタの検証データがウマに認められている。

動物用医薬品委員会（the Committee for Medicinal Products for Veterinary Us）は、下記の表に従い、アルトレノゲストをブタとウマに含めることを、欧州委員会規則（EEC）No. 2377/90 の付録 I で推奨する。

薬理的 活性物質	標識残留物	動物種	MRL	標的組織	その他条件
アルトレノゲ スト	アルトレノゲ スト	ブタ	1 µg/kg 0.4 µg/kg	皮膚+脂肪 肝臓	指令 96/22/EC の 条項に基づき畜産 学的な目的のみで 使用
		ウマ	1 µg/kg 0.9 µg/kg	脂肪 肝臓	

これら、MRL 値に基づき、ウマの理論上の最大 1 日摂取量は薬理的 ADI の 98%、ブタの理論上の最大 1 日摂取量は薬理的 ADI の 93%とする。

原文目次

SUMMARY REPORT(3) 1
Conclusions and recommendation..... 5

略称等

略称等	正式名称(英語)	日本語訳
ADI	Acceptable Daily Intake	一日摂取許容量
CVMP	Committee for Medicinal Products for Veterinary Use	動物用医薬品委員会
DNA	Deoxyribo Nucleic Acid	デオキシリボ核酸
FAO	Food and Agriculture Organization	国際連合食糧農業機関
HPLC	High Performance Liquid Chromatography	高速液体クロマトグラフィー
IARC	International Agency for Research on Cancer	国際がん研究機関
ISO	International Organization for Standardization	国際標準化機構
JECFA	FAO/WHO Joint Expert Committee on Food Additives	FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議
LD ₅₀	Lethal Dose 50%	半数致死量
LOEL	Lowest Observed Effect Level	最小影響量
MRL	Maximum residue level	残留基準
MS	Mass Spectrometry	質量分析
NOEL	No Observed Effect Level	無影響量
SCVPH	Scientific Committee on Veterinary Measures relating to Public Health	獣医公衆衛生に関する科学委員会。
WHO	World Health Organization	世界保健機関

アルトレノゲストの毒性試験と結果の概要一覧

(評価書 : EMA, European public MRL assessment report (EPMAR))

試験種類	供試動物等	投与量 (投与期間等)	結果	和訳版 (ページ)	原文 (ページ)
急性毒性 (腹腔)	ラット		LD ₅₀ =176 mg/kg bw	3	3
急性毒性 (腹腔)	マウス		LD ₅₀ =233 mg/kg bw	3	3
急性毒性 (経口)	イヌ		400 mg/kg bw まで許容	3	3
反復投与 毒性 (経口)	ラット	2 ヶ月試験 : 0, 0.5, 2 mg/kg bw/day	NOAEL=0.5 mg/kg bw/日	4	4
反復投与 毒性 (経口)	ラット	13 週間試験 : 0, 1, 10, 100 mg/kg 飼料 (0.06 ~7.82 mg/kg bw/day に 相当)	NOAEL=0.06 mg/kg bw/日	4	4
反復投与 毒性 (経口)	ラット	1 年試験 : 0, 2, 10, 50 mg/kg 飼料 (0.15~4.58 mg/kg bw/day に相当)	NOAEL=4.3 mg/kg bw/日	4	4
反復投与 毒性 (経口)	イヌ	1 年試験 : 0, 0.04, 0.2, 1 mg/kg bw/day	LOAEL=0.04 mg/kg bw/日	4	4
耐性 (経口)	ブタ	4, 40, 200 µg /kg bw/day (3 ヶ月間)	ホルモン無作用量=4 µg/kg bw/day (卵巣、子宮、乳腺、 前立腺、精巣、精囊の 重量が減少)	4	4
生殖毒性 (経口)	ラット	一世代試験 : 25, 50, 100 mg /kg 飼料の混餌投与 二世代試験 : 0.4, 4, 40 mg /kg 飼料の混餌投与	NAOEL= 0.4 mg/kg 飼 料 (0.03 mg/kg bw/day に相当) (妊娠率の低下、精子 形成の抑制、産児数と 重量の減少、およびホ ルモン依存器官の重量 の減少に基づく)	4	4
催奇形性 (経口)	ラット、ブタ	二世代試験 (ラット) : 0.4, 4, 40 mg /kg飼料の 混餌投与 耐性試験 (ブタ) : 20 mg /day を妊娠 28~112 日 混餌投与	催奇形性は認められな かった。	4	4
遺伝毒性	エームス試験	代謝活性系の存在及び 非存在下で、濃度 10 ~ 10,000 µg/プレート	陰性	4	4

試験種類	供試動物等	投与量 (投与期間等)	結果	和訳版 (ページ)	原文 (ページ)
遺伝毒性	前進突然変異試験(マウスリンパ腫細胞 L5178Y 細胞の TK 遺伝子)	代謝活性系の存在下で濃度 30~100 µg/ml、代謝活性系の非存在下で濃度 22 ~ 70 µg/ml	代謝活性系の存在下：陽性 代謝活性系の非存在下：陰性	4	4
遺伝毒性	前進突然変異試験(チャイニーズハムスターの卵巣細胞 HGPRT 遺伝子)	代謝活性系の存在下で濃度 25 ~ 50 µg/ml、代謝活性系の非存在下で濃度 1 ~ 10 µ/ml	陰性	4	4
遺伝毒性	染色体異常試験(チャイニーズハムスターの卵巣細胞)	代謝活性系の存在下で濃度 5 ~ 50 µ/ml、代謝活性系の非存在下で濃度 1 ~ 10 µg/ml	陰性	4	4
遺伝毒性	DNA 修復試験(HeLa S3 細胞)	代謝活性系の存在及び非存在下で濃度 12.5~200 µg/ml	陰性	4	4
遺伝毒性	DNA 修復試験(ラット肝細胞初代培養)	濃度 0.01 ~ 2 µg/ml	陰性	4	4
遺伝毒性 (<i>in vivo</i>)	ラット染色体異常試験	単回投与(単回の胃内投与 100 mg/kg bw)	陰性	4	4
遺伝毒性 (<i>in vivo</i>)	ラット染色体異常試験	反復投与(1 日 1 回、4 日連続投与、25 または 50 mg/kg bw)	陰性	4	4
ADI	ヒト	ADI = 0.20 µg/kg bw (60 kg のヒトで 12 µg に相当) 根拠： 全体 NOAEL 4 µg/kg bw/day に全体の不確実係数 20 を適用した(種内の不確実係数 2、種間の不確実係数 10 とし、全体の不確実係数は 20 である)。		7	7

ヨーロッパ MRL 公開医薬品審査報告書(EPMAR)

アルトレノゲスト(ウマとブタ)

2012年2月1日、欧州委員会は、ヨーロッパ共同体で有効とされる EC 規則¹のウマとブタのアルトレノゲストの最大残留基準の改正を採択した。これらの最大残留基準は、好意的な意見と動物用医薬品委員会が発表した評価報告書を基本としている。

アルトレノゲストはウマとブタに発情の同期化のため経口投与される。

アルトレノゲストのウマとブタの最大残留基準は当初 2004 年に確立された²。

獣医学研究局（英国）が 2011 年 6 月 6 日に欧州医薬品審査庁にアルトレノゲストの最大残留基準を修正する要望を提出した。

入手可能な情報を基に、動物用医薬品委員会は 2011 年 10 月 13 日にアルトレノゲストのウマとブタの最大残留基準を修正することを推奨した。

続いて、欧州委員会は、2011 年 12 月 16 日にウマとブタの最大残留基準の修正を推奨した。同推奨は 2012 年 1 月 6 日に Standing Committee on Veterinary Medicinal Products（動物医薬品に関する常任委員会）によって承認され、欧州委員会によって 2012 年 2 月 1 日に採択された。

¹ 委員会規則 (EU) No 85/2012, O.J. L30, of 02.02.2012

² 委員会規則 (EU) No 85/2012, O.J. L30, of 02.02.2012

MRL 設定のための科学的討議のまとめ

物質名:	アルトレノゲスト
薬効クラス:	生殖器官に作用する化学物質
手続番号:	EU/ART11/11/188/VMD
申請者:	獣医学研究局
標的種:	ブタ、ウマ
用途:	発情期の同期化
投与の経路:	経口

1. はじめに(原文、1 ページ)

アルトレノゲスト (別名: アリトレンボロン) は 19-ノル-テストステロン系に属する合成トリエン型 C21 ステロイド性プロゲスト疑似薬である。経口活性の (プロ) ゲスタゲンである。全てのステロイド同様に、アルトレノゲストはその脂溶性により標的細胞に浸透し特異的受容体に結合する。獣医学では、アルトレノゲストは若い雌ブタや雌ウマに畜産学的目的で使用される (発情期の同期化)。

推奨用量は若い雌ブタで 20 mg/動物/日を 18 日間連続で経口投与し、雌ウマは 0.044 mg/kg 体重/日を 10 日から 15 日間経口投与する。

アルトレノゲストはこのほど、CVMP によって薬理的 ADI 0.04 µg/kg 体重、例 2.4 µg/ヒトが全体の ADI として確立された。

現在、アルトレノゲストは 2009 年 12 月 22 日発行の委員会規則 No 37/2010 添付表 1 に下記の表の通り含まれている。

薬理学活性物質	標識残留物	動物種	MRL	標的組織	その他条件	薬効の分類
アルトレノゲスト	アルトレノゲスト	ブタ	1 µg/kg 0.4 µg/kg	皮膚と脂肪、 肝臓	畜産学的目的 のみで指令 96/22/EC に準 じて使用	生殖器官に作 用する薬剤
		ウマ	1 µg/kg 0.9 µg/kg	脂肪 肝臓		

2011 年 6 月 6 日、英国は欧州医薬品審査庁の動物医薬品委員会 (CVMP) に、新しい情報に基づくアルトレノゲストのブタとウマの最大残留基準に関する意見を再調査する要望を提出した。

要望の裏付けとして、アルトレノゲストの MRL の設定以降、不確実係数が発生する可能性のある新しいアプローチが科学界で承認されたため、それがアルトレノゲストの ADI に影響する可能性があり、MRL を修正することになる、と UK は示した。さらに、医薬品の副作用調査データ、残留物のモニタリングの結果、そして残留物データは、以前は委員会によって評価されていない事が留意事項として提供された。

2. 科学的リスクの評価(原文、3 ページ)

2.1. 安全性の評価(原文、3 ページ)

英国からの要望に応じて、CVMP は ADI の由来とその目的のための不確実係数に焦点を当てて、これまでの安全性評価を再検討した。

2.1.1. 薬理学的特性の概要(原文、3 ページ)

作用機序を含む薬力学的特性

アルトレノゲストの薬理学的作用は多くの動物モデルで実証されている。最も重要な作用はプロゲスト疑似作用と抗性腺刺激ホルモン作用である。アルトレノゲストのエストロゲン作用、同化作用、アンドロゲン作用は弱く、コルチコイド又は抗炎症性作用はない。ホルモン無作用量 $4 \mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日は、月経3周期にわたりアルトレノゲストをサルに投与し確立された（月経周期の長さとは血清中ホルモン濃度への影響）。

ブタの耐容性試験で、アルトレノゲストのホルモン活性と直接関係している作用が発見された（卵巣、子宮、乳腺、前立腺、精巣、精囊の重量の減少と病理組織学的変化）。ホルモン無作用量 $4 \mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日は性成熟したブタにアルトレノゲストを $4 \mu\text{g}/\text{kg}$ 、 $40 \mu\text{g}/\text{kg}$ 又は $200 \mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日、3 ヶ月間経口投与した耐容性試験から確立された。

薬物動態学的特性

実験動物のアルトレノゲストによる薬物動態学の研究は入手可能なものが限られている。アルトレノゲストを単回経口投与した後、ラットはアルトレノゲストを主に胆汁を経由して（60%）糞便中に排出した。尿中の排出は、ほとんどが 24 時間で完了し、投与量の約 20%であった。

ブタの残留物データの総説は、トリチウム化したアルトレノゲストを経口投与した後の各動物の血漿の放射能データの限られた変動量を示している。1 日 20 mg のアルトレノゲストを 7 頭のブタに 7 日間経口投与した後の平均標準偏差は平均値の約 22%で、1 日 20 mg のアルトレノゲストを 12 頭のブタに 18 日間経口投与した後の平均標準偏差は平均の約 25%で 1 日 20 mg のアルトレノゲストを 14 頭のブタに 18 日間経口投与した後の平均標準偏差は平均の約 23%であった。

2.1.2. 薬理学的 ADI の計算(原文、3 ページ)

薬理学的 ADI の基となるのはサルとブタで観察された NOAEL $4.0 \mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日である。薬理学的 NOAEL は毒性学的影響の NOAEL と同じであると結論された。ADI の由来と ADI 設定のための不確実係数に関する考察については 2.1.4 章で記されている。

2.1.3. 毒性の概要(原文、3 ページ)

単回投与の毒性

アルトレノゲストの急性毒性についてはデータがほとんど入手できていない。腹腔内投与の LD_{50} 値はラットで $176 \text{ mg}/\text{kg}$ 体重、マウスで $233 \text{ mg}/\text{kg}$ 体重であった。イヌは経口投与で $400 \text{ mg}/\text{kg}$ 体重まで耐容した。

反復投与の毒性

アルトレノゲストの経口投与の反復毒性試験データはいくつか利用可能である。ラットでは、投与量 0、0.5、2 mg/kg 体重/日の 2 ヶ月間の試験で、NOAEL 0.5 mg/kg 体重/日であった。混餌濃度 0、1、10、100 mg/kg 飼料の 13 週間の混餌投与試験では、投与量は 0.06~7.82 mg/kg 体重/日に相当し、NOAEL は 0.06 mg/kg 体重/日であった。混餌濃度 0、2、10、50 mg/kg 飼料の 1 年間の混餌投与試験では、投与量は 0.15~4.58 mg/kg 体重/日に相当し、NOAEL は 4.3 mg/kg 体重/日であった。投与量 0、0.04、0.2、1 mg/kg 体重/日のイヌを用いた 1 年間の試験で LOAEL は 0.04 mg/kg 体重/日であった。

これらの試験で、アルトレノゲストの薬理学的作用に直接関連する作用が認められ（ホルモン依存性の臓器重量減少と組織学的変化）、全体的(overall) LOAEL は 0.04 mg/kg 体重/日であった。

標的種に対する耐容性

ブタによる耐容性試験で確認された主な作用はアルトレノゲストのホルモン活性と直接関係していた（卵巣、子宮、乳腺、前立腺、精巣、精囊の重量減少と組織学的変化）。ホルモンの無作用量 4 µg/kg 体重/日は、性成熟したブタにアルトレノゲストを 4 µg、40 µg/kg 又は 200 µg/kg 体重/日の用量で、3 ヶ月間経口投与した耐性試験から確立された。

発達毒性を含む生殖毒性

ラットに 25、50、100 mg/kg 飼料のアルトレノゲストを混餌投与した 1 世代繁殖試験および 0.4、4、40 mg/kg 飼料を混餌投与した 2 世代繁殖試験が行われている。これらの試験では、妊娠率の低下、精子形成の抑制、同腹児の数と重量の低下、及びホルモン依存器官の重量の低下がみられ、経口投与による NOAEL は 0.4 mg/kg 飼料（0.03 mg/kg 体重/日に相当）であった。ラットの 2 世代繁殖試験及びブタの妊娠 28 日から 112 日にアルトレノゲストを 20 mg/日を投与した耐容性試験では、催奇形性は見られなかった。

遺伝毒性と発がん性

一連の遺伝毒性試験がアルトレノゲストを使って行われた。*In vitro*では、エームス試験（濃度 10~10,000 µg/プレート、代謝活性系の存在及び非存在下で）、マウスリンパ腫 L5178Y 細胞 TK 遺伝子の前進突然変異試験（代謝活性系の存在下で濃度 30~100 µg/ml、代謝活性系の非存在下で濃度 22~70 µg/ml）、チャイニーズハムスター卵巣細胞 HGPRT 遺伝子の前進突然変異試験（代謝活性系の存在下で濃度 25~50 µg/ml、代謝活性系の非存在下で濃度 1~10 µg/ml）、チャイニーズハムスター卵巣細胞の染色体異常試験（代謝活性系の存在下で濃度 5~50 µg/ml、代謝活性系の非存在下で濃度 1~10 µg/ml）、HeLa S3 細胞の DNA 修復試験（代謝活性系の存在及び非存在下で濃度 12.5~200 µg/ml）及びラット肝細胞初代培養を用いた DNA 修復試験（濃度 0.01~2 µg/ml）が行われた。*in vivo*では、ラットを用いたアルトレノゲストの単回投与（胃内投与 100 mg/kg 体重の 1 用量）と反復投与（25 又は 50 mg/kg 体重を 1 日 1 回、4 日間連続投与）の染色体異常試験が行われた。

代謝活性系の存在下のマウスリンパ腫細胞 L5178Y の前進突然変異試験結果は陽性で、その他全ての試験の結果は陰性だった。概して、アルトレノゲストは遺伝毒性の可能性を示さないと結論された。結果、長期毒性試験/発がん性試験は要求されなかった。

アルトレノゲストは含まれていないが、1997 年から 1999 年の間に、ステロイドホルモンの遺伝毒性と発がん性の新しいデータが入手可能となった。主に 17β-エストラジオールについてのデータは、FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議（JECFA）、欧州委員会の公衆衛生に関する獣医対策科学委員会 Scientific Committee on Veterinary Measures Relating to Public Health（SCVPH）、国際がん研究機関（IARC）と CVMP（2.1.8 参照）にて再検討された。ステロイドホルモンは、*in vivo*での遺伝毒性作用に欠き、生理学的（ホルモン）反応に必要なとされる量をはるかに上回る用量や、長時間にわたり暴露された後のみに発がん性作用（又は発がんの可能性）があると 1999 年、CVMP は結論した。ステロイ

ドホルモンの腫瘍発生作用は直接的な遺伝毒性作用によるものでないという結論に基づき、その作用機序は閾値が存在する作用であるとみなされ、ADI 設定の障害になるとは考えられない。

免疫毒性と神経毒性を含むその他の作用に関する試験

免疫毒性又は神経毒性の特異の試験は行われていないが、標準的毒性試験で関連性のある作用が見られないため、それが許容される。

2.1.4. 毒性学的 ADI 又は代替の限界値の計算(原文、5 ページ)

薬理試験と毒性試験から得られた最も感受性の高い作用は同じ作用機序に基づくものであり、同じ全体的 (overall) NOAEL となっている。したがって、薬理学的 ADI と毒性学的 ADI は区別できない。

これまでの ADI は、種差に関する不確実係数 10 と個体差に関する不確実係数 10 から、種差と個体差に関する不確実係数 100 を用いて設定された。しかし、最初の ADI の設定以来、化学物質ごとの調整係数に基づいて、種差並びに個体差の標準的な不確実係数にとらわれない不確実係数を設定する方法が開発された(不確実性の評価の問題について 2005 年の IPCS/WHO の刊行物で特別の参考資料として作成された)。この方法に準じて、種差と個体差に関する不確実係数はそれぞれ 2 つの要素に分かれ、一方は薬力学的に関する不確実係数で、もう一方は薬物動態学的に関する不確実係数である。標準的な不確実係数の内部の係数の値の逸脱を正当化するために化学物質固有の情報が使われる。IPCS は、種差内で検討する場合、薬力学的に関する不確実係数 2.5 を、薬物動態学に関する不確実係数 4 を推奨し、個体差内では薬力学的に関する不確実係数 3.16 を、薬物動態学に関する不確実係数 3.16 を推奨している。これらの不確実係数を掛け合わせると、標準の不確実係数 100 になる。

アルトレノゲストについて、以下の知見が不確実係数設定に寄与する。

A. 種差—薬力学: リスク評価を行う際に毒性作用の機序が不明なことはよくある。アルトレノゲストの場合、毒性発現機序はプロゲステロン受容体の結合を必要とするホルモン活性に関連している。この過程は良く知られており、全ての哺乳類種 (および、その他の多くの種) で受け継がれている。この事実を基に、薬 (力学) 的要素に関しては他の化学物質と比較して不確実性は低い。

B. 種差—薬物動態学: 外来化学物質の代謝は動物種によって異なる。しかし、(天然) ホルモンの分泌と代謝の経路は動物種の間で共通しているので、ホルモン類似物質 (アルトレノゲストなど) の代謝もそれら動物種では同様の経路をたどることが予測される。この事実に基づいて、(薬物) 動態学的要素に関しては他の化学物質と比較して不確実性は低い。

C. 種差—薬物動態学: アルトレノゲストの薬物動態的挙動はブタとウマで類似するように思われる (2.1.1 に記載した)。ブタとウマに経口投与の後、濃度は 3 時間から 6 時間以内でピークに達し、比較的長い血漿の終末消失半減期を経て、血漿濃度は二相性で低下を示す。これらのデータは薬物動態学に関する限定的な種差の存在を支持するものである。

D. 種差—薬物動態学: 消費者は標的の種で作られる食品中の残留物に暴露されるが、ADI は通常、実験動物による試験から導かれる。標的の種で作られる代謝物が実験動物で (本質的に) 試験されることを確保するために、実験動物の比較代謝研究が行われ、代謝パターンの質的 (量的でない!) 比較が行われた。アルトレノゲストの場合、ブタが主な標的の種であるにもかかわらず、ADI はサルとブタの試験に基づき導かれていた。よって、ブタで形成されたアルトレノゲストの残留物の作用は推測することなく ADI に直接包含される。さらに、ブタのアルトレノゲストの NOAEL はサルの試験で確認され、全体的 (overall) NOAEL として ADI に用いられた。MRL 評価においてこれはめずらしい状況であり、不確実性が低いため、推測する必要性は低い。

E. 種差—薬力学+薬物動態学: 全体的 (overall) NOAEL は明確であると思われる。なぜなら、(1) 90

日またはより長期の試験が4種の動物で行われた(標準は2種)。(2)4種の動物全てにおいて一貫した作用が確認された。(3)全体的(overall)NOAELはサルとブタの2種の動物から導かれた。(4)全体的(overall)NOAELは薬理学上のNOAELと毒性学上のNOAELの双方である。アルトレノゲストの全体的(overall)NOAELが明確なので不確実性は低い。

F.種差—薬力学+薬物動態学: 様々な試験で投与量が異なるにもかかわらず、ホルモン作用の閾値は異なる動物種で非常に類似しているように思われる。サルとブタのNOAELは同じ0.004 mg/kg体重/日である。イヌのNOAELは設定出来なかったが、イヌのLOAELはブタのLOAELと同等であった。ラットの感受性は若干低いように見えたが、ラットのNOAEL(0.030 mg/kg体重/日)はブタのNOAELとLOAELの間であった。4種の動物によるこれらのデータによって、種差は小さい事が支持され、上記の作用機序の考察がより確かめられた。

G.種差—薬力学+薬物動態学: 一般に、ADIは小型の齧歯動物やイヌの試験に基づいている。アルトレノゲストの場合、全体的(overall)NOAELは齧歯動物などよりもヒトにより近い霊長類から導かれている。種の関係が近いほど推測するステップは少なくすむので、より不確実性は低い。

H.種差—薬力学+薬物動態学: アルトレノゲストと同じ作用機序をもつ合成黄体ホルモン薬であるノルジェストメットのヒト試験では、ヒトはサルと比べてそのホルモン作用の感受性が高くないことが示唆された。(CVMP MRL サマリーレポート EMEA/CVMP/208625/2004-FINAL、2005年版)

I.個体差—薬力学+薬物動態学: 個体差に関するデータは限られている。サルの試験で、個別のデータは提示されなかった。しかし、平均周期の長さの比較的小さい標準偏差と、0.004と0.0086 mg/kg体重/日の間に明らかな閾値が存在することから、個体差(intraindividual variation)は非常に小さいと結論された。

注：原文は intraindividual であるが、intraspecies の間違いの可能性がある。ここでは個体差と訳した。

J.個体差—薬力学+薬物動態学: ブタによる90日間の試験では、最低用量で影響が認められたブタはいなかったが、1つ上の用量では程度に差はあるが、全てのブタに影響が認められ。ブタによる別の試験では血漿中薬物動態に限られた個体差が認められた。ブタとサルのデータ(H)から、ブタとサルはアルトレノゲストへの暴露後の反応の程度は違っても、表れた影響の実際の閾値の差は非常にわずかであるように思われると結論される。

要約すると、不確実性が標準値より低いことを示唆する10の所見が出されている。

知見A、B及びGは理論的性質で、これらは他の実験的性質の知見により支持されている。

知見AからHは種差の不確実性に関連するもので、知見IとJは個体差の不確実性に関連している。薬力学と薬物動態学の双方の部分の不確実性が取り上げられている。

この標準の係数は、不確実性の確固とした定量化というよりは、むしろ任意の10x10の係数の更なる再分割にすぎないことは明らかである。同様に、特定の物質の不確実性を実際に定量化することは極めて困難である。アルトレノゲストの場合も、多くの知見で平均的な事例と比較し不確実性は小さいが、正確な定量化は達成されていない。しかし、不確実係数の相対的な減少は達成されたと思われる。

種差の係数

得られた知見AからH、及び検体の影響が霊長類を含め4種の動物で試験され、同様の閾値と同様の作用が見られたことを特に考慮し、種差の標準の係数10を2に引き下げることが同意された。最も感受性

の高い影響に関しては、平均的なヒトは、試験が行われた種の最も感受性が高い種よりも 2 倍以上感受性が高いとみなされているため、これでも慎重なアプローチと言える。

個体差の係数

知見 I と J は平均の場合と比較し個体差に関して低い不確実性を示しているが、種差よりは確固としたものではなく、アルトレノゲストのヒトでのデータは利用出来ない。従って、個体差には限界があることを示唆する証拠があるものの、入手できるデータは不確実係数の引き下げを正当化するには十分に確固たるものではないと考えられた。標準の不確実係数 10 は種差については維持された。

アルトレノゲストの全体の不確実係数

種差の不確実係数 2、個体差の不確実係数 10 から、全体の不確実係数は 20 である。これは、最も感受性の高い種の最も感受性の高いエンドポイントで作用を起こさないレベルよりも 20 倍低い ADI をもたらず。全体の不確実係数 20 は、アルトレノゲストの薬理的と毒性学的の全ての所見を代表すると考えられる。

全体的 (overall) NOAEL 4 µg/kg 体重/日に全体の不確実係数 20 を適用し、ADI は 0.20 µg/kg 体重が設定された (60 kg のヒトで 12 µg に相当)。

2.1.5. 残留物の微生物学的特性の要旨(原文、8 ページ)

提供されているデータはないが、この種類の物質には微生物学的作用を起こす可能性がないことが予想され、それが許容される。

2.1.6. 微生物学的 ADI の計算(原文、8 ページ)

この種類の物質には微生物学的作用が起こる可能性がないことが予想されるため、微生物学的 ADI は計算されなかった。

2.1.7. ヒトによる観測(原文、8 ページ)

アルトレノゲストのヒトへの作用に関するデータは提供されていない。

2.1.8. EU 又は国際的科学団体の所見(原文、8 ページ)

ステロイドホルモン (アルトレノゲストに特化してはいないが) の遺伝毒性と発がん性のデータが 1999 年の FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議 (JECFA)、1999 年度欧州委員会の公衆衛生に関する獣医政策科学委員会 Scientific Committee on Veterinary Measures Relating to Public Health (SCVPH)、1999 年には国際がん研究機関 (IARC) でレビューされ討議された。JECFA と IARC は、ステロイドホルモンの腫瘍発生作用、特に 17β-エストラジオールは、これら化合物の標的細胞における受容体を介した細胞分裂刺激の結果であると結論した。また、これら化合物の遺伝毒性は *in vivo* では認められず、腫瘍発生の要因とはならないと結論した。これらの結論は、CVMP の結論とも一致している。SCVPH はアルトレノゲストを特に検討しなかったが、評価した 6 種類のホルモン (17β-エストラジオール、テストステロン、プロゲステロン、トレンボロン、ゼラノールとメレンゲストロール) の毒性作用に閾値は同定出来ず、ADI は設定出来なかった。SCVPH は最初の見解を 2002 年に再検討し、未だ有効であると結論した。

2.1.9. ADI についての全体の結論(原文、8 ページ)

薬理試験と毒性試験の両方で、アルトレノゲストの最も感受性の高い作用はそのホルモン活性に関連していることが示され、全体的 (overall) NOAEL は $4 \mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日であった。不確実係数 20 を用い、全体の ADI は $0.2 \mu\text{g}/\text{kg}$ 体重と設定された。この物質の微生物学的作用は予想されないため、微生物学的 ADI は設定されなかった。

2.2. 残留物評価(原文、8 ページ)

2.2.1. 標的種の薬物動態(原文、8 ページ)

放射標識したアルトレノゲストを推奨用量で、ブタとウマに経口投与した後、アルトレノゲストは直ぐに吸収され、3 時間から 6 時間でピークに達する。長期の投与で、ブタには血漿に蓄積がみられた。ブタは排出半減期が約 10 日間で、ブタもウマも血漿濃度は二相性に下降する。ブタとウマとも放射能は主に肝臓に分布し、腎臓、筋肉、脂肪への分布は低値だった。排泄データは限られている。ブタの主な排泄経路は胆汁を介した糞便中で、約 20% が尿中に排出される。ブタでの 2 回目の実験では、尿が主な排泄経路だった (60%)。ウマは、24 時間で投与量の約 44% が尿から排出され、約 53% が糞便中から排出された。

血漿、尿と組織においては、代謝産物の小分画のみ抽出と同定が可能であるが、全てのステロイド同様に、アルトレノゲストの主な代謝経路は、酸化と抱合であることをデータは示唆している。脱アルキル反応 (トレンボロンを生成) は起こらない。

アルトレノゲストの代謝産物のホルモン活性についての情報も提供された。他のステロイドの代謝と同様に、代謝により極性の増加した水酸化代謝産物と抱合体が生じるため、アルトレノゲストと比較して代謝産物の低下したホルモン活性が予想される。これらの極性代謝産物の脂溶性は低く、受容体に対する親和性も低いであろう。その他ステロイドの 6-ヒドロキシル化は、ホルモン活性の損失 (1%未満) を招く。しかし、アルトレノゲストのグルクロン酸抱合体は腸内での脱抱合の後、ホルモン活性があると予想される。4.5 時間で屠殺された雌ブタの肝臓の極性及び非イオン性の相対的に極性の分画の黄体ホルモン作用が、ヒトのプロゲステロン受容体 B を含有するチャイニーズハムスターの卵巣細胞、マウスの乳腺腫瘍ウイルスプロモーターとルシフェラーゼ・レポーター遺伝子を使って測定された。アルトレノゲストと比較して非加水分解性の極性分画は非常に低い活性を示した。グルクロニド抱合体の酵素的加水分解の後、活性はアルトレノゲストの活性の約 14% に上昇した。非イオン性の相対的に極性の分画はアルトレノゲストの活性の約 21% を示した。これは、アルトレノゲストの含有量に基づいて予想される活性を下回っている。アルトレノゲスト異性体のホルモン活性は非常に低かった。この試験における個別の代謝産物のホルモン活性についての情報は、それぞれの代謝産物の得られる量がわずかであるため、提供されていない。

2.2.2. 残留物消失試験(原文、9 ページ)

放射標識及び非標識のアルトレノゲストを用いたブタの残留物消失試験はいくつか実施されている。

ブタに推奨用量 (20 mg/日、18 日間連続) の経口投与の後、6 時間、5 日、10 日、15 日、30 日、60 日、179 日間の休薬期間の後、屠殺した。最も高値の残留物量は肝臓に見られ (6 時間で $476 \mu\text{g}/\text{kg}$ 、5 日で $105 \mu\text{g}/\text{kg}$ に減少、15 日で $54 \mu\text{g}/\text{kg}$ 、30 日以降で $30 \mu\text{g}/\text{kg}$ 未満に減少)、また腎臓の残留物量は低値だった (6 時間で $210 \mu\text{g}/\text{kg}$ 、5 日で $23 \mu\text{g}/\text{kg}$ に下降し、15 日以降は $15 \mu\text{g}/\text{kg}$ 未満に減少した)。筋肉と脂肪では、総残留量は全ての時点で $2 \mu\text{g}/\text{kg}$ 未満だった。15 日と 30 日の肝臓と腎臓の検体からはアルトレノゲストは測定されなかった。

2 回目の放射標識残留試験では、ブタに推奨用量を経口投与 (20 mg/日、18 日連続) し、4.5 時間、7 日及び 15 日間の休薬期間の後、屠殺した。最も高い残留量を示したのは肝臓で (4.5 時間で $1444 \mu\text{g}/\text{kg}$ 、7 日後で $122 \mu\text{g}/\text{kg}$ に減少し、15 日で $62 \mu\text{g}/\text{kg}$ に減少)、腎臓の残留量は低値であった (4.5 時間で 372

μg/kg、7日で75 μg/kgに減少し、15日で11.7 μg/kgに減少)。筋肉の総残留量は4.5時間で30 μg/kgから7日で7.1 μg/kgに減少し、15日で3.6 μg/kgに減少した。脂肪のついた皮膚では、総残留量は、4.5時間で91 μg/kgから、7日で3.6 μg/kg、15日で1.6 μg/kgに減少した。これら組織の主要な非結合の代謝産物が測定された。4.5時間の肝臓の代謝産物は質量分析法（MS）で一部同定された。極性の代謝産物は、アルトレノゲストのグルタチオンとグルクロニド抱合体、アルトレノゲストの異性体、アルトレノゲストの水酸化体で主に構成されている。非イオン性の相対的に極性の代謝産物は、アルトレノゲスト、アルトレノゲスト異性体、アルトレノゲストの水酸化体から成る。非極性分画では代謝産物は測定されなかった。アルトレノゲストの異性体とその抱合体は光の影響下でアルトレノゲストとその抱合体から形成される。肝臓のアルトレノゲストの濃度は4.5時間で196 μg/kgから7日に0.74 μg/kg、15日に0.25 μg/kgに減少している。腎臓の濃度は4.5時間で11.6 μg/kgから7日で0.26 μg/kgに減少した。筋肉は4.5時間で6.7 μg/kg、脂肪のついた皮膚は4.5時間で58.7 μg/kgだった。

以前はCVMPにより評価されなかったブタの非放射標識の残留試験が2試験提供された。

1回目の試験では、ブタに推奨用量を経口投与（20 mg/日、18日間連続）し、1日、7日、14日と21日間の休薬期間の後、屠殺した。1日目に、アルトレノゲストの平均濃度は筋肉で4.70 μg/kg、皮膚と脂肪で55.27 μg/kg、肝臓で85.37 μg/kg、腎臓で9.16 μg/kgであった。後続の全ての屠殺日で全ての組織の検体のアルトレノゲストの残留濃度はLOQの1.25 μg/kg未満であった。

2回目のブタの非放射標識の残留試験では、ブタに推奨用量を投与し、7日、14日、21日に屠殺した。この試験で、肝臓の検体のみ、より低い定量限界値0.125 μg/kgを有する分析法を使って分析された。アルトレノゲストの濃度は7日で1.045～2.519 μg/kg、14日で0.639～1.471 μg/kg、そして21日で定量限界値未満～0.229 μg/kgの幅を示した。

放射標識及び非標識されたアルトレノゲストを用いたウマの残留試験が、推奨用量（0.044 mg/kg 体重/日、10日連続）で実施された。放射標識されたアルトレノゲストの試験は、ウマを4時間と15日間の休薬期間の後、屠殺して行われた。4時間では、最も高値の総残留量は肝臓で検出され（1062 μg/kg）、腎臓（84.1 μg/kg）、筋肉（12.4 μg/kg）、脂肪（63.9 μg/kg）では低値だった。いずれも残留量は15日の休薬で肝臓で17.8 μg/kg、腎臓で1.1 μg/kg、筋肉で0.2 μg/kg、脂肪で0.5 μg/kgに減少した。

臓器摘出の後、15日の肝臓の検体のアルトレノゲストを分析した。親化合物とその他の非極性の代謝産物が抽出された分画の一部として、アルトレノゲストは肝臓の総放射線の5%未満を示した（1 μg/kg 未満に相当）。実際、15日の肝臓の親化合物は0.12 μg/kg 未満であった（アルトレノゲストの同重体を含む）。

これら分画と代謝産物の追加試験で、極性分画におけるアルトレノゲストのグルタチオンと加水分解性抱合体の存在が確認された。また、追加の代謝産物の一部がグルタチオン抱合体として特定された。15日に屠殺した雌ウマの腎臓、筋肉、脂肪におけるアルトレノゲストの量は測定されなかった。1日と15日に屠殺した雌ウマの肝臓の分画とピークにおけるホルモン活性の情報は、残留物が低値でマトリクス効果のため入手できなかった。

非標識のアルトレノゲストを用いた試験では、ウマを4時間、2日と14日間の休薬期間の後屠殺した。4時間のみ、肝臓（5.5～17 μg/kg）、腎臓（4.3～7.5 μg/kg）、筋肉（1.6～5.8 μg/kg）及び脂肪（6.7～63.6 μg/kg）でアルトレノゲストが検出された。その後の時点で、アルトレノゲストの残留量は定量限界値以下であった（筋肉は1 μg/kg、肝臓、腎臓、脂肪は2 μg/kg）。

以前はCVMPでは評価されていなかったウマの非放射標識の残留試験では、推奨用量を推奨期間経口投与し、ウマを7日、14日と21日に屠殺した。肝臓、腎臓及び腎周囲脂肪から得た全ての組織の検体中のアルトレノゲスト濃度は、2.81 μg/kgの濃度を含んでいた7日に屠殺したウマの脂肪検体を除き、全ての時点でLOQの1 μg/kg 未満だった。

標識残留物と標的細胞の選択

標的組織である肝臓において総残留量のごくわずかな部分を構成し、腎臓、筋肉、脂肪では測定不可能であったが、親化合物であるアルトレノゲストとして標識残留物が以前設定された。新しいデータの評価からは、アルトレノゲストが残留するので、標識残留物をアルトレノゲストより変更する理由がない。

肝臓における総残留物に対する標識残留物の比率は、投薬 15 日後の残留データに基づき設定された。アルトレノゲストの残留値は、放射能に基づき異なる肝臓の HPLC 分画から定量された ($[^{14}\text{C}]$ アルトレノゲスト μg 当量で表記)。その後、(*in vitro* の細胞を用いた試験 (cell based assay) におけるヒトのプロゲスターゲン受容体 B の活性化に基づき、) 分画のプロゲスターゲン活性が測定され、親化合物のアルトレノゲストと比較された。これにより、分画のホルモン活性残留物は、 kg 当たりのアルトレノゲスト μg 当量で表記されることが認められた。この方法により、肝臓における残留物の総ホルモン活性の測定が可能となった (アルトレノゲストの μg 当量で表記)。総残留物に対する標識残留物の比率は、総ホルモン活性残留物の濃度に対するアルトレノゲストの濃度の比較により設定された。

この方法により、(ホルモン活性を有する)総残留物に対する標識残留物の比率は、ブタの肝臓では 0.046、ウマの肝臓では 0.083 と設定された。

いずれの動物種でも、存在する残留物の量が低値のため、腎臓、脂肪と筋肉においては、総残留物に対する標識残留物の比率は測定されていない。

いずれの時点でも、筋肉と脂肪中の残留物は非常に低値であるため、これら組織の MRL は設定されなかった。しかし、残留調査の目的に関しては、これらの組織の少なくとも 1 つに MRL を設定する必要がある。アルトレノゲストの場合、アルトレノゲストは脂肪親和性の化合物であり、筋肉の残留物よりも脂肪の残留物が高値のため、筋肉よりも脂肪がより適切である。

2.2.3. モニタリング又は暴露データ(原文、11 ページ)

ファーマコビジランス・データ (2010 年までの多くのアルトレノゲスト含有の製品の用途を網羅する定期的安全性最新報告 PSUR) では、食品中の残留物検出に関わる疑わしい副作用は報告されていないと示している。

EU のデータベースにある残留物のサーベイランスデータには過去 5 年間のアルトレノゲストの不適合な作用はないと表示されている。

2.2.4. 残留物モニタリングの解析法(原文、11 ページ)

ブタの肝臓、腎臓、皮膚、脂肪と筋肉、ウマの腎臓、肝臓と脂肪のアルトレノゲストの残留物を設定するための、ISO 基準 78/2 に準じた MS の検出を用いたルーチンの HPLC 解析法の説明は入手可能である。ブタの筋肉、脂肪、皮膚と腎臓の定量化の限界値は $1.0 \mu\text{g}/\text{kg}$ 、ブタの肝臓は $0.2 \mu\text{g}/\text{kg}$ 、ウマの脂肪、肝臓と腎臓は $1.0 \mu\text{g}/\text{kg}$ で、ブタとウマでこの方法は検証された。この報告書で提案される MRL の値を基に、この定量化の限界値は容認される。更なる検証は必要ないとみなされる。この方法は、方法の全体の適合性を確認する関連の European Reference Laboratory (欧州レファランス・ラボラトリー) によってレビューされている。

2.2.5. EU 又は国際科学機関の所見 (原文、11 ページ)

他の国際委員会の評価は入手出来なかった。

3. リスク管理の留意事項(原文、12 ページ)

3.1. 産業用食品加工で使用される微生物の及ぼす影響(原文、12 ページ)

レビューの為のデータは入手可能でないが、物質の性質からそうしたデータは必要ないとみなされている。

3.2. 最大残留基準を設定するための関連のリスク管理の留意事項(原文、12 ページ)

そのような留意事項は特定されていない。

3.3. MRL の同化(原文、12 ページ)

安全性評価のレビューに引き続き ADI は 5 倍に増加した。ホルモン活性を有する総残留物に対する標識残留物の既存の比率を適用し、MRL を 5 倍までに増加する余地があると結論づけられる。しかし、ADI の一部を予期せぬ事態又は状況の変化から開放するために、MRL を 4 倍だけ増加することが推奨される。

前回の評価では CVMP は、腎臓と筋肉の組織の残留物の値は非常に低いため、残留物のサーベイランスには不適切であるとみなし、腎臓と筋肉の MRL を推奨しなかった。これら組織の MRL の設定には、既に承認された製品の新しい残留消失試験を必要とし、消費者の安全を守る事への更なる貢献にはならない。その結果、腎臓の MRL の設定は推奨されていない。脂肪の MRL は定量化の限界値に基づいて前回推奨された。

上記の留意事項から、CVMP はブタの皮膚と脂肪の MRL を 4 µg/kg、肝臓を 2 µg/kg に再計算した。ウマの脂肪と肝臓の MRL も 4 µg/kg と再計算された。これらの値の端数は切捨てられている。

理論上の 1 日最大摂取量の計算

アルトレノゲストは腎臓、筋肉、脂肪で定量化することができない中で、理論上の 1 日最大摂取量を計算する際にこれら組織のホルモン活性残留物を考慮することが重要であるとみなされた。そのために、肝臓の摂取による残留物の 1 日摂取量がまず初めに通常の方法で導き出された。全体の残留物の相対的な分布を設定するために、腎臓、筋肉と脂肪の総残留物量と肝臓の残留物量が比較された。ホルモン活性残留物の分布は全体の残留物の分布に匹敵し、腎臓、筋肉と脂肪のホルモン活性残留物の基準は肝臓とその他の組織の間の残留物の分布に基づき推定された。

ブタの肝臓の摂取から得たホルモン活性残留物の 1 日摂取量の計算:

組織	MRL (µg/kg)	M:T (アルトレノ ゲスト: ホルモン 活性残留物)	総ホルモン活性残 留物 (µg/kg)	消費量 (kg)	合計摂取量 (µg)
肝臓	2	0.046	43.5	0.1	4.4

ブタの組織の摂取から得たホルモン活性残留物の 1 日摂取量の計算:

組織	15 日目の総 残留量 (µg/kg)	肝臓と比較 した総残留 物の分画	ホルモン活 性残留物 (µg/kg)	消費量 (kg)	ホルンモン活 性残留物の 1 日摂取量 (µg)	% ADI

肝臓	6.5	1.0	43.5	0.1	4.4	37
腎臓	3.8	0.58	25.2	0.05	1.3	11
筋肉	2.0	0.31	13.5	0.3	4.0	33
脂肪	1.3	0.2	8.7	0.05	0.4	3
					ADI の合計%	84

ウマの肝臓の摂取から得たホルモン活性残留物の 1 日摂取量の計算:

組織	MRL (µg/kg)	M:T (アルトレノ ゲスト: ホルモン 活性残留物)	総ホルモン活性残 留物 (µg/kg)	消費量 (kg)	総摂取量 (µg)
肝臓	4	0.083	48.2	0.1	4.8

ウマの組織の摂取から得たホルモン活性残留物の 1 日摂取量の計算:

組織	15 日目の総 残留量 (µg/kg)	肝臓と比較 した総残留 物の分画	ホルモン活 性残留物 (µg/kg)	消費量 (kg)	ホルンモン活 性残留物の 1 日摂取量 (µg)	% ADI
肝臓	0.96	1.0	48.2	0.1	4.8	40
腎臓	0.55	0.57	27.5	0.05	1.4	12
筋肉	0.2	0.21	10.1	0.3	3.0	25
脂肪	0.5	0.52	25.1	0.05	1.3	11
					ADI の合計%	88

これら MRL に基づいて、最悪の場合の理論上の 1 日摂取量はブタが 84%、ウマが 88%である。この計算された摂取量は腎臓、筋肉、脂肪のホルモン活性残留物の摂取量を網羅している。

3.4. MRL の外挿の可能性における留意事項(原文、13 ページ)

委員会規則(EU) No 470/09 の第五条に沿って、欧州委員会は、ヒトの健康を高水準で守りながら食糧生産動物に影響する諸条件の動物用医薬品の有用性を確保することを視野にいれて、既存の MRL を他の種並びに食糧に更に外挿する可能性を検討した。

発情の同期化が行われる他の食糧生産種は反すう動物（ウシ、ヒツジとヤギ）がある。しかし、反すう動物に関する薬物動態学的又は残留データは入手できなかった。こうしたデータがなく、反すう動物の消化器官解剖学と生理学の特異性を考慮する中で、経口投与された物質アルトレノゲストの反すう動物における薬力学的挙動が、データが入手できた動物種と同様の挙動であるという結論の根拠とするには、十分な科学的根拠は確認されなかった。よって、反すう動物への MRL の外挿は推奨されていない。

繁殖周期は、ほ乳類と比較して鳥類及び魚類では著しく異なり、アルトレノゲストは、鳥類又は魚類に有効な畜産学的ツールを代表するとはみなされない。いずれの場合も鳥類と魚類への外挿は有効性の観点からは支持されない。

3.5. 最大残留基準の設定についての結論と推奨(原文、14 ページ)

- 洗練された不確実係数 20 を使い、ADI 0.2 µg/kg 体重 (例: 1.2 µg/ヒト) がアルトレノゲストの全体の ADI に設定された。
- 親化合物アルトレノゲストは標識残留物として留保された。
- 15 日目の肝臓でホルモン活性残留物に対する標識残留物の比率が計算され、ブタは 0.046、ウマは 0.083 であった。
- 残留物の濃度は両動物種とも腎臓、脂肪、筋肉で一貫して低いが、屠体の残留物モニタリングの標的組織として脂肪が選択された。
- 他の組織のホルモン活性残留物の残留物は肝臓の値と比較して定量化された。
- アルトレノゲストの残留物のモニタリングのための検証されたルーチンの分析方法は食用のブタとウマの肝臓と脂肪で入手可能である。
- 適切なデータが不在のため、ブタとウマ以外の動物種に MRL を外挿することは推奨されなかった。

上記を考慮し、欧州委員会はアルトレノゲストの最大残留基準を下記の表に準じて修正することを推奨する。

薬学的活性物質	標識残留物	動物種	MRL	標的細胞	その他の条件	薬効の分類
アルトレノゲスト	アルトレノゲスト	ブタ	4 µg/kg 2 µg/kg	皮膚と脂肪、 肝臓	指令 96/22/EC の条項に基づ き畜産学的な 目的のみで使 用	生殖器官に作 用する化学物 質
		ウマ	4 µg/kg 4 µg/kg	脂肪 肝臓		

4. 手続きに関する参考情報(原文、15 ページ)

要望の提出 2011 年 6 月 6 日

物質の評価にとられた段取り

評価開始日: 2011 年 7 月 7 日

CVMP の意見採択: 2011 年 12 月 12 日

原文目次

Summary of the scientific discussion for the establishment of MRLs.....	2
1.Introduction	2
2.Scientific risk assessment	3
2.1.1. Overview of pharmacological properties.....	3
2.1.2. Calculation of pharmacological ADI, if relevant.....	3
2.1.3. Overview of toxicology	3
2.1.4. Calculation of the toxicological ADI or alternative limit	5
2.1.5. Overview of microbiological properties of residues	8
2.1.6. Calculation of microbiological ADI.....	8
2.1.7. Observations in humans.....	8
2.1.8. Findings of EU or international scientific bodies.....	8
2.1.9. Overall conclusions on the ADI	8
2.2.Residues assessment	8
2.2.1. Pharmacokinetics in target species.....	8
2.2.2. Residue depletion studies	9
2.2.3. Monitoring or exposure data	11
2.2.4. Analytical method for monitoring of residues.....	11
2.2.5. Findings of EU or international scientific bodies.....	11
3.Risk management considerations	12
3.1.Potential effects on the microorganisms used for industrial food processing	12
3.2.Other relevant risk management considerations for the establishment of maximum residue limits.....	12
3.3.Elaboration of MRLs.....	12
3.4.Considerations on possible extrapolation of MRLs	13
3.5.Conclusions and recommendation for the establishment of maximum residue limits.....	14
4.Background information on the procedure	15

略称等

略称等	正式名称(英語)	日本語訳
ADI	Acceptable Daily Intake	一日摂取許容量
CVMP	Committee for Medicinal Products for Veterinary Use	動物用医薬品委員会
DNA	Deoxyribo Nucleic Acid	デオキシリボ核酸
FAO	Food and Agriculture Organization	国際連合食糧農業機関
HPLC	High Performance Liquid Chromatography	高速液体クロマトグラフィー
IARC	International Agency for Research on Cancer	国際がん研究機関
IPCS	International Programme on Chemical Safety	国際化学物質安全性計画
ISO	International Organization for Standardization	国際標準化機構
JECFA	FAO/WHO Joint Expert Committee on Food Additives	FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議
LD50	Lethal Dose 50%	半数致死量
LOAEL	Lowest Observed Adverse Effect Level	最小毒性量
MRL	Maximum residue level	残留基準
MS	Mass Spectrometry	質量分析
NOAEL	No Observed Adverse Effect Level	無毒性量
SCVPH	Scientific Committee on Veterinary Measures relating to Public Health	獣医公衆衛生に関する科学委員会.
WHO	World Health Organization	世界保健機関