

食 品 安 全 委 員 会 農 薬 専 門 調 査 会

第 32 回 会 合 議 事 録

1. 日時 平成 17 年 7 月 6 日（水） 14:00 ～17:40

2. 場所 食品安全委員会中会議室

3. 議事

（１）農薬（オリサストロビン、ピラクロストロビン）の食品健康影響評価について

（２）その他

4. 出席者

（専門委員）

鈴木座長、石井専門委員、江馬専門委員、小澤専門委員、高木専門委員、
武田専門委員、長尾専門委員、林専門委員、平塚専門委員、廣瀬専門委員、
吉田専門委員

（食品安全委員会委員）

本間委員、見上委員

（事務局）

一色事務局次長、村上評価課長、木下課長補佐

5. 配布資料

資料 1 農薬専門調査会での審議状況一覧

資料 2 オリサストロビン安全性評価資料（非公表）

資料 3 ピラクロストロビン安全性評価資料（非公表）

6. 議事内容

○鈴木座長 それでは、第 32 回「食品安全委員会農薬専門調査会」を開催いたします。

本日は 11 名の専門委員に出席いただいております。

開催通知等で御連絡いたしましたように、本日の会議につきましては非公開で行いますので、よろしくお願いいたします。

まず、事務局より資料の確認をお願いいたします。

○木下課長補佐 資料の確認をお願いいたします。

お手元に議事次第、「農薬専門調査会」専門委員名簿、座席表のほかに、資料 1 として「農薬専門調査会での審議状況一覧（H17 年 7 月 6 日現在）」。

これは後ほどお読みいただければよろしいかと思います。

資料 2 として、オリスastrobin の農薬評価書たたき台。

資料 3 として、ピラクロstrobin の農薬評価書たたき台を配布してございますので、御確認をお願いいたします。

また、本日の会議には「食品安全委員会」から本間委員が、また後ほど見上委員が参加される予定です。

また、関係省庁からオブザーバーとして厚生労働省、農林水産省の担当の方も出席しておりますので、あらかじめ御報告申し上げます。

○鈴木座長 ありがとうございます。それでは、早速審議に入らせていただきます。

議題 1 の「農薬（オリスastrobin、ピラクロstrobin）の食品健康影響評価について」を始めます。

まず、経緯も含め、事務局より御説明いただきたいと思います。

○木下課長補佐 まず、オリスastrobin につきましては、農薬取締法に基づく新規登録申請中の農薬でございます。平成 16 年 2 月 3 日付けで厚生労働大臣より意見聴取されたものです。

同年 4 月 7 日の第 9 回「農薬専門調査会」での審議を受け、平成 17 年 3 月 29 日に追加資料が提出されたものでございます。

また、ピラクロstrobin につきましては、こちらも農薬取締法に基づく新規登録申請中の農薬で、平成 15 年 11 月 27 日付けで厚生労働大臣より意見聴取されたものです。

これは、平成 16 年 1 月 14 日の第 5 回、また 16 年 6 月 9 日の第 12 回「農薬専門調査会」で審議を受けまして、平成 17 年 3 月 29 日に追加資料が提出されたものでございます。

これらの評価資料につきましては、事前に送付いたしまして、各分野ごとに御確認いただいたところでございます。

また、配布いたしました農薬評価書のたたき台につきましては、各専門委員からのさま

ざまな御意見を事前にいただき、それを見え消し状にして配布してございます。

更に、追加資料の概要をテーブルに配布してございます。

また、予備の生データフルセットを左のテーブルに、参考として農薬登録申請に係るガイドラインを各テーブルに置いてございます。

なお、ピラクロストロビンにつきましては、いわゆるポジティブリスト制度導入のための暫定基準案が厚生労働省より公表されておりますが、現時点では厚生労働大臣より意見聴取がされておらず、データも提出されていないことから、今回は意見聴取された部分のみの審議をお願いいたします。

よろしくお願いいたします。

○鈴木座長 どうもありがとうございました。

以上のような経過の中で、ピラクロストロビンが 2 回、オリサストロビンが 1 回審議しておりまして、その間に母核が類似していることに加えて、毒性の見られる部分にも共通点が見られるというようなことで、これらを各剤別々にコメントを出しているとなかなか理解が難しいので、同時に審議したり、あるいは共通の問題として機序を解明してもらった方がよいのではないかとこのころに意見が到達いたしましたので、今回、2 剤に共通する問題として、特に十二指腸の肥厚、それから過形成に関して、一部鉄の代謝を介して貧血の機序につながるところがあるんですが、それについてまとまったものが出てきておりますので、その点から議論を始めたいと思いますが、よろしゅうございますか。資料としては、皆さんのお手元に「ストロビルリン系化合物（ピラクロストロビン、オリサストロビン）の十二指腸肥厚／過形成の総合考察」というものがあると思うんです。それから皆さんのお手元に届いていると思うのですが、今言ったタイトルの資料の最初の要約の部分があると思います。これを基に審議をしたいと思うのですが、それをおけば大概の共通点からがんの問題等が解消できると思うので、後の各剤の審議が非常に楽になるのではないかと考えているんですが、よろしいですか。

それでは、よろしければ、この形で総合考察から審議を始めたいと思います。

一応、2 ページ目のところに鉄の代謝に関連して食餌中の三価の鉄が腸管で二価に変わって、その後、吸収されていく過程でさまざまな数種類のトランスポーターで吸収される過程がある。

それから、過剰の鉄はフェリチンの形でとどまるけれども、それらは腸管では外に出てしまい、それから血中に入るとトランスフェリンとの関係で、トランスフェリン・リセプターを持っているものは細胞の中に取り込まれるし、更にその後でエンドソームからの

メタルトランスポーターによって、水素のイオンのシンポーターなんです、これが働いて吸収されていく。

この剤のところでは、その吸収過程がどこでおかしくなっているらしいということと、十二指腸の上皮の増殖が何で起こるのかというようなことについて今回説明をしたということで、次のページを見ていただきますと、1 番から 12 番まで、共通の機序として考えられる部分をまとめてくれてありますので、例えば、この「1 . 血清鉄濃度低下と十二指腸重量増加の確認」といったようなところから簡単に説明をいただいて、一つずつ確認していきたいと思います。

そうしますと、4 ページ目の「1 . 血清鉄濃度低下と十二指腸重量増加の確認」というところなんです、これはどなたにお願いしましょうか。吉田さんですか。

○吉田専門委員 そういたしましたら、今回提出された資料の最初の「1 . 血清鉄濃度低下と十二指腸重量増加の確認」の実験について御説明いたします。

これは、ラットを用いまして 14 日間混餌投与をしております、投与量は 0 、10、100 、2500 ppm です。

投与方法としては簡単でして、14 日間投与して、14 日目に十二指腸の重量をはかり、7 日目と 14 日目に血清中の血濃度をはかったということです。

その結果につきましては、表 1 に記載されておまして、最高用量群 2500 ppm で 7 日目で既に血清鉄が下がっており、そのほか不飽和鉄結合能が上がり、トランスフェリンが上がり、十二指腸重量も既に絶対重量値、相対重量値ともに上がっているという結果で、確かにこの剤の、短期間で血清鉄濃度が下がり、十二指腸重量が上がるということは、この表示からは確かだと思います。

この実験は、非常に単純な、明快な結果だと思います。

○鈴木座長 これは多分、実際に試験があつて、資料も幾つかというところが、この黒い表紙のファイルの中には幾つか入ってきているものがあつて、その抄録ということなので、さわりだけということにはなっているんですが、多分資料 24 だったと思います。520F ですから、これはオリサストロビンの方ですね。

○吉田専門委員 済みません、3 番オリサストロビンですね。520F ですから、ピラクロストロビン。

○廣瀬専門委員 いや、オリサストロビンです。

○吉田専門委員 済みません。

○鈴木座長 その意味では、2500 ppm 辺りのところに明瞭な影響を示すところがあつて、

それより低いところ、100 ppm 以下ではこういった影響は見られないというふうに考えてよいのだと思います。

これは特に問題はなくて、何回かやっている中で、この 2500 ppm というのが結構実験としては何回か出てくるところなので、これでよいのかなというふうに思うのですが、御意見のある方はございますか。

この現象を基にして、次の話のところで更にどういう言葉という話が出てくるんですが、2 番目の問題としては「血清鉄濃度低下、十二指腸重量増加、上皮細胞増殖活性は投与 2 日後にみられる」ということで、一体この変化がどのくらいから出てくるのかというようなことについてまとめているようでございます。

次も、よろしくお願いいたします。

○吉田専門委員 今、座長がおっしゃった実験を、やはりラットではかりまして、これも先ほどと同じ 520F ですから、オリサストロビンを用いて行っております。

投与量は、1 の実験で影響が出ました 2500 ppm の 1 ドーズです。

投与期間は、先ほど十二指腸重量が増加し、血清鉄濃度が下がった 7 日間を投与いたしまして、その後、28 日間回復性について調べております。7 日間で、投与 2 日、4 日、7 日で血清鉄、十二指腸重量、BrdU による十二指腸の増殖活性と、PCNA による増殖活性の 2 つの増殖活性と、あとアポトーシスの出現頻度について調べております。また、回復期間中におきまして、投与終了後、2 日、4 日、7 日、14 日、28 日と調べております。

結果ですけれども、結果につきましては 5 ページの表 2 にまとめられております。

まず、血清鉄濃度は 2 日目から下がり、投与終了後は 7 日目まで下がるんですが、投与が終了して 2 日目では既に元に回復しているという結果です。

十二指腸重量につきましては、投与 2 日で既に有意に上がってきて、回復期間の 7 日目まで上がっていますが、14 日からは影響がない。投与終了してから 1 週間、重量増加は続いたけれども、その後回復したという結果です。

BrdU と PCNA が同じような結果が出ておりまして、やはり投与 7 日、血清鉄が下がっている間については上がったけれども、回復期間で調べたところ、対照群との間に有意な差はないということなので、7 日間だけターブリング・インデックスが上がっているという結果です。

アポトーシスですが、アポトーシスにつきましては投与 2 日目から投与終了の 7 日目と、更にリカバリー期間、回復期間の 2 日目まで上がっているという結果です。

この実験から、2500 ppm をラットに投与すると 2 日目から血清鉄が低下し、十二指腸

重量が増加、いわゆる腸粘膜が肥大するといいますか、増殖を開始して、血清鉄は投与終了後、すぐ元に戻ってしまいますが、十二指腸重量はその後もしばらく大きいままなのですが、約一週間で回復する。増殖活性は投与期間だけで、アポトーシスだけが回復後も 2 日まで見られたというような結果です。

ですから、投与 1 の実験を更に詳細に調べて、どこから回復するかということを追加した実験ということが言えると思います。

○鈴木座長 血清鉄がどこから減るか。十二指腸がどこから重量を増やすか。それらの背景として、細胞増殖がどのように絡んでいるのかというようなところのスタートの部分です。それと同時に、投薬をやめた場合にどのくらいで実際は、その前に回復するのかどうか、どのくらいから回復し始めるのかというようなことが詳細に調べられたということだと思います。

これについては、どなたか更に解説あるいは御意見ある方、あったら。

どうぞ。

○廣瀬専門委員 この実験で一番気になったのが、アポトーシスが投与 2 日後に 3 倍以上に増加して、3 日目で 2.7 倍、4 日目で 1.6 倍と、かなり増加しているということなのです。

アポトーシスの増加の原因を、申請者の方は細胞増殖が急激に亢進したために増加した細胞を排除するための反応と言っているわけですがけれども、アポトーシスが増加することは、このオリサストロビンが十二指腸粘膜に何らかの障害を起こしている証拠ではないかと思います。

それから、この反応が鉄欠乏性貧血だけで起こっていると考えerにはあまりに変化の発現が早過ぎるのではないかと思います。確かに 2 日目で血清鉄が下がっていますけれども、この 2 日の間に BrdU がこれだけ上がって、細胞の面積も増加してくるということがなかなか信じられない。それから、随分前ですけれども、自分自身で発がん物質、特に BHA だとかカフェ酸、これは前胃に非常に強い細胞増殖を起こして、更に 2 年間飼うとがんが半数ぐらい出てくるというようなものなんですけれども、それをラットに投与した初期段階を細かく追ったとき、投与してすぐに、1 日目か、あるいはそれ以前だったかもしれないんですけれども、アポトーシスが異常に増加するんです。そのアポトーシスの増加というのは、この実験と同じように一過性で、その後、急激に落ちてきて、逆に過形成が起こってくるというような結果だったんです。それでこのデータを見ると、昔の実験のことが頭によぎってきて、やはり貧血だけで起こったということになかなか納得できないとい

うことなんです。

ほかにも、いろいろ後に実験が行われておりますけれども、その中でもやはり納得できないところが幾つかありますので、またその折に説明したいと思います。

この実験では、とにかくアポトーシスが増加している理由が納得できないという点です。

○鈴木座長 現象論として、アポトーシスが増えていますという、このデータ自体はそれでいいんでしょう。

○廣瀬専門委員 それはいいんです。

○鈴木座長 ただ、その説明のところがということですか。

○廣瀬専門委員 最終的に、申請者はすべて鉄の欠乏によるということがこの変化の原因だということにしていると思うんです。鉄の欠乏といいますか、鉄の吸収の阻害というのも勿論ありますけれども、それだけではちょっとおかしいのではないかということです。

○鈴木座長 特に、増殖系に関してはそう問題はなかろうというところなんですけれども、アポトーシスが何で初期に増えてくるかということについては。

○廣瀬専門委員 鉄欠乏で、そういうことが起こるということ自体が納得できないということです。確かに、鉄欠乏があれば多少は十二指腸の粘膜が肥厚してくるという、ここまでは納得できるんです。

○鈴木座長 多分、アポトーシスについては、先に廣瀬委員が言われたように、増殖活性が増してきた。粘膜のところも増してきたので、その過剰なものを排除するためにアポトーシスが増えるのだらうというふうに解釈しているみたいなんです。

○廣瀬専門委員 逆だと思うんです。

○鈴木座長 恐らく、委員の説明といいますか、解釈ではそうではなくて、何らかの形の障害作用が、この 520F によって生じて、その結果、排除されるような形でアポトーシスが起きていると見た方が自然だろうということですね。

○廣瀬専門委員 まず毒性としてアポトーシスがおこり、次に反応性に増殖活性が起きている可能性があるということです。

○鈴木座長 私は、多分 5 フルオロウラシル系の抗がん剤の関係で、この辺りのことをドクター論文として指導したことがあるんですけども、腸の陰窩での増殖系の部分と、それからアポトーシスが起こるというのは結構微妙なセルサイクルとの関係があって、なかなか一通りの単純な説明ではいけない。現象論としてアポトーシスが増えて、その後減っていくという話については説明をもう少し修正する必要があるかもしれないけれども、現象は現象として。

○廣瀬専門委員 それは納得します。

○鈴木座長 その辺の説明の仕方のところで、ほかのところの機序との関係もありますから、後ほどまた議論するというようなことで、それでよろしゅうございますか。

○廣瀬専門委員 とりあえず、それで。

○鈴木座長 それでは、後ほどまたアポトーシスがどうして初期に増えるのかというところについての論点で。

そのほかにはございませんか。高木委員はいいですか。

○高木専門委員 後から出ると思うんですけども、鉄欠乏症でアポトーシスが増えたというデータはないんです。そうすると、やはり鉄欠乏症からアポトーシスが起きたというふうに結びつけるのはちょっと難しいかなと思っています。

○吉田専門委員 よろしいでしょうか。

ただ、今、座長がおっしゃっているように、ここの臓器は普通 BrdU のポジティブコントロールに置くくらいの非常に増殖活性の高い臓器なんです。ですから、ホルモンなど何らかの血中の濃度の差で簡単にアポトーシスは翌日でも数時間後でも出てくるような変化ですから、特に十二指腸であるということをよく考慮すべき点かなとは思っています。

ですから、BrdU が上がってきたのと一緒にアポトーシスが上がるというようなことはむしろあってもいいのではないかというふうに私は思うんです。

○鈴木座長 現象としては廣瀬委員も認めておられるので、その解釈のところをどうするかというような問題になるのかなと思って。

○廣瀬専門委員 鉄欠乏をどう書くかどうかというところが問題になるわけです。

○鈴木座長 だから、そのこと自体はまた後ほど議論してもいいのだと思います。

2 番目のところで、どのくらいの時期から起こったかというような話のところが、とりあえず非常に早く起こるということと、血清鉄濃度と増殖というのがパラレルで起こっているように見える。それから、回復も非常に早い。ただ、わからないのはアポトーシスも一緒に初期に起こっていて、これについてはもしかしたら説明が違っているかもしれないというような指摘だったと思います。

3 番目のところに移りますけれども「粘膜上皮細胞の細胞増殖活性が投与 4 週後も持続する」という、この実験について、それではまた。

○吉田専門委員 済みません、先ほど私、アポトーシスの件をちょっと勘違いをしております、アポトーシスは投与 4 日までです。私、回復期間中と申し上げてしまって、済みません。

それでは、3 番目の実験ですが、粘膜上皮の増殖活性について、やはりラットとマウスを用いまして、4 週間投与して 2 週間回復を見たという実験で、指標としては BrdU による増殖活性を見ております。

その結果につきましては、7 ページの表 3-1 にラットを、表 3-2 にマウスについて記載されております。投与量は、ラットが最初の実験と同じ 0、10、100、2500 ppm です。マウスについては、0、10、100、2000 ppm です。

結果ですけれども、ラットもマウスも投与 1 週目から増殖が上がりまして、4 週でも上がっていて、更に回復期間の 2 週間後も上がっているという結果です。これは BrdU だけしか調べていないので、ラットにつきましては 2500 ppm だけで見られておりまして、マウスにつきましても最高用量の 2000 ppm という結果になっております。100 ppm でリカバリーだけで上がったのは、影響というようにはしていないと思いました。

以上です。

○鈴木座長 これは、ラット、マウスでそれぞれ比較的高濃度のところで BrdU の取込みが 4 週間投与している間は継続して高いのですが、やめると 2 週間ぐらいで低下する傾向がある。ただ、ラットの場合、2500 ppm でもまだやや高い傾向がある。

それから、マウスの方は基本的にはどうなるのかな。高濃度の話のことで、4 週間後のところで 100 ppm のところがやや対照に対しては有意差があるというような形にはなっているのですけれども、流れで見ると低下した傾向にどちらもなっているように見えるんですが、これについてはどういうことなのでしょう。

基本的に、細胞増殖活性が投与を 4 週間続けている限りは持続していて、このことが十二指腸腺がんが誘発されたことと関係があることだろうというような考察で終わっているんですが、これについては、廣瀬委員いかがですか。

○廣瀬専門委員 これは、特に問題ないと思います。

○鈴木座長 よろしければ、4 番目のところで、今度はメカニズムに関わってくるところなんですけれども「十二指腸上皮細胞の鉄吸収機構及び幹細胞による調節概説とストロビルリン系化合物の毒メカニズム」というところで、血清鉄濃度、それからそのほかの吸収等に関与するものについての問題です。

これも吉田委員でいいですか。

○吉田専門委員 これは、実を申しますと、責任を転嫁して大変恐縮なのですが、ここのところはむしろできれば薬理系の委員に、代謝の委員に説明していただくと、私も教科書を見て勉強してしまったので。

○鈴木座長 ちょっと急かな。大丈夫ですか。

○吉田専門委員 そこのトランスポーターとか水素イオンのシンポーターとかというのは病理ではなかなか目にしないところなので、流れとしては最初に鈴木座長がおっしゃったところですよ。

○鈴木座長 どこになるのでしょうか。

○廣瀬専門委員 もし、何だったら後で。

○吉田専門委員 恐らく、ここは多分重要なところなので、私が説明して不足だと失礼かなと思ひまして。

○鈴木座長 一応、これは次のところでやる実験の一種の作業仮説のようなことになっていまして、それで最近の鉄吸収輸送、それからそれらの調節機構でどのような分子が絡んでいるのかというようなところを、最初に研究されているところの現状についていろいろ示したものというふうに考えられます。

ですから、実際上はこの化合物が鉄とキレートする部分もあるので、そうすると吸収がうまくいきませんというようなことも一部入ってきてはいるんですが、それらについては後ほど、この作業仮説がこれでどこら辺まで正しいのかという話に戻ればよいと考えられますから、5 番目以降が作業仮説に基づいた実験のようですから、5 番目の方に先に移ってもよいのかなという。

○廣瀬専門委員 その前に、作業仮説の結論的なものだけを簡単に言いますと、このようなストロビルリン系の化合物は、十二指腸における鉄吸収と同時に体内への輸送の両方を抑制することによって血清鉄の減少をもたらす。血清鉄が減少した結果、上皮細胞における鉄吸収要求の亢進、更に吸収面積拡大のために細胞の肥大が起こり、更に上皮細胞の増加を図るべく自らの細胞増殖を亢進させる。これが、その結論かと思ひます。

○鈴木座長 ありがとうございます。仮説の中心は、今言われたようなところにあると思ひます。9 ページのところも、図がそれでいろいろ示されていますから、併せて見るといろいろわかるところがあるかと思ひます。

ただ、後ほどまた議論をすればよいのですけれども、我々が学んだころの鉄の代謝と比べると、最近絡んでいる分子というのは随分変わってきてしまひまして、私自身も戸惑うところは非常に多いので、その辺はやはり一番関係のある方たちの方から最終的にコメントをいただければいいと思ひているところでございます。

以上のようなところから、5 番目の項目に移りますが「十二指腸粘膜上皮細胞の鉄吸収・体内への輸送を阻害する： $^{59}\text{Fe}^{2+}$ による測定」ということで、これはどうでしょうか。

反転腸管などをいろいろ使ってやっているし、放射性の鉄を使っている実験なんですけれども、毒性の方、代謝の方、どちらからでもあれなんです。

○吉田専門委員 そうしましたら、代謝の委員には基本的なところの説明をしていただくことにして、それでは私から、不足なり間違えていたら御指摘いただければと思います。

これもやはり、雌ラットを用いまして、検体を 0 及び 4500 ppm を飼料中にまぜて、放射性の鉄吸収量について測定しております。

コントロールでは、 ^{59}Fe ラベルの二価の鉄イオンが絨毛全体に分布していたけれども、この 505F という、今回使っているものと同じようにストロビルリン系の化合物ですけれども、それでは絨毛の上部のみだった、この分布に差があったということから、体内の輸送もこの剤の投与によって低下しているのではないかなという結論だと思います。

ですから、恐らく絨毛全体にコントロールが働いて、吸収されるものが上部だけだったので、それ以外が行っていないというようなことだと思います。言葉が不足しているかもしれない。

ここの文章で書かれていると思うんですが、ストロビルリン系の化合物は十二指腸の吸収と体内輸送の両方を阻害するのではないかなという考察になっていると思います。その結果、血清中の鉄濃度が下がるのではないかなといった考察だと思います。

○鈴木座長 表 4-1 の具体的な数値と、表 4-2 の数値のところを見ておいた方がいいのでしょうか。最終的には、その数値に基づいて、今言われた鉄吸収と輸送の両面を抑制するという話で出てくる話になるんですけれども、表 4-2 のところで見ないと、表 4-1 は鉄のところが一番右側で、0 ppm のところが平均 13.1 pmol/mg WT、4500 ppm だと 8.0 pmol/mg WT ということで、これは十二指腸で残っている話ですから、吸収された部分が明らかに減っていますという話になると思います。

それから、表 4-2 はどう読めばいいんですか。

○吉田専門委員 恐らく、MR、MT、TMU という粘膜内と、そのはかっているものなんでしょうか、それが違うということで、MR、MT、TMU いずれについても 4500 ppm 投与量群で明らかに下がっています。特に、MT と TMU というのを、私がきちんと理解していないのかもしれないんですけれども、それはどの辺りのをはかるということなんでしょうか。

○鈴木座長 これは、どうなっているのでしょうか。

2つの種類があって、1つは反転腸管をつくってやっているのと、もう一つは *in situ* でループをつくって、その中、腸管の中に放射性鉄を入れて、その後、内腔を開いて粘膜と

体の側の方にどれだけ放射性鉄が分布したかという話のことで、恐らく代表例として表 4-1、4-2 の方に出てきているこれらのものとループでの成績だと思うのですが、そうですね。反転腸管の方は、*in vitro* の話になるのでしょうか。

これは、最初えさで、餌の中に 505F をまぜて飼っておいて、24、96、168 時間後に反転腸管をつくったというものと、ループをつくってみたという話のところで、両方あることはあるんですけども、今のような解釈で、特に代謝の方から御異存はない、あるいはこれでよいというふうに。

○小澤専門委員 実験については、恐らくそういうことと読めます。

それで、まず *in vitro* の場合というのは、*in vitro* とはいえども、それは鉄吸収のところ、その過程をはかっているわけです。

検体自体は経口で、摂餌で投与しているわけです。ですから、十二指腸に到達して、そこで何らかの作用を出すわけです。それから十二指腸を摘出して、*in vitro* での鉄の移動といいますか、トランスポートを見ているということになります。そうすると、それはこの表のどこにその値が出ているのかということになるのではないかと思います。

それから、ループの方は、これは内腔に入れているだけですから、ほとんど意味合いとしては似たような。

○鈴木座長 意味合いとして似ているんですが、一応インサイツでやっているので、十二指腸にいきなり鉄を入れて、そこで吸収させてしまっ、体の側に移るものは腸管から最終的に吸収されたものがあるので、それを見ようという形でしたものと、*vitro* でやった反転腸管だけの部分よりは全身性にどうかというのを見ているわけで、吸収部を十二指腸に限ってみたという話だと思うんです。

どうぞ。

○木下課長補佐 今の鉄輸送の方の知見ですが、冊子の方の最初の 22 ページの概要の次から始まるページの 16 ページにもう少し詳しいものがあって、やはり *in vivo* で計測した十二指腸に打ち込んで、その後、中と外をはかった。それで合計と、3 つを並べて表示してあるということでございます。

○鈴木座長 ですから、薬物投与を行った後にループをつくって吸収等を見ると、4500 p pm では平均が MR、MT、TMU の順に 12.4、5.7、18.1、多分これは単位がちよっとあれなんです、pmol/mg WT になるのではないかと思います、明らかに減少している、吸収が後れているという話のデータのようにございます。

○小澤専門委員 あと、表 4-2 なんですけども、対照群に対するパーセンテージが MR

がラフに見て約三分の一。MT というのは 7 分の 1 です。

それから、TMU が 9 分の 2 だと思うんですけども、ですからトータルの粘膜内に残留した量より輸送量だけを見たフラクションというんでしょうか、それから、吸収量を見たフラクションとでやはりかなり顕著に抑えられている。だから、個別の過程がこの剤によってかなり明確に抑えられているということで、トランスポーターに対するこの剤の直接的な作用というようなことをこのデータは示唆しているのではないかと思います。

○鈴木座長 わかりました。

505F を使ったという点については、恐らく私はこの中でこれが一番強い作用があるというので、一番最初のときに審査委員会で議論したかと思うんですが、それ自体は特に問題ないですね。毒性の委員方の方は、今の話のところで納得されますね。

それでは、次のところで、6 番目「ストロビルリン系化合物は食餌中鉄とキレート結合する」という話のことでございます。

これは、どうでしょうか。ちょっと物理化学的な実験のようで、できれば代謝の委員にお願いしたいんですけども。

○平塚専門委員 先ほどちょっと言われまして、御存じのように代表的な NMR、核磁気共鳴の略ですが、プロトン NMR とカーボン 13NMR があります。測定する化学物質を外部磁場の中に置くと、例えばプロトン NMR ですと、水素原子の原子核が固有の周波数の電磁場と相互作用し分子を構成する原子の磁気的環境によってその吸収周波数が異なります。すなわち、孤立している水素原子核と、化学構造上で近くの原子の電気的磁気的影響を受ける水素原子核とでは、共鳴周波数のずれを生じることになるので、それをケミカルシフトと呼びますが、そのケミカルシフト等を測定するのが NMR です。

また、カーボン 13 の場合も同様と考えられます。したがって、カーボン 13 のケミカルシフトの移動は、その炭素原子核に対する何らかの因子、この場合は鉄原子との相互作用を反映し、それを直接見るができるような方法だというふうに理解できます。この場合、先ほどから議論されていますように、鉄とオリサストロビン、BAS520F あるいは前の化合物、BAS505F もメトキシイミノ-N-メチルアセトアミドという置換基を持っている化合物ですので、この場合、窒素原子にはローンペアが存在しますので、三価鉄である鉄酸化は、電子が二価鉄に比べて欠損していますので、窒素原子のペアが鉄に配位する性質を持つことが想定されます。

したがって、このオリサストロビン BAS520F の鉄不在下での、特に三価の鉄不在下での NMR のケミカルシフトがそこに鉄を加えることにより、もし鉄と相互作用をする

領域があるとするれば、その領域のカーボンのケミカルシフト、あるいはプロトンのケミカルシフトが変化することになります。

そういったようなことで、この実験が実施されているわけですがけれども、結果を見ますと、表 5 あるいはその下の図 3-2 ですがけれども、 Fe^{3+} を添加するオリサストロビンでしょうか、このものとの濃度比を 500 対 1、50 対 1、5 対 1 というふうに接近させていくに従いまして、表 5 はカーボン 13 のケミカルシフトですが、シグナルがブロード化してくる炭素が出現しました。その位置がちょうど予想される窒素原子を含む、左の図 3-1 のカーボン 1、2、3、メトキシメチル 4 の領域で、そこが一番、鉄を添加することによって大きくシグナルの変化が認められたということで、申請者はここに鉄のキレートが起きているであろうことを示唆していると解釈できます。

したがって、方法としてはよく取られる方法かなというふうに思います。

○鈴木座長 そうすると、やはり鉄を加えることによって分子形が変わって、キレートイソマー作用が明瞭になってくる。それで、この実験が、キレートすると腸管からは鉄の場合、吸収されにくくなるというようなことの根拠であると。

○平塚専門委員 そのように解釈することはできるだろうと。

ただ生体内で実際に起こっていると言っているかわかりません。この場合には NMR の測定管の中で、この場合はアセトニトリル D3 でしょうか、という状況下で鉄と化学物質のみがまざっている。ある意味では 1 対 1 の関係なんですけど、実際に生体内ではいろいろな夾雑物質、生体成分等もありますので、その中で果たしてこれだけ強く相互作用しているかどうかということは議論する余地はあるかと思います。

○鈴木座長 そういう考えでは、それは構わないけれども、一応本質的な性格としては、この物質と鉄の間にキレート作用が起きても不思議ではないような性質はあると。

○平塚専門委員 あるということを示しているというふうに思います。

あと、もう一つ、ここでは非常にいい方法だと思うんですが、例えば水系の中でこの二価鉄を加えたときに、例えば UV 波形が変化するかどうかなども、もう一つの直接的な水溶液中での挙動を見る手段かなと思います。

○鈴木座長 更に補強するデータとしては、そういうこともやって確かめておくといいだろうというような結論になりますか。

○平塚専門委員 このものはかなり水に溶けにくいものだと思うので、それをやれと言っても多分できにくいものであるというのは承知の上で今言ったわけなんですけど。

○鈴木座長 あと、体の中で起こる変化が必ずしもどのくらいかはわからないというよう

なことを踏まえると、そういうことは言うけれども、これはまた実験は難しいでしょう。

武田委員、何かコメントはありますか。

○武田専門委員 先ほど、ここの 2 のところの CO 基は逆に書いておいた方がわかりやすいです。キレートする化学構造的に言いますと、CO が左に出ていますね。あれを反対に書いておいてくれたら、もうちょっと距離的に近くなりますから、キレートの形がわかるのではないかと。

委員の意見は妥当だと思います。

○鈴木座長 とりあえず、キレートする性格がこの実験によって確認されているという解釈になるんだそうです。とりあえずは、それでよろしゅうございますね。

どうぞ。

○本間委員 鉄の場合、結合定数というんでしょうか、そういったものはわかるのでございますか。

○平塚専門委員 錯生成定数というものを求めることができますから、多分彼らは求めることができると思います。ここには出ていません。

○鈴木座長 そこまでは定量していないということですね。

○平塚専門委員 生体内の pH が例えば 7.4 だとしますと、7.4 におけるキレートの錯生成定数、キレートのつくりやすさというんでしょうか、できやすさというものはやはり極めて重要なファクターではあると思いますけれども、今、委員のおっしゃったとおりです。

○鈴木座長 本当は、そこまでやっておくともっと根拠が強く出るということですね。

求めますか。実験して、その数値を求めるようなことをしますか。あるいは實際上、吸収過程の問題というのは阻害されている部分というのは後で別の実験で出てくるので、それである程度担保されているというふうに見るかとのことなんですけれども、後ほどまた触れるときがあるかもしれません。

とりあえず、キレーティングの関連についてはよしということで、7 番目のところでキレートに関連して吸収が阻害される「食餌中铁の吸収阻害の結果、糞中铁排泄が増加する」というところなんです、これはどうでしょうか。どなたにお願いでしょうか。

やりますか。それでは、お願いいたします。

○吉田専門委員 普通飼料と、あとは鉄欠乏食に、今回は 520F ですから、オリサストロビンを加えまして糞中の鉄濃度と十二指腸の重量を測定しております。

投与期間は、12 日間です。

詳細につきましては、リスト 7 ですから、22 ページからに記載しております。

用いました動物は、ラットです。

飼料のみ投与したものが 12 日間で、その後、検体の混餌投与という形で続けて投与をしております。

群は、4 つの群でして、対照群というのが普通食、鉄の含有量が 250 mg/kg。これは/kg 体重なんですか。ちょっとその辺が、えさ中に 250 mg/kg 入っているというふうにとらえてよろしいんですね。いわゆる鉄欠乏食は、鉄が 10 mg/kg ですから、普通食の 25 分の 1 です。

○鈴木座長 飼料中の濃度ですね。

○吉田専門委員 それぞれに、この 520F を 2500 ppm 投与してどうなるかということなのですけれども、まとめの表が 13 ページの表 6 に記載されております。

14 日目、検体投与後 2 日目、最初は 12 日間投与していますから、その後の検体投与 2 日目におきまして対照群でも鉄欠乏食でも糞中の鉄濃度は上がっております。

21 日でも、鉄欠乏食では 14 日目、検体投与 2 日後だけなのですが、対照群に 2500 ppm のオリサストロビンを投与した群では、14 日から 28 日まで糞中の鉄濃度が上がっております。十二指腸重量も、普通食に 2500 ppm の検体を投与した群では上がっておりますが、鉄欠乏食群でも十二指腸重量が上がっており、鉄欠乏食に更にオリサストロビンを投与した群でも、これは bb ですから、増加しております。

○鈴木座長 一応、大筋は今の説明でよいのかと思いますが、鉄欠乏食でも十二指腸の重量が増加します。つまり 2 群のところのデータがその一つを表していて、3 群のデータは更にオリサストロビンを入れた場合ということになるんですが、更に十二指腸の重量も増加します。

それから、鉄欠乏状態ですから、糞中にもともとそんなにたくさん鉄は排泄されないんですけれども、にもかかわらず、やはりオリサストロビンを入れると糞中にも鉄の排泄が若干増えます。2 群、3 群の十二指腸重量増加の比較をしますと、鉄欠乏に対してオリサストロビンを入れても十二指腸の重量は更に増えますというデータになっているようです。この辺のところは先ほど議論になっていたところと若干関係するかなと思うんですが、少し議論をした方がよいのかもしれない。

廣瀬委員、この辺のところでは何かコメントは出てきますか。

○廣瀬専門委員 また後でいろいろ出るところがあります。これはこれでいいと思います。

○鈴木座長 主体が、糞中に鉄が多く排泄されます。これは吸収がないからということと、そのほかにどうしてだろうかという話があって、次の実験との関係で解釈しなくてはいけ

ないところがあるんですけども、胆汁中から出てくるものも増えるからというようなことに、そのままになっているからということになるんですけども、一応糞中には鉄排泄が増加するというのは、対象の場合あるいは鉄欠乏の状態になったとしても、更にこのオリサストロビンというものは増加をさせる。

これは、鉄吸収阻害の結果が主要因であるというふうに解釈するという報告なんですけれども、代謝の委員、この解釈はこれでよろしいですか。

○小澤専門委員 それでよろしいと思います。今、先ほど積み残しの4番のところを併せて読んでいましたけれども、つじつまが合う説明になってくるのではないかと考えています。

○鈴木座長 ありがとうございます。

○廣瀬専門委員 血清鉄のデータは、ありましたか。

○鈴木座長 この実験のとき、鉄欠乏食との関係でという話というのは糞中と腸管の話のことで、血清鉄の話はこの実験としては入っていない。

それから、先ほど別の、廣瀬委員を含めて高木委員からも出ていたようなアポトーシスとか、BrdUやPCNAの関係のデータがこの辺のところで付いているともうちょっと解釈しやすいところがあったのかもしれないと思うんですが、これはごく局面を限って、糞中への排泄が増えるという話のところをやった実験のようでございます。

どうぞ。

○吉田専門委員 この7番のところに「本化合物と食餌中铁が強くキレートし捕捉蛋白に捉えられなくなっていることが示唆されましたが」云々で、それが実際の動物で腸管内に生じていることを確認するためにこの実験を行ったんですけども、そういうことはこの実験からは実際に動物の腸管内でもキレート結合をしていてというようなふうにとらえてよろしいのでしょうか。

○鈴木座長 キレートして、それがそのまま外に出て、糞中ではかることによってその状態が反映されたと解釈してよいのか。平塚委員、その辺はどうでしょうか。

○平塚専門委員 難しいです。今、データとしてないのかと思いますし、唐突なことなのかもわからないんですが、例えば鉄がキレートしたオリサストロビン自身の消化管吸収というのがどうなのか。いわゆる鉄欠乏時におけるオリサストロビンの吸収と、鉄が実際にあった場合、即ち鉄錯体となった場合、イオン化型となり、例えば吸収されにくくなるのか、あるいは全く影響がないのか。

今、鉄の側からしか見ていないんですけども、実際にオリサストロビンの動態という

のが鉄錯体ではどうなのかというのが先ほどの排泄、それから吸収においても重要と思われます。

○鈴木座長 その辺、何というのか、こういう糞中の鉄含有みたいなところのもので、うまく遊離の鉄の話とキレートされた鉄といったものを分けて測定するというのはできるんですか。

○平塚専門委員 例えば、さっきの鉄のアイソトープを使って反転腸管における膜透過前後の鉄とオリサストロビンのモル比が顕著に変化するのがキレーションですから、1 対 1 の錯体を形成するとしたら、反転腸管膜の透過前後で鉄の比放射能は変化がない。あるいはオリサストロビン標識体を用いて同様な挙動を調べるなどです。

○鈴木座長 この場合のものは、もともとどういうえさを食べていたかとかいろんなことがあるので、最初の段階で動物に普通食と鉄欠乏食を何日かかけて平衡にして持って置いておいてというところで薬物をかけて、その上で糞中にどのくらいにどうなっているというのを見るという話の時間経過に伴う変化を追いかけているわけです。

今のような話で、キレートした部分と遊離の部分というのをちゃんと見ないといかないのではないかということになると、その時点時点で多分殺すか何かして、あるいは見ていかないと、糞中だけのものを調べてもちょっと難しいという話にはなるんですか。

○平塚専門委員 実際には、鉄の吸収量というんでしょうか、それが毒性との関係でということなので、鉄の挙動は見ているので、別にそれはオリサストロビン自身の問題ではないのかもしれないんですけれども、鉄とキレートした、ADP 鉄というのは、生体内でスーパー・オキシライド・アニオンを発生するというのはよく知られていることだと思うんです。

例えば、活性酸素の発生剤としての役割とか、それは大きな要因ではないのかもわかりませんが、鉄とオリサストロビン がキレートを形成することによって起こる活性酸素による毒性作用、直接的なものではないかもしれませんが、そうすると先ほど廣瀬委員がおっしゃられたようなアポトーシスが初期に生じてくる可能性もあるかもしれません。

○鈴木座長 ちょっとお待ちください。

どうぞ。

○本間委員 たしか、委員がおっしゃった結合しているものと結合していないものというお話がございましたが、それは測定ができるだろうと思います。

例えば、普通、食品の中では遊離型の鉄は一般的には少なく、何らかの格好で低分子

から高分子までの成分と結合をしているということです。だけれども、その中で遊離しているのは少しあるということで、いろいろなキレート試薬の種類を選べば、それぞれのレベルに応じて多分測れると私はそう思います。私、コーヒーでそういう実験をやったことがあります。

○鈴木座長 測定ができるということ、それからキレートした形の剤あるいは鉄というのが、もしかすると毒性というところで別の働きをするかもしれない。その辺がアポトシスとの関係では見落とされているのかもしれないという示唆だったように思います。

どうぞ。

○木下課長補佐 もう一つ御考慮いただきたいのは、動物代謝試験も毒性試験も通常の餌でやっていますので、200 ppm 程度の鉄存在下での試験をされている。そこでの吸収ですとか毒性の発現を、もしキレート鉄があれば結合状態で行われている可能性があるのも、それは欠乏食ではやっていないのでわからないんですが、そこを御考慮いただいて、どういうふうに考察するか、お考えいただきたいと思います。

○鈴木座長 通常の、我々が最終的に見なくてはいけないのは、通常の食餌の形態のところでどういう毒性影響が出てくるかというところにつながる部分のところで、今回データが出てきているところは鉄の吸収というような話に関連して、あくまでメカニズムに関連するということで、欠乏食といったような状況をつくって比較をしたというようなことだと思うんですけれども、その辺のところ、ここに出てきているデータは糞中の濃度と十二指腸重量の変化、この 2 つしかない。

実際はほかに、これはリスト 7 というのを見ていただくと体重の変化等いろんなデータが出てはいるんですけれども、特に今、議論になったようなところと直接関わるような問題というのはいないんですけれども、その辺のところからこれをどういうふうに見るかということなんですが、一方で 4 のところでお話ししたような話、積み残したようなところを勘案すると、このデータというのは解釈的には割とリーズナブルではないかという指摘もあるので、どこまでこの委員会として議論をするかということだと思うんですが、どうしましょうか。これも代謝の委員方にもう一度コメントをもらった方がいいのでしょうか。

どうぞ。

○武田専門委員 この前の抄録をずっと読んでいたんですけれども、結局この剤はものすごく腸管からの吸収はいいと書いていますね。そのときに、見ていますと、結局、胆管からの排出が結構多いわけです。そのときに出てくる、体の中の鉄を胆管経由で出すということはないんですか。そこは見ていますか。

○鈴木座長 それは、次の実験でやってきています。

○武田専門委員 次ですか。ごめんなさい。

こっちを見て、結局ここに出ているあれは体から引っ張り出してきて、それがここに出ていると。

○鈴木座長 基本的にはそういう結論になってきているんですけども、確かに動物代謝の方を見ますと、非常に強力な腸肝循環があるという感じです。

私もまとめ切れなくてあれなんです、一応この筋書きをとりあえず、不足するところはあるかもしれないんですけども、是として次の部分のところに行くというような話にとりあえずさせていただいて、後ほどまた戻るような話にさせていただきたいと思います。よろしゅうございますか。

話が先に武田委員の方から出てしまったんですが、8番目の「鉄の胆汁排泄は対照群と差なし」という話のところなんですけれども、非常に腸管からこの剤は吸収されやすいし、また胆汁中にもたくさん出てくる。そのときにどうなんだということなんですけれども、これはどなたでしょうか。代謝の方でしょうか。

○小澤専門委員 それでは、今の議論から、この剤はかなりの脂溶性があるために強力な腸肝循環が起こるということなんですけれども、胆汁排泄されるときに鉄をキレートしたままの形でいっているのか、いっていないのか、そこを押さえるためだと思うんです。

そのことに関しては、鉄の胆汁排泄は対照群と差がないということです、どう考えたらいいのでしょうか。これは鉄のですから、1回この化合物と鉄、キレートしたものと、それからフリーでいるものの内訳、それを考えると、胆汁中に出てくるものはフリーのものが圧倒的に多い。そう見ざるを得ないのではないかと思います、平塚委員、これはどうですか。

○平塚専門委員 差がないということですから。

○鈴木座長 ほとんど差がないということは、恐らくそういうことですね。ですから、腸管のところではキレートされて、そこでトラップされたものが吸収されないで糞中に出してしまうようだと考えるのは割と実験データからすると合理的かなと。それで、胆汁中には対照群と同じぐらいにすると出るから、先ほどの鉄欠乏食の場合でも520Fを投与した場合に糞中に排泄が増加するというのはこれまた合理的なのかなというような話にはなってくるんです。

○小澤専門委員 そうすると、これは肝臓から出る部分に関しては差がないんだ。ただし、腸管への作用というのはまた別の問題だということを念頭に置いておかなくてははいけない

ということだと思います。

○鈴木座長 腸管での最初のステップとしての吸収、それ自体は相当阻害されるんだろうなという考え方でないと、説明がつかない。

そのところは、比較的決着がついてくると、先ほど話があったような腸管でキレートされたものがどうのこうのという話のところというのはあまり深刻に議論しなくてもよいのかもしれない。ただ、キレート体が毒性をどのように及ぼすかどうかというのは今の時点ではわからないということになります。

どうぞ。

○高木専門委員 今のでちょっとわからなかったんですけども、腸管から吸収がもし抑制されていて、それで胆汁の排泄がもし亢進されているとお互いに打ち消しあって、見かけ上は変化がないように見えるという可能性を考えなければいけないのではないですか。

○鈴木座長 どこですか。

○高木専門委員 胆汁排泄のところに影響がないということなんですけど、それはいいんですけども、もし胆汁排泄が亢進されていても、吸収の方の鉄が少ないからプラスとマイナスで差し引き見かけ上差がないと。

○鈴木座長 どこですか。

○高木専門委員 胆汁の中でです。そういうことも考えなければいけないということです。

○鈴木座長 言っていることがよくわからないんですけども、データで見ると、もう一つ見ておかなければいけないのは、血清中の鉄濃度というのが、この剤を投与してどっと下がってくるんです。

だから、そうすると、それにもかかわらず糞中に排泄された鉄の量はずっと増えてくるというようなところからすると、胆汁の排泄の方はコントロール、要するにこの剤を投与しない場合と投与した場合で実質的にあまり差がありませんということになると、腸管から剤を投与されたものについて、腸管から吸収されない部分だけ血中の濃度がまずそこで下がっていて、更に出る量は対照と同じだから血中がどっと下がっていく傾向を強めるし、糞中の方は出てきたのが更に吸収されないから糞中の方には増えてきますという流れで見ると話がしやすいんです。

だから、どこのところでバランスが取れて同じように見えるか。対照の胆汁排泄と、それから投薬群の胆汁排泄のところが同じだと言っているところがバランス上どうだと言っているように聞こえるんですけども、よくわからないんです。

○高木専門委員 見かけ上、同じように見えていて、実質は胆汁からのキレート作用で排

泄が増えているんだけど、基となる鉄の吸収量が少ないから見かけ上同じように見えるかなと思ったんです。そういう可能性があるのではないかと。

○小澤専門委員 いや、問題は肝臓にどういう経路で鉄が入ってくるかということも考えなければいけないわけで、消化管からすべて入るのでしたら今の考え方をしなければならぬと思うんですけれども、血管側から入ってくるという部分がかなり大きい。

ここでは、胆管を縛って、胆管を切って、胆管に出てくる分だけをはかっているわけです。だから、そうすると本剤が肝臓に対して鉄の吸収阻害とかそういうことには関わっていないので、見かけ上対照群と差がないというふうに考えざるを得ないのではないかと思います。

吸収、つまり経口で腸管からの吸収を抑えられるわけですから、その部分がもし優勢だったら、やはり高木委員のおっしゃるように胆汁中への排泄、消化管からの吸収が下がっている分だけ胆汁中から出す方を増加させて、結局対照群と差なしということを考えるを得ないと思うんですけれども、必ずしもそればかりではなくて、肝臓への鉄のアップデート、それは消化管からのアップデートだけではないと思うので、そのプロセスには本剤は関係していないということを言っているんだろーと思います。それでいいと思います。

○鈴木座長 私もそのように考えているんですけれども、結局体の中にある程度フェリチンとしてとかいろんな形で取り込まれたものがあって、それらが胆汁中に排泄される経路の中で動員されてきますから、その群のところでは、だから逆に言うと鉄欠乏食などの場合あるいは吸収阻害があったような場合に、時間が経てば経つほど鉄のプールは減ってくるはずなので、それが正常と同じぐらいに出てしまうということになると、かえって胆汁のところでの鉄輸送というのは亢進しているのかもしれないというのは生理的な解釈が成り立つのかもしれないんですけれども、量的に見ると剤を投与したものと対照では変わらなかったという解釈で、それはそんなに大筋は間違っていないのではないかとっているんです。

高木委員、今の議論でよろしいですか。わかりませんか。結構ややこしいです。

最終的な鉄代謝のところのバランスというのは、どこかでまた勉強し直さないといけないんだろーとは思いますが、入ってくるものがどれだけで、出ていくものがどれだけで、どこをどうぐるぐる回ってどうなっているというようなところが見えないと、その1点だけで測定したものがなかなか解釈できない。

ただ、この実験系では胆汁中への鉄の排泄速度あるいは量といったようなものは投薬群と対照群で変わらなかった。したがって、そのことから考えるに、腸管への最終的な排泄

は回答を行っているという話になるのかなと思います。

もし、よろしければ前に進みたいと思いますが、よろしゅうございますか。

さて、それで鉄欠乏状態といったようなところが十二指腸の変化を引き起こすらしいという仮説のところから、次に鉄を補給したらそれではどうなったのかという話になってきているのですが、これは一つの毒性実験の延長のような内容ですから、それでは、吉田さん。

○吉田専門委員 この9、10、11というのは、比較的一貫した実験なので、続けて御説明した方がよろしいですか。

○鈴木座長 どうでしょうか。全部やってしまうと、なかなかまたあれなんですけれども、もしその方が説明しやすければ一緒にやっちゃって。

○吉田専門委員 うまくしゃべれるかどうかわかりませんが、ということで、本剤投与に鉄を補給したら、この十二指腸の変化は抑えられるはずではないかということで実験が行われました。

投与量といたしましては、表7に結果があるんですが、ラットに0、1000、1750、2500 ppmの本剤を投与して、それプラスそれぞれの濃度群につきまして30及び50 mg/kgの鉄を筋肉内に非経口的に投与しております。

その結果が表7に記載されておりますが、測ったものは血清の鉄濃度と十二指腸の重量なのですが、試験前、試験後1日、6日の血清鉄を測っております。

ところが、結果といたしましては、鉄を筋肉内に注射をいたしましても、十二指腸の重量というのは下がらなかったというのは、例えば9、10、11群というのが一番高い用量ですから、これは十二指腸肥大を起こす用量ですが、これに30あるいは50 mg/kgの三価の鉄を筋肉内に投与しても下がっておりません。

○廣瀬専門委員 一言付け加えますと、鉄の錯体を前投与すると、血清の鉄はコントロールレベルまで増加しています。それなのに、十二指腸の重量は下がらなかったということです。

ですから、この辺のデータもどうもオリサストロビンが血清鉄の低下を介さないで何らかのメカニズムによって十二指腸粘膜の過形成をしたのではないかというような可能性を示すものではないかと思われてなりません。

○鈴木座長 御指摘はごもっともなところがあって、この血清鉄は確かに投与によって回復しますが、十二指腸の重量の反応というのはなかなか直ちに回復するというような方向に行かないというようなことでして、この申請者たちも実は16ページの上の方の2パラ

目の一番下のところで「血清鉄濃度とは無関係に十二指腸重量増加すなわち粘膜肥厚／過形成が生じているのではないか、との推論も生じてまいります」ということを一方で言っているわけで、そのところが本当にはどうなのかという疑問が確かに廣瀬委員の言われるように残ってまいります。

だから、議論の中で繰り返し出てきているところで、この剤がアポトーシスを起こすようなところというのを必ずしも鉄の濃度との話だけでは説明がつかないという話のところは一方に残っているのかもしれない。

ただし、ここの鉄吸収の機序というようにところを考えていくと、それに関連したサイトカインなり細胞増殖刺激なりというようなことを、彼らはとりあえず仮説の中では考えているということになっているんだと思います。それがあって、更に鉄欠乏食というようにところでも十二指腸の粘膜肥厚／過形成が生ずるのではないかというようなことで、これは剤による話と違うのではないか。つまり、鉄欠乏食の不足がこういった腸管の反応を起こす可能性があるのかないのかというのが次の実験になります。

いずれにしても、廣瀬委員の御指摘の点は後でまとめて議論したいと思います。

○吉田専門委員　そういう結果から、鉄の欠乏食では十二指腸に本当に肥厚が起きるのかどうか、それに更に鉄を補給したらそれが抑えられるのかどうかというのがそれぞれ 10 及び 11 の実験です。

10 の実験では、ラットを用いまして鉄欠乏食、先ほども出ました鉄が飼料中に 10 mg/kg しか入っていないえさを投与いたしまして、血中の鉄濃度と、あとは十二指腸の重量がどうなるか。更に、今回は BrdU、PCNA、面積、あとは肥大が起きるかどうかなどといったことを非常に調べております。

結果といたしましては、血中の鉄濃度に関してはいずれも下がるという、試験の 14 日目から下がっているというような結果が表 8-1 に出ておりまして、十二指腸がどうなるかということが一番注目されるころだと思いますが、それについては 18 ページの表 8-2 に記載されております。

やはり、鉄欠乏食を与えますと、試験 37 日目に検査したデータですが、重量は上がってまいります。鉄欠乏食から回復 14 日目でもまだ上がっておりまして、28 日目では絶対重量は上がっていますが、相対重量では上がっていませんので、ほぼ回復したということだと思います。

ただ、このデータが先ほどと違いますのは、細胞増殖では差が出てきておりません。面積は上がっておりますが、鉄欠乏の 37 日だけでは変化に有意差がついておりません。回

復期間の 14 日だけで上がっております。

ただ、過形成の頻度を見ますと、一応、鉄欠乏飼料から 6 分の 3 という形で上がっております。

○鈴木座長 さて、この点についてはどこがポイントでしょうか。オリサストロビンで 2500 ppm のときに通常食で飼っていて、血清鉄の低下がどのくらいだったのかというところを見るのはどこですか。

○廣瀬専門委員 資料 38 になると思います。引用抄録で言いますと、5 ページ目以降になります。

オリサストロビンですと、七日間投与すると 3 分の 1 程度に減っています。それから、もう一つ別のデータでは 1 週間投与で約二分の一でしたけれども、鉄欠乏食の 37 日間、投与期間も勿論違いますけれども、これですと 7 分の 1 から 11 分の 1 と、オリサストロビンを投与したものよりはるかに低くなっています。

○鈴木座長 鉄のレベルからすれば、絶対的なレベルにしても鉄欠乏食の方が低い。

○廣瀬専門委員 そうです。次に、十二指腸の重量を比べてみますと、鉄欠乏食ではコントロールが 100 に対して 142%に増えておりますけれども、オリサストロビンの 7 日間投与では 151%。そうは違いはないんですけれども、オリサストロビンの方が重量の増加が強い傾向がある。

それから、大きな違いは、細胞増殖が鉄欠乏食の場合は全く見られない。オリサストロビンの 7 日間投与では 5 日から 7 日目に増加している。

○鈴木座長 1.5 倍ぐらいになっている。

○廣瀬専門委員 その程度に増えています。

それから、十二指腸粘膜の面積を比べてみましても、オリサストロビンの場合は 7 日間で 146%ですから 1.4 倍程度に増えているんですけれども、鉄欠乏食の場合は若干増加傾向があるだけで有意差が見られていない。

びまん性の過形成につきましても、オリサストロビンの 7 日間投与では明らかに増加しておりますけれども、鉄欠乏食の場合は、増加はしているんですけれども、明らかな有意差がないということで、鉄欠乏食の反応はオリサストロビンに比べると血清鉄が非常に下がっているのかかわらず、特に十二指腸の変化については非常に弱いということが言えると思います。

○鈴木座長 別の言葉で言うと、オリサストロビンによってつくられた鉄欠乏の状態を鉄欠乏食によって再現しようとしたところ、血清鉄ははるかに低下したのに、十二指腸重量

や細胞増殖の指標はオリサストロビンほど著しく反応しなかった。再現がなかったという形になるんだと思うんです。

これのところで、だからどういうふうにしますか。もう一つやってしまっただけにしますか。

○廣瀬専門委員 それを一緒にした方がいいと思います。

○吉田専門委員 それでは、申し上げます。

ということで、更にこの鉄欠乏食に鉄を補給したらどうなったかというのが 11 の実験です。

さっきの 10 の実験と同じ三価の鉄を 30 mg/kg を筋肉内に筋注いたしまして、十二指腸の重量と BrdU と PCNA について観察しました。

そういたしますと、十二指腸の粘膜の肥厚とか重量増加は起きてこないというのが表 9 の結果です。細胞増殖活性につきましても、これは先ほども変わっていないのですけれども、変わっておりませんし、十二指腸重量につきましても、相対重量ですと対照群が 0.13 に対して、鉄欠乏食足す鉄ということで 0.144 、変化が認められておりません。

ということで、先ほどの鉄を筋肉内に投与しても、十二指腸の重量というのは下がらなかったのだけれども、今回、鉄欠乏食では戻ったという結果になっております。

○鈴木座長 要するに、鉄欠乏の状態に対して鉄を補った場合、反応は回復する。勿論、血清鉄も増えるし、したがって、逆に言うと十二指腸の重量が欠乏食のときに増えたのは、やはり鉄欠乏によっていたという話にはなるんです。

○吉田専門委員 20 ページのところの考察として、先ほども書いてあったのですが、上皮細胞の増殖活性についてが、このページの下真ん中辺りにございまして、そこにはやはり幹細胞との関連があるのではないかというような考察が、前にも出てまいりましたけれども、上皮細胞の増殖活性に差があるということは幹細胞の機能に関することに差があるのではないかとというような、これは考察といいますか、推察をしております。

以上です。

○鈴木座長 この点が、後でもう一つだけ実験があるので、その辺りのところを見た上での方がいいんですけれども、先ほど平塚委員の方から出てきていたように、オリサストロビンが腸管に存在して、鉄とキレートしている状態と、何もない状態で鉄結合をつくっていったときの状態とで何がどう違うのかというようなところの話が一方であるものですから、にわかに幹細胞の話で全部説明しようというのはちょっときついと思うところはあります。

それらについては、廣瀬委員、もうちょっと待ってください。次のミトコンドリアと B12 の話、ネガティブのようですから、先にやってしまっておいて、全体で話をした方がいいかなと思うんです。

廣瀬委員、今のところでもし何か先にお話があれば。

○廣瀬専門委員 いえ、いいです。

○鈴木座長 12 番のビタミン B12 欠乏症とミトコンドリア障害の話ということなんですが、これはどなたに。これもいいですか。

○吉田専門委員 今回は、ビタミン B12 の欠乏症及びミトコンドリアの障害を本剤が起こすかということについて実験したのが 12 でして、今度は 500F ですからピラクロストロビン 1500 ppm にビタミン B12 を同時投与してどうなるかということを検査したのですが、貧血及び血清鉄濃度の低下を比較したのですが、変化はなかったということから、ビタミン B12 は関与しないということがクリアーな結果だと思います。

もう一つは、ミトコンドリアの呼吸障害のイースト菌、ボトリティス菌、ハエ、ラット及びトウモロコシから得られたミトコンドリアに対するストロビルリン系化合物の影響を検査しましたが、これに対しても影響はないということで、このミトコンドリアへの影響もないだろうというようなことだと思います。

○鈴木座長 何か、代謝の委員方、補っていただけたところはありますか。

○小澤専門委員 私からはありません。

○平塚専門委員 ありません。

○鈴木座長 ビタミン B12、すなわちシアノコバラミン、これは鉄の代謝のところと非常に問題があって、欠乏すると悪性貧血が生ずるということなんですが、ここの B12 が胃から出る内因子と結合して鉄吸収のところで関わっているというので、もしその系が働いていたらということで試したところが、B12 を投与してやったにもかかわらず貧血傾向は改善しなかったというので、B12 の系は関係ないだろう、つまり内因子の問題も含めてということです。

それから、ミトコンドリア障害というのは、この剤が菌の、特に糸状菌類の呼吸障害によって抗菌作用を示すというようなところから、そういった問題がよもや毒性として起きていないよねというようなところから、また当然そのところでシトクロム b の話が絡んできているものですから、鉄との関係があるということで調べたところ、細菌類から酵母等々あるいはハエといったようなものについて、ラットも含めて、植物も含めて係数としてはあまり差がなかったという話だったと思います。したがって、こちらの系は毒性を考

えるときには除外できるということだと思います。

さて、全体として議論する前に、4 のところをやり残してしまったのですが、そろそろ時間も経ちましたし、小澤委員、ざらっと説明していただけますか。

○小澤専門委員 9 ページの図を見ながら考えるとよろしいかと思います。それと、8 ページの文章と併せ見ながら考えるとわかりやすいかと思います。

今回のキーポイントは細胞の中での、9 ページの図で「**Labile Fe Pool**」というのがありますけれども、要するに細胞内の鉄のプール、鉄濃度というものを規定するのに更にもうちょっと規定するトランスポーター等がわかってきたということのようであります。

この図を見ていただいたところで、2 つほど指摘をしますと、まずはエンテロサイトからの鉄の吸収のところに 1 つ、実は私も知らなかったトランスポーターが関わっている。それが、本剤が阻害すると言われている **DMT1**、**Divalent Metal Transporter 1**、こういうものが存在するということが一つ重要なことです。

それから「**Precursor Cell**」という図がありますが、これがときどき出てくる幹細胞の方でありまして、それでは 8 ページの文章の方に移っていただきますと、7 ページの最後の行から読みますが、**Fe³⁺**は食餌中のアミノ酸、糖、アミド等とキレートして十二指腸に運ばれる。そこで粘膜表面の捕捉タンパクにとらえられて、還元酵素で **Fe²⁺**になり、細胞膜にあるプロトンシンポーターを介して細胞内に移行するということなんです、このシンポーターというのが、また次の図に戻っていただいた方がいいのかもしれませんが、でも、プリカーサーセルの細胞の中にマル印があると思うんですけれども、そこに、エンドソームの中に鉄を取り込むトランスポーター、それから出るトランスポーターという絵がありますが、取込みのトランスポーターだろうと思うんですが、そのシンポーターと言われているそれがプロトンシンポーターというものがあって、細胞内に移行するということであります。それが捕捉タンパクとしても機能するということになっております。

食餌中の三価の鉄というのは、化学物質とキレートすると上皮細胞から吸収されにくくなるということで、ここのところはちょっと違う話になるので、3 行ほど飛ばした方がわかりがいいと思います。

4 行飛ばして「各組織の細胞膜には」というところからなんですが、トランスフェリンレセプターがあって、そこから細胞内に入り、肝細胞や造血細胞では特に多くのレセプターがある。これはよく周知のことかと思えます。

問題の腸管でありますけれども、それがその次を書いてありまして血中に移行しなかった鉄というのはフェリチンの形で上皮細胞内に蓄積される。ということは、次のページの

図のエンテロサイトの中に蓄積されている。それが、エンテロサイトというのは非常に細胞代謝回転の速い細胞でありますので、腸内にはがれ落ちるとともに排出されるということで、それはその次に書かれているように、上皮細胞というのは陰窩の幹細胞、プリカーサーセルが分裂して生まれて、次々とところてん式に粘膜表面に出てきて、最後はまた腸管内に剥離される。昔の教科書で、絨毛があって表面でぐぐっと押されてまた腸内に入っていく。こういう図のことを言っているようであります。

更に、上皮細胞の鉄吸収の調節というのが、幹細胞の中の鉄の濃度で行われる。「その濃度に従い遺伝子がプログラミングされ」というのが、この辺がまだ恐らくわからないところなんだと思うんですけれども、恐らく鉄が何らかの作用をして、鉄吸収あるいは鉄のトランスポートに関与する遺伝子の発現調節に関わっているんだろうと解釈されます。そのプログラミングによって、上皮細胞の鉄の吸収率が規定されるという仕掛けになっているということだと思われます。

それで、幹細胞の鉄は、細胞の毛細血管内にあるトランスフェリンレセプターを介してエンドソームに取り込まれ、メタルトランスポーターを通して細胞質内に移行するというのが、この次のページのプリカーサーセルの鉄の、まさに矢印で「Labile Fe Pool」。不安定というのがどういう意味か、ちょっとわかりかねますけれども、鉄のプールに落とし込まれる。それで鉄のある程度の定常状態の濃度を保っているという仕組みになっているんだと思われます。

そのメタルトランスポーターが、実は先ほど申し上げた上皮細胞膜にあるプロトンシンポーターと同じタンパクであるということで、プロトンシンポーターを阻害する本剤のような薬物は同時に幹細胞のエンドソーム膜状のメタルトランスポーターをも阻害する効果を併せ持つために、幹細胞中の鉄の濃度の低下が持続した結果、先ほどの遺伝子プログラミングを介して上皮細胞における鉄吸収要求が亢進するために十二指腸の肥厚ということにつながっていくというスキームであろうと思われます。

更に、上皮細胞数増加を図るべく自らの細胞増殖活性を亢進せしめることが推察されます。しかも鉄は必須金属ですから、迅速に行われ、薬物投与が続く限り持続するというところで細胞の中で鉄吸収が亢進して、吸収面積を拡大するための十二指腸の肥厚というのはずっと持続して起こっているだろうということなのですが、問題は下から 6 行目の「自らの細胞増殖活性を亢進せしめる」というところが、この記述は本当なのかという問題は残る。これが最重要ポイントではないかと思います。

この増殖活性に関しては、先ほどの吉田委員から説明をいただいたように、鉄欠乏食あ

るいは鉄補充の実験によって増殖活性には何ら関連がないのだということですから、それは鉄だけでは説明できないわけで、そうすると、これは本剤が細胞増殖活性とやはりリンクしているんだと考えざるを得ない。そのポイントに絞って更に議論を進めればいいのではないか。そのように考えております。

以上です。

○鈴木座長 ありがとうございます。非常によく整理されてきて、廣瀬委員の言いたいところというのはまさしくその点だったんだろうと思います。

要するに、ここで4の仮説として言っていることの実験の裏づけは、座長がこんなことを言っただけではいけないんですが、私の個人的な感想としては、鉄欠乏に伴う現象は極めてよく説明します。ところが、この剤に伴う増殖性に関してはちょっと疑問が残ってしまうんです。それだけは、確かに廣瀬委員が言われるように説明がつかないところがある。

問題は、それから先のところに行くんだと思うんですけれども、廣瀬委員、何かアイデアがおりますか。

この辺を見た場合に、わからないところはわからないとして、とりあえず鉄が関与するところをここまで追い詰めて、この分については割と明快な話があって、現在非常にホットな研究が進んでいる状況であるから、今後の研究に更に委ねるとしてというような考え方がとれればとりたいなと思っていたんです。

ですから、廣瀬委員にちょっとその辺のところのお話をさせていただいて。

○廣瀬専門委員 これだけ鉄に関する代謝から、毒性に至るまでかなりの解析をされているわけです。それで、この結果から考えると、鉄欠乏で十二指腸に対して影響があるということは間違いないと思います。

あとは考え方で、申請者の方は鉄欠乏だけに非常に固執しているわけですがけれども、これだけの今までのデータ、特にアポトーシスが増加するとかというようなデータを見ると、やはり鉄結合だけではどうしても難しい面があるので、ディスカッションとして鉄結合以外に、この物質の十二指腸に対する直接の毒性というものもある程度関連している可能性があるというようなことを言ってもらえればそれで良いのではないかなと思うんです。

○鈴木座長 もう一つ、私が思っていたのは、林委員に伺いたいんですけれども、この剤、ストロビルリン系のところから出てきている腫瘍、がんとの関連で、遺伝毒性的な問題というのはどう考えているのですか。

○林専門委員 今回出ている剤は、両方とも特に生体内での問題はないというふうに思っています。*in vitro*で染色体異常の誘発が少し認められるものもあるんですけれども、そ

れも明確なものではなくて、用量反応相関性も悪いし、再現性もあまりよくない。

その程度の強さのものということと、十分高用量まで実施された *in vivo* 小核試験で全く出ていなかったということを考えると、まず遺伝毒性に関しては心配するようなものではないというふうに思っています。

○鈴木座長 それにもかかわらず、十二指腸で出てきているけれども、それらについては今回の仮説で少なくとも半分以上は説明がつく。それから、閾値もあるというようなところからすると、遺伝毒性関連から見ると、そう心配はないだろうというふうに考えてよろしゅうございますね。

○林専門委員 構いません。勿論、十二指腸で直接見たような成績はないんですけれども、骨髄細胞でも十分暴露されていることはたしかデータとしてあったと思いますので、それでかなり代表が出来るのではないかと思います。

○鈴木座長 そうすると、廣瀬委員、今、これをどう見ているんですか。

○廣瀬専門委員 1つ加えますと、先ほどキレート物、例えば ADP と鉄が結合したものが活性酸素を発生させて何らかの作用をしているのではないかということをおっしゃったんですが、魅力的な説で、確かに活性酸素に絡むような細胞毒性あるいは発がんの場合には非常に初期段階にアポトーシスが起こることが多い。

それから、随分昔ですけれども、活性酸素種である過酸化水素の発がん性が問題になりましたけれども、あの発がん、標的が十二指腸にあるわけです。その辺を考えると、何か十二指腸における酸化ストレスでも見れば何らかの結果が出てきそうな気はしますけれども、これ以上いろいろ要求する必要もないかと思いますので、ディスカッションを少し変えてもらえばいいのではないのでしょうか。

○鈴木座長 問題は、ディスカッションのところを変えてもらう、あるいは委員会として我々はこう考えるというような話のところをメーカーに伝えて、了承するか否かというような話にしてもよいかと思うんですけれども、廣瀬委員、その辺はどうですか。今の魅力的な仮説の話のところはどうしますか。

全体として、相当、この鉄が絡む十二指腸毒性といいたいでしょうか、その辺のところについては結構面白い話が出てきていたので、どこか学術的な雑誌に出してくださいということをお願いして、その中で間違わずにちゃんと考察をすることということにして、その上で少し考察を我々委員会として考える。

それで、我々のポイントとしては、鉄だけではなくて、鉄についてはわかったけれども、鉄だけではなくて、本剤がどこか、恐らく直接的に十二指腸に対して増殖活性を示すよう

な機序があるものと思われるというような書き方をして、ただし、この反応には明瞭な閾値があるという形の書き方にするというようなことを条件にして、これらについての議論は、というのではいかがですか。よろしいですか。

○廣瀬専門委員 それでいいと思います。研究面では非常に面白いです。

例えば、p53 だとか bcl-2 の関連だとか、酸化ストレスの関連でいろいろやることによって、非常に面白いテーマになると思います。

○鈴木座長 生化学的にも、シグナルトランスダクションがここのトランスポーターから先にあるんですけれども、その辺のところを、例えば免疫共沈して、この剤を使って、どこがくっついたなどと言うと、その系が調べられるかもしれない。もしかしたら、すごく面白いツールになるかもしれないなどということは考えているんですけれども、それはそれ、毒性は毒性ということで、今の形で少し修文をして、ベースは鉄だけではなくて、本剤による機序があるという、もう少し考察を付けるなら付けてもいいんですけれども、例えばキレートしたもののについての毒性について、きちんとしろとかというようなことを言ってもいいんですけれどもね。

議論を聞いていただいて、学術誌に出すときにこれはもう少しやった方がよいと考えてくれるというふうには思うんですけれども、どうしましょうか。とりあえず、本剤に鉄欠乏以外にやはり直接的な影響がありそうで、ただし閾値はあるというような話のこの問題を当委員会の見解として、ほかにまだコメントがありますから、その方向で議論をするという形で委員の皆さんに異議がなければ、そのようにしたいと思うんですが、よろしゅうございますか。

（「異議なし」と声あり）

○鈴木座長 どうもありがとうございました。

予定より 2 倍ほど時間がかかってしまったので、少し休みたいと思います。10 分ほど休憩にいたしたいと思います。

（休 憩）

○鈴木座長 それでは、お休みの時間を終わりにいたしまして、一つひとつの剤に戻りたいと思います。

進行の都合で「ピラクロストロビン」の方からやりたいと思います。

評価書（案）のところを見ていただきまして、「ピラクロストロビン」の追加資料要求

については、全部で 5 点、主な問題は 3 点ですが、表現上の問題として 2 点ほど追加させていただきます。これは問題ない。例えば、NOAEL のところで、ラットの 90 日間亜急性毒性試験で、150 ppm を影響量とする根拠が認められないので、その辺のところはちゃんと直せとか、あるいは繁殖試験のところでは日本語になってないよと「対象群より約 4 ～5 g / 週低いのみであること」なんていうのは、直すというところがありまして、それらは直っておるようでございます。

したがいまして、主な要求事項が 3 つ。

1 番目は、ラットを用いた鉄の同時消化管外投与試験のところ、云々かんぬんのことがありまして、これは今の共通項目のところ、大部分が済んだことだと思います。

そのほかにも、やはり 2 の項目も「鉄錯体の投与のみで PCNA 陽性率が増加した理由について考察した資料を提出すること」という話とか。

3 も大部分は済んでおりますが、病理所見の問題がわかるように適切な写真を出せというような関連のところございまして、主としてほとんど議論されたところではあるんですが、一応やり残しがあってはまずいので、毒性の方の話、評価書のところを繰り返して議論をしたいと思います。

○木下課長補佐 済みません。ページ数が落ちています。要求事項の 1 と 2 は、14 番の「その他の毒性試験」の (5) の後に付いてございます。

○鈴木座長 評価書のページがないものだから、またわかりにくくて、ちょうど真ん中よりやや後ろ辺のところ、要求事項 1 「ラットを用いた鉄の同時消化管外投与試験において、鉄錯体の同時投与により、PCNA 陽性細胞数は、ピラクロストロビンの同族化合物 (BAS505F) 単独に比べ、わずかに減少傾向を示すのみであり、一方、血清中铁濃度は増加し、一次的には」云々というところで、これらの変化が鉄吸収の問題のみで起こっているとは認められないというところなんです、これは省いてもいいのかな。もう一度、①、②、③として出されてきていることについて、念のためということなんです、もういいですか。

○吉田専門委員 私はいいです。

○鈴木座長 廣瀬委員は、よろしいですか。

○廣瀬専門委員 いいです。

○鈴木座長 これは、ほとんど問題ない。

要求事項 2 のところでは、どうぞ。

○高木専門委員 済みません、1 つだけ。要求事項 1 の②の「粘膜障害性」のところ、

先ほどアポトーシスの話があって、回答の粘膜障害性はないものと考えているということを受け入れていくかどうか。

○鈴木座長 これは、ちょっと病理の方たちで具体的に資料等に基づいて議論をしていただきたいと思います。

○木下課長補佐 この薄い3枚のコピーの1枚めくってもらって、5ページと打っているところの真ん中辺りです。

○鈴木座長 3枚紙のコピーのピラクロストロビン回答書の要約というのがございまして、その5かな。

○木下課長補佐 5ページの真ん中辺りになります。「②の回答」です。

○鈴木座長 ②の回答です。

○吉田専門委員 これにつきましては、先ほど話題にもなったんですが、恐らくアポトーシスが上がっているということなので、そういうのもあるのかもしれませんが、明らかな炎症性の変化というのは出ていないということは確認されていることだと思います。粘膜障害性はないと断言できないのかもしれませんが、明らかな炎症性細胞等が出ていないので、総合考察と言いますか、ストロビルリン系をどう考えるかということで、回答してもらうわけですが、その中に含まれるのではないのでしょうか。

もし、これだけずっと持続性に炎症作用があるならば、必ずリンパ球の浸潤とか、そういうことが出てくると思います。そういうものがないものですから、明らかなそういうものはないと思います。

○鈴木座長 だから、明らかな炎症作用というのはないけれども、粘膜障害性というのをどこまでどう考えるかの話のことになってきています。

誤解があるといけないんだけど、今回のさっきの共通の問題に関しては、もう一遍考察し直してとは言わないで、ここの委員会の見解としてこうだというふうにして言い切ってしまうから、ちょっと違うんです。

だから、その意味で間違っているのは間違っているとして、ここを修文してしまうというのが手です。

○廣瀬専門委員 言い切るとするのは、こっちで文面を考えてということになるんですか。

○鈴木座長 先ほど言ったような線で、このことを考えましょうと。委員会としては、こう考えるというふうにしましょう。

○廣瀬専門委員 それを申請者に一応は出して、それでいいかと了解をとるということですか。

○鈴木座長 いいえ、委員会の見解として評価書に書くのです。前にもどこかで1回やったことがあります。

ここのところもそれでいくと、粘膜障害性というところを若干修文をすると、強い粘膜障害性、明らかな炎症はないというような形にします。

○廣瀬専門委員 ただ、やはりアポトーシスはあるということは重要ですから、それは入れないといけません。

○鈴木座長 アポトーシスが存在するということは入れます。

この回答がどういうことになるかということ、回答を全面的に了承したわけではなくて、委員会として今のように解釈をするというふうに変更ということになるんです。

ただ、全体的に見た場合に、ものすごく大きな問題が生ずるわけではない。総合考察の中で、議論が尽くされているので、その程度のことで通過するというふうにしようかと思っているんです。

いや、どうしても突き返すというのであれば、それでも構わないです。

○廣瀬専門委員 どうでしょう。その方が自然かなと思っております。あまりこっちで強引にそのディスカッションをしてもどうかと思います。

○鈴木座長 というか、ここの委員会での最終的なADIの設定の話のところなので、共通事項でやったところが、十二指腸の増殖性の変化に関して、鉄欠乏がベースだろうけれども、それ以外にこの剤による直接的な影響が恐らくあると思われる。

閾値が明瞭に認められる。

遺伝毒性としては、あまりさしたる影響がないというようなところで、ADI設定はいいだろうというような方向で、委員会はこう解釈したという話になりますという話だったので、それに適合させると②のところはどうしますかということなんです。全体としてみると、今のような共通の問題のところはクリアーされているのであれば、とりあえずは今さほど問題にすることではないというふうにも見えるんですが、でも、データをきちんといなければいけないというような観点からすると、どのぐらい問題かというようなことにはなります。

大筋としてアポトーシスが認められ、明瞭な粘膜障害性や明瞭な炎症がないというふうなものと判断するという話にはなります。

○廣瀬専門委員 ただ、アポトーシスがあれだけ増加するのは、これは一過性ではあっても、粘膜障害性があるという判断をした方がいいのではないかと思います。

○鈴木座長 では、そこはないものというのではなくて、あるというふうにしなないとまず

いですね。

○廣瀬専門委員 勿論、炎症はないということで、まずいいと思います。

○鈴木座長 そうすると、一過性のアポトーシスの増加は、粘膜障害性を示し得るが、明瞭な炎症はないというような形です。

委員会は、②の回答をよしとはしなかったと。審議した結果、このような所見からストロビルリン系化合物には、一過性のアポトーシスの増加などの明瞭な粘膜障害性があるが、明らかな炎症はないものと判断するというふうに変えて、解釈するということになります。

○木下課長補佐 済みません。書き込む場所なんですけれども、総合評価のところに、吉田専門委員からまとめの文章で書き込みをいただいておりますが、そこに書き込んだ方が読みやすいのではないかと思います、いかがでしょうか。

○鈴木座長 そうですね。

○吉田専門委員 これは私もカットペーストをして入っただけなので、ここはもう少し今日の議論に即した内容にさせていただいて、今、廣瀬委員がおっしゃったところも入れられると非常に読む方にわかりやすいなと思います。

○鈴木座長 わかりました。場所はその辺に変えましょう。

ということで、③は問題ないですね。③は写真が問題ですか。

十二指腸粘膜の肥厚、過形成の組織写真を提出いたしますとして、確かに付いてきていたんですが、それについては問題はないですか。

○廣瀬専門委員 ピラクロストロビンの方は、さほど問題はないと思います。

○鈴木座長 そうしますと、追加要求の 2、これも総合的な問題の中で言うてはいたんですが、鉄の同時消化管外投与試験で、鉄錯体投与のみで PCNA 陽性率が増加した理由についてということです。

結論を言うと、鉄錯体の投与量 100 mg/kg/日が高量だったところから、非特異的反応が生じたものと推測いたしますとなっておるんですけれども、結局はよくわからないということです。

○廣瀬専門委員 特異的な反応か何かわからないですけれども、これもこれ以上の回答はなかなか期待できないと思いますので、これでもういいかと思います。

○鈴木座長 追加要求の 3 です。

○木下課長補佐 亜急性ラットのところです。

○鈴木座長 前の方です。ラットの亜急性でして、十二指腸の病理組織写真が不鮮明なので、ちゃんとしたものを出せということなんです、病変が十二指腸の空腸側まで及んで

いたかどうかという話のことなのですけれども、これについては、病理の委員方どういたしましょうか。

○吉田専門委員 比較的よくわかる写真を付けていただきましたので、了承いたします。

○鈴木座長 よけいなことなんですけれども、7 ページのところで一番最後の 2 行「ラットの十二指腸の長さは 95・100 mm、は幽門括約筋から」なんです、これは十二指腸腺というのが落ちています。別に問題のあることではなくて、これも割と写真がきれいだったら、よくわかったということです。違いますか。

○吉田専門委員 10 cm なんです。

○鈴木座長 ラットの十二指腸はこんなものです。10 cm ぐらいです。ちょうど幽門部から背側をずっと下降して、反転して回ってくるんです。そこに切痕があるんですけれども、通常そこら辺までで大体 10 cm ぐらいです。

ただ、本当は定義が十二指腸腺が存在する部分を十二指腸と言うんですね。

○吉田専門委員 私もそう思っていました。

○鈴木座長 そうすると、この表現だとまずいんです。非常に密に存在するのと、徐々にかさは減ってきますから、その辺のところはどこまであるかというのは、なかなか難しいんですけれども、一応便宜上私は幽門部のところから背側をずっと下降して、最初の切痕で反転してくるところまでを十二指腸というふうに呼びならわしています。そうすると、ちょうど 100 mm ぐらいにはなります。ちょっと定義上の問題があったり、いろいろするものですから、しょうがないですね。

そうしますと、ピラクロストロビンに関しては、今日出されていた問題はその 3 つでして、あとは、逐一見て行かなければいけないところだと思います。

評価書をざっと前の方から確認していきたいと思います。

「要約」のところは、特に問題ありません。

ページがないというのは、非常にややこしいので困ります。

○木下課長補佐 済みません。

○鈴木座長 II のところで「試験結果概要」です。

動物代謝で表のところの数値が変わっているところがあります。これも問題ないですね。

このページの次ところで「農薬抄録 278 頁表 2 中の試料採取時間の記載の再確認」という部分があるんですが、これは問題なかったですか。

○平塚専門委員 再確認して、訂正しているだけのことです。

○鈴木座長 誤記であったということで、直していただきましょう。

植物代謝は問題ないようです。

土壌中の関連も問題ないようです。

水中の関係も問題ありません。

土壌残留のところですが、これも容器内、圃場ともに問題ないです。 作物残留については、後ろの方にまた細かい表が出ていると思いますが、これも特に問題ないと思います。

急性毒性から毒性の方に入りますが、90日間亜急性は今ところで済みましたが(1)の90日間ラットのところで、今の要求事項3の前のところに500 ppm以上の投与群の雄で体重増加抑制、雌でMCV及びMCHの増加等が、これは増加等の傾向がですね。認められたことからというNOAELの設定根拠が入っております。

○木下課長補佐 「傾向」が要らないですね。

○鈴木座長 どうでしょうか。増加等が認められたということでいいですね。

次に90日間マウスのところで、これもやはり次のページの17行目のところにNOAEL設定根拠が書き加えられています。

イヌについても同じく一番最後の35、36行目に根拠が書かれています。

亜急性神経毒性は、これも14行目、15行目辺りのところに根拠が加えられました。

慢毒のイヌ、これも31行目に根拠が加えられています。

○木下課長補佐 根拠が複数のときは、○○等としていますので、その選び方でもし違った方がいいというものがあればお願いいたします。

○鈴木座長 何か付け加えなければいけない。特に言っておかなければいけないところで、不足はないかというようなところはちょっと委員の方々に注意をしていただきたいと思います。

今までのところは問題ないですね。

慢毒のイヌ、これが31行目です。

24か月慢毒のラットは15行目に書かれているのが根拠です。

発がんは、次のページの13行目の200 ppmでという話です。

18か月のマウス、生殖発生のところは、いずれも根拠が書き加えられています。奇形のラットとウサギのところ、遺伝毒性のところもあって、一般薬理試験が表として加えられました。

これは、データはあったんだけど、前には書いていなかったということで、今回新規に加えられました。これは小澤委員でしょうね。

○小澤専門委員 一応確認しまして、もう一つの剤でも大体似たようなところですが、弱

い中枢抑制があるかなというところと、やはり若干腎機能障害があるのかなということです。

抄録では、散布剂量に伴って摂取されたり、誤って誤飲された場合に、急性中毒を生ずる可能性は低いと結んであります。結構かと思います。

○鈴木座長 それはどうするのでしょうか。ここで特に書き加えることはないですね。

○小澤専門委員 特にございません。

○鈴木座長 従来と違うのは、無作用量のほかに、作用量が書かれているということでしょうか。ちょっと様式が違いますが、かえってわかりやすくなっているかもしれません。

「その他の毒性試験」のところですが、肝の過酸化脂質、*in vitro* の溶血、血清及び尿中鉄の分析、ビタミン B12 同時投与、鉄の消化管外投与です。

1 番目と 2 番目のコメントがありまして、6 番目に十二指腸粘膜鉄吸収及び輸送への影響試験ということで、一応これで全体的に問題なかったと思います。

「総合評価」のところに入っていきますが、代謝試験に関連して、動物及び植物、土壌、水のところまでで、特に問題のある表現というのはございますでしょうか。これは前に 1 回やってありますので、その辺のところは問題ないのかなと思います。

急性と亜急性の方に移りますが、よろしゅうございますか。いいですね。

急性と亜急性、LD50 関係のところから亜急性試験でイヌ、ラット云々のところは神経毒性なしです。

次のところからストロビルリン系化合物の十二指腸への影響の共通のメカニズムとしてというところで、これはちょっと見ていきましょう。「これらの化合物は食餌中の Fe^{3+} イオンとキレート結合し、十二指腸粘膜の鉄捕捉タンパクによる捕捉を妨げ、同時に上皮細胞での吸収メタルトランスポーターと体内への輸送機構を阻害し、血清鉄濃度を低下させるとともに、幹細胞における Fe^{2+} イオンのエンドソームからの汲み出しを抑制し、強い鉄吸収要求を持続させ、粘膜面積の拡大と細胞増殖活性亢進をもたらすと考え。ただし、ストロビルリン系化合物には変異原性がなく、十二指腸に対する本毒性には閾値があり、投与を中止すれば完全に回復することが確認されている」ということなのですが、若干修正しないといけないんですか。でもピラクロストロビンの方は、腫瘍に至るような強力な十二指腸の増殖はなかったの、どうしようかということなんです、病理の委員方は、特にこの表現は気になりませんか。

○廣瀬専門委員 細胞増殖活性の亢進をもたらすというところだけがちょっと気になります。

○鈴木座長 言い過ぎですね。

○廣瀬専門委員 言い過ぎになります。

○鈴木座長 どうでしょうか。その前のところのキレート結合し云々というのは、証拠がないということになるんですか。

この場合、細胞増殖活性亢進の話というのは、ピラクロストロビンの場合はやはり言わないとまずいですか。十二指腸の増殖性の変化というのは、強く出ていましたか。

○廣瀬専門委員 高くなるということはありません。だから、もう粘膜面積の拡大だけではいけないんですか。

○鈴木座長 これは、どうしようかな。1つの機序として、血清鉄の著しい減少という次の部分との関係で、ちょっと修文しないとまずいかなとは思いますが。

ここでは、下線の引かれている部分で問題なのは、細胞増殖活性の亢進をもたらすというところが、鉄の欠乏状態との関係だけで話しているところがあるので、これを修文しないとまずいだろうということですね。

○木下課長補佐 今までの議論を聞いておりますと、「細胞増殖活性の亢進をもたらす」がこの部分にあるのは、やはりよろしくないと思います。それを消して「考える」と「ただし」の間に、先ほど、最初の問1のところでは座長がお話された文書を入れていただくのがいいと思いますが、いかがでしょうか。

○鈴木座長 この委員会としては一番筋が通りますね。そうすると、やはりこの位置にあるのはふさわしくなくて、この剤にはどうも細胞増殖活性を直接引き起こすような作用があるかもしれない話を入れないとまずいと思います。

大筋をお話すると、先ほどお話ししたようなところで修文させていただくと思います。

次の四角の中に「本剤の毒性発現は報告がなく、また今回大変詳細なメカニズム試験が行われているので、公開したときのことを考えると作用機序の概略を記したほうが読む人にわかりやすいと思います」という指摘があつて、これはその5行目以下のところがそのことになっているのでしょうか。

○吉田専門委員 いえ、違います。アンダーラインの部分です。

○鈴木座長 そういう意味ですか。わかりました。そうすると、若干修正をして、先ほどの部分も加えながら、一応事務局の方から委員の皆様にもう一度確認することになります。

その次の5行目からの「したがって」というところも、これは血清鉄の話のこと「十二指腸壁肥厚及び粘膜過形成」が、この血清鉄の減少をベースに書いているんですが、これもやはりちょっと書き直す必要があるということになります。

○石井専門委員 8 行目の「また」のところが、前の表現と矛盾しますので。

○鈴木座長 そうですね。これはどっちが本当なんですか、「ピラクロストロビンの鉄イオンに対するキレート作用は認められなかったが、代謝物 M07」。

○石井専門委員 さっきのだとキレートとなっているんですね。

○木下課長補佐 5 行目から 9 行目は、吉田専門委員のコメントを入れていただく前の、前回のものをそのまま消さずに残していただけですので、矛盾があるんだと思います。それは整理いたしたいと思います。

○鈴木座長 そちらの下線の部分を修正すればいいわけですね。

○木下課長補佐 場合によっては、5 ～9 行目の部分を消して、吉田専門委員のコメントの方に入れると。

○鈴木座長 そうですね。その方がわかりがいいですね。

そうすると、そこは決着が着いたとして、10 行目から 15 行目は、ピラクロストロビンによる貧血が低色素性貧血であるということについての考察みたいなものです。これは問題ないですね。

それから、16 行目から 19 行目、慢毒発がん、あるいは 2 世代の NOAEL、発生毒性の NOAEL が更に続いて、遺伝毒性の話になります。代謝物の遺伝毒性の結果もあって、そうすると文章はそういうことなんですが、表として「各試験における無毒性量」という表が表 21 に出てきます。最低毒性影響量。

○江馬専門委員 無毒性量設定の根拠ですね。

○鈴木座長 そうですね。

○江馬専門委員 最低毒性量ではなくて。

○鈴木座長 これは何なんだろう、本当は LOAEL のことを言っているんですか。

○江馬専門委員 NOAEL 設定の根拠。

○鈴木座長 だから、NOAEL は左側からその隣にあるわけですか。

○江馬専門委員 いや、一番右のカラムです。

○鈴木座長 一番右のカラムですね。ここは間違っていますね。こっちではなくて、無毒性量設定の根拠ですね。

○木下課長補佐 こどうしましょうか。LOAEL に認められた所見とか、より直接的な表現にしますか。書いている内容は、LOAEL で認められた所見になっているんですね。

○鈴木座長 そうですね。その方がいいですかね。LOAEL の毒性所見。単に毒性所見でも、下にト書きを入れればいいのかも说不定。

○江馬専門委員 備考ではまずいですか。

○鈴木座長 備考か、賢いですね。その方がやりやすいですね、ほかのことも書けるかもしませんね。LOAEL というのは最低毒性というんですか。

○木下課長補佐 直訳してしまったので、適切な訳があれば。

○武田専門委員 最小でしょうね。

○木下課長補佐 最小ですか。影響は要らないですか。最小毒性量ですね。

○江馬専門委員 ちょっと調べてきます。

○鈴木座長 それで、一応、マウス、ラット、生殖のウサギ、イヌがあつて、この中で最も低い NOAEL はということになりますが、2つの試験で、ラットの慢性毒性試験で 3.4 mg/kg、それからラットの発がん試験、24 か月投与で、やはり同様に 3.4 mg/kg ということで、安全係数は 100 ですから、ADI が 0.034 という形になります。問題ないですね。

従来、こういうふうに ADI 設定のときに、根拠が幾つかある場合というのは、全部書いているんですね。

○木下課長補佐 過去、2つを併記した例が 2 回ぐらいあります。

済みません。この繁殖と催奇のところなんですけれども、備考が長く感じるんですけれども、これでよろしいでしょうか。

○江馬専門委員 長ければ、雌雄とか雄、雌を取ったらどうでしょうか。

○木下課長補佐 一応本文と同じ内容ではあるんですけれども、よろしいですか。

○鈴木座長 これはやはり LOAEL で認められた所見なので、実際はもっと強い毒性が高濃度のところではあるんだけど、そういうのは消えているんでね。それはそれでいいですか。全体として、各試験のところで細かく見るなら前に戻れば見えるわけですから、これでいいですかね。

○木下課長補佐 前回の高木専門委員の指摘のときも、LOAEL の根拠という指摘だったと思います。

○鈴木座長 よろしゅうございますか。

○林専門委員 今のところなんですけれども、催奇形性は認められないとかいうような表現は全部消してあるけれども、ここのカラムをもし備考というようにしてしまうなら、こういう重要な結論的なものは残っていてもいいのかなと今、思いました。

○鈴木座長 そういえば、モニターさんの会議で、ホームページに出てきた場合には、例えば、発がん性は認められないというのが書いてないと、これは逆に発がん性があるんだという解釈になりますと。ただ、そのときに遺伝毒性ではないので ADI は設定できます

と読んでくださいと説明してしまったんですね。だから、抜くとまずいですね。

○木下課長補佐 一番最初の要約には書いてあるんですね。

○鈴木座長 ただ、どうでしょうか。やはりこれは残しましょう。

○木下課長補佐 わかりました。では、残しましょう。

○鈴木座長 神経毒性、発がん性、繁殖毒性、催奇形性、それは残しましょう。

○木下課長補佐 スペース確保のために、この表に限って体重/日を **bw/d** にさせていただけると、半角 3 文字空くんですけども。

○鈴木座長 それから、もしこのところが備考ではあるけれども、ト書きにすれば、**L OAEL** のところは隣に何 **ppm** の話があるので、用量の話は全部抜くことができると思います。

○木下課長補佐 そうすると、例えば、マウスの亜急性で言うと、**150 ppm** というのはわかっているので、雄体重減少、雌胸腺萎縮等、以上でもいいんじゃないでしょうか。

○鈴木座長 そうすると、スペースは大分減ります。ただし、ト書きにこのところは **L OAEL** の毒性所見であるとしたらいいと思います。

それですよろしければ、ピラクロストロビンのところは **ADI** が設定できたということで、若干事務局の方で総合評価のところの清書作業が残ります。

どうぞ。

○武田専門委員 済みません。その総合評価のところで、11 行目なんですけれども「N-脱メトキシ化とそれに続く開裂化合物の酸化」と書いてあるんですけども、代謝経路は水酸化なんですね。私は英語のときは直しているんですけども、今までサボって見ていませんでした。これを見たら明らかに、酸化というのは **OH** がケトンになるとか、あれは酸化ですけども、これは **OH** が入るヒドロキシレーションですね。

○鈴木座長 なるほど、そうすると水酸化ですね。

○武田専門委員 大分、英語の方は直しています。実際、そうなっているかどうか知りませんけれども。

○鈴木座長 その前の方のラットの代謝のところで、適用を修正しないとまずいところがあるかもしれませんね。こっちは水酸化になっていますね。あるいはエーテル結合の開裂と随分違いますか。

○武田専門委員 中には開裂と書いてあるけれども、加水分解がいいものとか、それは細かく言い出したらいろいろあります。

○木下課長補佐 エーテル結合の開裂と、それに続く酸化ですね。

○武田専門委員 あれも入ると加水分解なんです。エーテルが離れるんだから。

○木下課長補佐 それは御議論していただいて。

○鈴木座長 加水分解ですか。

○武田専門委員 だけど、メトキシなんかは加水分解ではないものもありますから、あれはもう開裂でよいのでは。もう一つはトランスファーとか、いろいろあるんでしょうけれども。CN なんかの場合は本来は加水なんです、 H_2O が入るわけですから、ですけれども、通常は加水分解と言っているから加水分解と書きましたけれども。

○鈴木座長 わかりました。そうすると、その辺は若干適語修正しなければならないようであればするということですね。

○木下課長補佐 ほかの委員にも聞いていただいて。

○小澤専門委員 これは、個々の化合物の構造変化をとらえて見るか、あるいは結果を見るかという、それだけの違いだと思うんです。英語でも開裂というのは **cleavage** といういい言葉もありますし、私はこれでいいと思っています。

○武田専門委員 今のものは明らかに化合物が固定されてしまっているわけですね。OH が入ると。ただ、私はエーテルは妥協しましたけれども、厳密には加水分解ですね。上の方にあるでしょう。N が外れた後の。

○小澤専門委員 最後のマップのところでいくと、主代謝物。

○武田専門委員 要するに、M08、上の2番目、これなんでしょう。

○小澤専門委員 そうですね。

○武田専門委員 一般論じゃないわけです。一般論なら私は何も言いませんよ。08と特定しているから、これは水酸化ですよということです。反応が特定できるものははっきりさせた方がよいと思います。総合評価で幾つものを纏めていうときにはそれでいいと思いますが。

委員が言ったように、一般的に壊れるということでは、それでも構わないですよ。

○小澤専門委員 わかりました。M08 だったら、確かに水酸化ですね。ですから、特定していますので、済みません、水酸化ということで。確かに、M08 と特定されていますので、そうだと思います。

○鈴木座長 決着が着いたようです。

どうぞ。

○長尾専門委員 済みません。総合評価の21、22行目です。発生毒性のところ、ここは今までどうなっていたかちょっと忘れたんですが、兎動物というふうになっているんです

が、発生毒性試験、通常は胎児でやりますから、ここはもう両方とも胎児の方がいいと思います。

○鈴木座長 なるほど、繁殖と違いますからね。2 か所ありますね。ありがとうございました。

それでは、ピラクロストロビンについて、ADI が決まったということで、次の物質に移りたいと思います。比較的効率的に進んでおります。オリサストロビン、これは若干議論しないといけない部分が残っているような気がいたします。

追加資料要求が 6 項目出ていたと思います。共通のところで、かなり議論がしてあります。それは恐らく 3 の項目で、十二指腸の影響についてというところが終わっていると考えていただきますと、追加資料の 1 のところから議論していけばいいんですか。そうしますと、最初が 24 か月慢性毒性／発がん性試験で、高用量群として最大耐量を超える 5000 及び 7500 ppm を設定した根拠、それからこれらの投与群をと殺処分とし、長期飼育した場合に悪性腫瘍が発生している可能性がある 5000 ppm 投与群においてもデータを取らなかった、解剖だけだった、その理由をという話を聞いています。

これは、評価書の 16 ページのところにあります。

○廣瀬専門委員 これは、まず 90 日間の亜急性毒性試験の結果から、最高用量を 2500 ppm が妥当だと考えられていたわけですがけれども、ある理由によって若干異なったストレインのラットを使わざるを得なかったために、それより高用量である 5000 ppm と 7500 ppm を加えたということです。

しかしながら、高用量では摂餌量あるいは体重減少が非常に顕著になってきて、一般状態が悪化したために、生理状態が極めて悪化した動物では科学的価値のある追加情報が得られないというふうに判断して、病理検査をすることなくと屠殺してしまったということです。

それから、こういうような屠殺はドイツでは一般的で、動物福祉に関することなので勘弁してくださいというような話だと思いますけれども、科学的なセンスのある人だったら、特に 5000 ppm では 1 年以上も飼っていますので、十二指腸ぐらいいは見ているだろうとは思いますが、見ておらずに、そのまま殺してしまったというんですから、もうしようありません。ですから、これで納得せざるを得ないということです。

○鈴木座長 もう一方の病理の委員からも、この点について激しくお怒りの御意見が出ておりまして、何で殺すだけでデータを取らなかったんだと言われているんですが、これはそれ以上言ってもしょうがないですね。

○武田専門委員 書いておけばいいのに、そこは実験しているんだから。

○鈴木座長 その下のところで、十分データはあるし、担保されているというふうに考えれば、不幸中の幸いかなというふうには思いますけれども、そういうことだそうです。よろしゅうございますね。

そうしますと、要求事項 2、これはやはり 24 か月の慢毒／発がん併用試験で、甲状腺濾胞細胞の腺腫について、甲状腺への影響に関する作用機序を明らかにするために、肝薬物代謝酵素誘導のプロファイルについて、より詳細なデータを提出することというコメントが出されております。これについては、いかがですか。

○小澤専門委員 これについては、たしか前の資料でグルクロン酸抱合酵素として、代表的基質ではあると思うんですけれども、パラナイトロフェノールのグルクロン酸抱合活性を示してあったんですが、そのほかの活性については、余りきちんと調べられておりませんし、特に T4 のクリアランスに最も関連する酵素活性、そういう UDP グルクロン酸転移酵素の活性をはかってほしいということで、こういうコメントを出したんだと考えられます。それで、データに関しては、よくやられておりまして、この考察ともにこの回答を了承したいと思います。

○鈴木座長 よろしいですか。私がよくわからなかったのは、過塩素カリウム負荷の試験のところですが、これはどういう試験だったんですか。

○小澤専門委員 これは、過塩素カリウムではなくて、過塩素酸カリウムですか、これは肝臓を介した間接的作用、つまり薬物代謝酵素の誘導で説明できることなのか、あるいはそうではないのかということを示すために行われた試験なんですけれども、直接的作用を有するプロピルチオウラシルとフェノバルビタールとを合わせてやったということです。

○木下課長補佐 その概要については、その他の毒性試験の部分に記載してあります。

○鈴木座長 基本的に肝臓での代謝亢進に伴うような 2 次的な現象であろうということ、この実験で証明したということですね。これで了承ということであれば。

○小澤専門委員 そのとおりで結構です。

○鈴木座長 要求事項 3 は、先ほどは共通の項目のところで行ったのですが、病理の委員方、これは全部含まれているんですか。

○廣瀬専門委員 はい。これはいいと思います。

○吉田専門委員 写真もいいんですか。

○廣瀬専門委員 写真はだめです。

○鈴木座長 それは、3 ではなくて 4 ですか。写真はあるんですか。

○吉田専門委員　あります。

○鈴木座長　写真を提出するとともにですね。その写真について何か言われるんだったら、言っていただきたいと思います。

○吉田専門委員　廣瀬委員にも補足していただかなければいけないのかもしれませんが、今回 520F の十二指腸の病理組織写真を出していただいています。まず、個々にというよりも非常に、先ほどのピラクロストロビンの写真はきれいだったんですけども、今回は特に腫瘍に、マウスの発がん性試験及びラットの発がん性試験、特にマウスの発がん性試験の写真の画像が粗くて、まるでモザイクのようになっておりまして、この写真だけを拝見いたしますと、組織診断ができないものが多いというのがございます。

特にその悪い画像の中でも拝見しますと、本当にこれはラットの場合は恐らく過形成、腺腫、腺がんと内腔に向かって増殖していくパターンだと思うのですが、なぜこれを腺がんにしたかというものがあまして、私だとこれはまだそれほどではないというのがありますし、一番すごいのが、恐らく粘膜ではなくて、漿膜面というか、粘膜下織に浸潤するというダウングロスをするものについては、悪性所見が高いということで、腺がんにすることが多いのですが、このマウス発がん性試験の写真 23、24 なのですが、恐らくこれは切れ方ではないかと。そこに入り込んでいると思われる細胞には、私はこの写真の倍率とこの解析度からは、悪性度、異型性は認めませんので、切れ方ではないかと思うものまでがんにしていますので、その辺はちょっと不満がございます。

○廣瀬専門委員　ちょっとどころではなくて、これは非常に初歩的な人が見ているとしか言いようがないんです。だから、全体的に診断が本当に大丈夫かなというような危惧が、この写真を見ただけで起こってきてしまうことになるんです。

○鈴木座長　実際に十二指腸の腫瘍、粘膜の肥厚、腺腫といったようなところというのが、もしかすると減るかもしれないぐらいの話になるわけですか。

○廣瀬専門委員　アデノカルシノーマと言われているほとんどのものは、過形成かせいぜいアデノーマではないかと思えます。

それと、FIG の 14、15、これはマウス発がん性試験ですけども、上が弱拡大で、下がその一部の強拡大で、十二指腸の変化ということになっていますけれども、下の強拡大の写真を見ると、これは明らかに胃なんです。幽門部には近いですけども、胃の粘膜の病変を十二指腸だといって、それもアデノカルチノーマと診断しているので、全体的に病理学的な評価に対して、非常に不信感を持っています。

○鈴木座長　我々、勿論、ここで十二指腸の増殖性の変化というのを、神経質に考えてい

ろんなコメントを要求してきたんですけれども、それ自体が無意味だったかもしれないと。

○吉田専門委員 ラットの24か月の反復毒性／発がんの写真のFIGの図の15、16に関しては、恐らく分化型の腺がんでよろしいのかと。

○廣瀬専門委員 これもわかりません。

○吉田専門委員 あえて言うなら、この辺りが若干、ただ多層化とかしてないんですね。

○廣瀬専門委員 それと同じような写真で、これはアデノカルチノーマになっているけれども、もうちょっと前のもので、アデノーマとなっているのがあります。

○鈴木座長 今の15というのは、胃じゃないの。あ、ラットね。

○吉田専門委員 ラットです。いずれにしろ、恐らく少し頻度が下がるかなというのは、この写真を拝見した上での感想です。

○鈴木座長 ピラクロストロビンのところは十二指腸、低倍のところは非常にきれいな写真が出てきてと思って、感心していたんだけど、オリサストロビンの方はちょっとそうも言えないですね。

○廣瀬専門委員 特に腫瘍のところが悪くなっているんで、意識的に何か隠そうかというような魂胆も疑ってしまいます。言い過ぎかも知れませんが。

○村上評価課長 今日の長い熱心な御議論をお聞きしていて、その根幹に関わる部分であるように思いますので、これは申請者にきちんとしたものを出していただかないと、これはせっかくの今日の議論が。

○鈴木座長 しかし、これは悩めますね。

○武田専門委員 そんなにひどいですか。

○鈴木座長 そうではなくて、十二指腸だと言いながら、マウスの方では確かに胃の部分がでてきていたりというようなところがあって、それはちゃんと胃だと書いてあるんです。だから、それ自体は問題がないんですが、トータルで見た場合はどうなのというところがいろいろある。

それから、写真が鮮明でないというのも事実だし、腫瘍の診断のところで若干疑問がある。それで頻度は恐らく下がるだろうというような話というのは、今の話からすると確かにある。

あと、村上課長からは、根幹に関わる問題だから、これは何とかしなくてはいけないという話なんですけど、実際どうするのが一番いいのかなと。

○木下課長補佐 今議論になっているのは、長期のラットとマウスの腫瘍に関する発がんですか。

○吉田専門委員 特にマウスは写真の画像が悪いので。

○木下課長補佐 写真であれば、撮り直すという手はあると思うんですが。

○廣瀬専門委員 ピアレビューでもしてもらうのがベストですけども、そこまでできないのでしたら、やはり少なくともきれいな写真を出してもらわないと判断できない。

○鈴木座長 どうしますか。そうすると所見がもしかしたら誤っている可能性が出てきてしまうということになって、その場合、我々が今日のところでしてきた議論は一体何なんだということになってしまうんだけども。

○廣瀬専門委員 良性腫瘍までは確実に出ていると思うんです。

○鈴木座長 そうすると本質的に増殖性の変化があることについての議論は間違いではなかったということになるわけですかね。そうすると写真をどうしましょう。

○廣瀬専門委員 写真はちゃんとしたものを出してもらわないといけないと思いますけれども。

○鈴木座長 写真が出てくるまで、またペンディングにしますか。その辺のところもよくわからない。

○廣瀬専門委員 向こうががんと診断しているのをグレードを落とすわけですから、大筋の議論はほとんど変わらないと思います。

○村上評価課長 今のお話も、見てみないとわからない部分だろうと思いますので、見ていないうちに結論は出せないような気がしますから、むしろその申請者に出せと言って、申請者の方がどういうふうに素早く対応してくるか。

○鈴木座長 それを見ましようかね。やはり今、廣瀬専門委員が言ったように、がんの問題が軽減してくる可能性が高いのだからという話のところが理解されれば、ちゃんとした写真を見せろと。

○木下課長補佐 基本的に GLP ですから、信用はしていると。数字は変わらないと信用はしているんだけど、勿論その一部をサンプリング的にきれいな写真を要求することは可能だと思うので、気になる部分の鮮明な写真を見たいという要求はもっともだと思います。

○鈴木座長 そうであれば対応できますね。

○木下課長補佐 場所を指定して、このマウスのこれとこれと指定して、正式に要求するということをお願いしたいと思います。

○鈴木座長 ラットも一部ということになりますかね。

○廣瀬専門委員 何と言われても、少なくとも、この FIG . 23、24 の診断は改めてもら

わないといけない。

○木下課長補佐 分かりました。

○鈴木座長 そうすると、一部診断が変わると、表のところも変わりますね。そこを本質的には恐らく今日してきた議論で、そんなに外れていないと思われるので、大至急、今の部分のところを委員に場所とか動物のところを指摘してもらって、鮮明な写真を出していただく。あと、評価について修正すべき点は修正して表を直していただく。

ただ、これがその GLP だということになると、直らないという話はあるかもしれないんですが。

○木下課長補佐 確認しますけれども、マウスですね。マウス発がんの十二指腸でよろしいですね。

○吉田専門委員 はい。

○廣瀬専門委員 ラットもですね。ラットの腫瘍性病変については、やはり写真が欲しい。FIG の 31、32 はラットですし、もう一つは FIG の 15、16。それから、13、14 もそうですね。

○木下課長補佐 そうすると、今回要求して出てきた写真は全部ピンボケだと。撮り直してくださいという感じですか。

○吉田専門委員 そうですね。

○木下課長補佐 もともと前回要求するときに重要な部分を限っていますので、その部分について、より鮮明なものということだと。

○廣瀬専門委員 申請した方は、この写真を見て判断できているんじゃないかな。不思議です。

○鈴木座長 確かにひどいですね。何か共通の事項のところで、ちょっと早とちりし過ぎてしまったかな。

どうしましょう。特に絞り込んで、もう少し枚数を減らせるならば減らしてやるか、あるいは。

○木下課長補佐 廣瀬委員の御指定のものを全部要求いたします。

○廣瀬専門委員 基本的にこのびまん性の過形成だとか書いてある写真は、そう重要ではないからいいと思うんです。

○木下課長補佐 では、確認いただいて要求いたしましょう。

○鈴木座長 そうですね。もう一度。

それでは、それは出てきたところで委員に見ていただいて、またフィードバックしても

らう形になりますか。

○木下課長補佐 まだ5番以降が残っていますので。

○鈴木座長 わかりました。表現を記載を整備した部分というのが次にあります。これは問題なくて、4のところは、マウスの18か月発がん試験で2000 ppmの肝臓への所見について、組織写真を示しつつ雄雌で肝臓への影響のパターンを異なる理由について考察した資料を提出せよと。これについては。

○吉田専門委員 申し上げます。回答資料を拝見しまして、雄につきましては写真も付けていただきましたので、小葉中心性に肝細胞が肥大していることは確認いたしました。

雌につきましては、あまり小葉周辺性というか、門脈域というのは、はっきりはしないのですが、恐らく肝細胞がそういう静脈性のものを中心に肥大しているということは確認しましたので、この写真自体は受け入れたいと思うのですが、ただ、この追加要求資料事項の回答の中、回答の4のところの下に考察の部分に、肝細胞内の肝酵素の部分が性差があるようなことが書かれているのですが、多い少ないというのがあっても、分布が性で違うということはあるのかを代謝の委員に伺えれば、この件は了承いたします。

○小澤専門委員 吉田委員、済みません。分布とおっしゃる意味は、局在ということですか。

○吉田専門委員 雄では小葉中心性にはれていて、雌では小葉周辺性なので、例えば、そういうことがあるのかどうか。ただ、今回いろいろな酵素が動いているようですから、それはそういう事実としてあるのかもしれませんが、そこをちょっと教えていただきたいと。

○小澤専門委員 わかりました。局在が薬物代謝構造の分子によって変わるということはいくつも知られていることなんです。ですから、それはあながち間違いだとも言い切れないものがあります。

ただ、何を見ているかにもよりますが、同じものを見ていて、局在に性差があるからというものはそれでいいんですけれども、性差がないはずの分子種を見ているはずなのに違って見えるというのは、ちょっとおかしいということになります。それは何を見ているものですか。

○吉田専門委員 ヘマトキシリン・エオジン染色ですから、何もそれ以上のことはわからないんですけれども、ただ、そういう局在が性差で違うということならば、肝細胞のはれる部位が違っていいのかもしれないので。

○平塚専門委員 第一相酵素と第二相酵素で性差がかなりある代謝酵素がありますから、例えば、雌の方ではこの部位では発現していないんだけど、雄ではすごく発現してい

ると。そういった酵素分子種が特異的に発現誘導されていた場合には、雌雄で酵素分子種の局在が異なる状況になるかも知れないので、結局は分子種の抗体を分けてみるとかしないと、ちょっとわからないかなと。先ほど、小澤委員がおっしゃったのと基本的には同じです。

○吉田専門委員 それならば、この件は了承いたします。

○鈴木座長 考察の中で言っていることのようなので、とりあえず表現上の問題だというふうには思います。了承ということなので、先に進みますが、よろしゅうございますね。

コメントとしては、5 番目のところで繁殖試験関係についてのことになります。膣開口に関する問題。胸腺重量に関する問題のところですよ。どちらからでも結構ですが。

○江馬専門委員 膣開口が遅れて、5.7 日と。大体 6 日遅れていまして、しかも膣開口完了時の体重が大きいということでコメントを出したのですが、体重には有意差がなかったので、体重の遅れによるのだろう回答なのですが、もうちょっと詳しい説明がなされてもいいのかなと思います。

回答書のところを見ますと、どう見ても膣開口の体重がドーズディペンデントに上がっているというふうにはしか見えないので、背景データなり体重のばらつきなりということを加味した回答を要求したいと思います。

○鈴木座長 長尾委員は。

○長尾専門委員 私もできれば、もう一度考察というふうにしてほしいんですが、この膣開口に関しては、恐らくこれ以上クリアーな考察は出てこないのではないかなと。確かに体重が増えているんですが、この膣開口は結局考え方を換えれば、対照群は例えばですが、32 日で膣が開口したと。実際、一番高い 1500 ppm のところを 32 日目はどうかというと、体重は低いということですね。

だから、私はもう発育が少し遅れているからという考え方でもいいのではないかなというふうに現時点では考えておりますが。

○鈴木座長 今の長尾委員の説明がわかりやすかったかと思うんですが、実際の体重で見ると、膣開口日の体重は確かに大きくなっていますよということなんだよね。それが日にちが後ろの側に行っていますから、その意味で対照群に比べると発育遅延が、例えば対照群で膣開口が 32 日のところではあったはずだというような、そういう意味合いの説明なんだというふうに考えると、一部合理的な部分もあるかもしれない。

それから、膣開口日の体重について、有意差がないということは、基本的にはばらつきが大きくて評価ができなかったというようなことでしょうか、確かにこれ以上データが

出てくるとも思えない。

問題は背景データを求めるということなんだけれども、こうなると今までの経験からすると、相当にばらつきが出る可能性もあるし、恐らくは影響がないという方向に動くことが多いので、どうしようとか。

○江馬専門委員 多分、結果はそういう回答しか出てこないかもしれませんが。

○鈴木座長 では、そうしますか。それができるまで、やはり判断できないと。

その次のところが胸腺。

○長尾専門委員 これもというか、特別、繁殖性に直接影響のある問題ではないので、それとあと 90 日の反復投与毒性試験の高用量でこのような変化が同じように出ているかという、出ているわけではないので、ここで向こうから得られた回答の要約を見て、私としては満足しております。

ということで、胸腺重量と比重量の低下というのは、体重の減少の結果としての投与関連性のある 2 次的作用であると判断するというふうに結論づけていますが、これで結構だと思います。

もう一つ、免疫毒性作用は、3 つほど理由を挙げておりますが、そういう理由から免疫毒性作用はないというふうに判断しているのも同意できますので、この問題はこれで結構だというふうに思います。

○鈴木座長 膣開口だけがコメントをとということになったようです。

○江馬専門委員 膣開口に関しても、このぐらいの回答はできるはずです。胸腺重量と体重の関係とかという図もつくってきているわけで。

○鈴木座長 同じようなことをやれば、統計的な観測もできたんですか。

○江馬専門委員 それはできるはずだと思います。

○鈴木座長 それで、生殖発生毒性、繁殖を含めて、問題はよろしゅうございますか。

あと 6 番目。これはどこだ。鉄補給試験。26 ページ。ラットを用いた鉄補給試験における保存組織で PCNA 染色を行い、十二指腸粘膜の増殖変化を確認した資料を提出すること。これも一応やったんだけど、念のため、廣瀬委員。

○廣瀬専門委員 これは先ほどのディスカッションで大体済んでいると思いますので。

○鈴木座長 終わっているということになります。

さて、そうすると写真の再提出をというのと膣開口に関して再度考察をせよという部分が、どうしてもコメントを必要とするということにはなるのですが、どうしますか。それがもし出てきたとして、最初の方の写真というのは大筋では恐らく今日の議論はかわるま

いという話。

　　膾炙人口の方も大筋どのようなデータで出てくるかは予測がつくという話で、作業をもうちょっときちんとしろということのようですから、ここも総合評価に関係するようなところまで議論を進めるかどうか。

○村上評価課長　エビデンスの話なので、今日のお話を聞いていても、ほとんど結論はできているように思いますが、エビデンスを出してもらった上で、最後の総合評価を御判断いただいた方がよろしいのではないかと。

○鈴木座長　客観的にその方が安心ができるし科学的だろうということで、ではということとで伺いますが、念のための更にコメントとして聞いておきたいというようなことがあれば。ほとんど議論をし尽くしたようには思うのですけれども。

　　なさそうですね。それであれば、今回はここまでの議論にとどめて、エビデンスベースの議論に立ち返りたいということで終わりにしたいと思います。

　　事務局の方から、その他の関連して何か。

○木下課長補佐　長時間ありがとうございました。ピラクロストロビンにつきましては、今日の議論を受けた修文を確認いただいて、パブリック・コメントの手続に入ります。

　　オリサストロビンについては、今いただいた 2 問の要求文案を御確認いただいた上で要求いたします。

　　次回はやっと 1 月のスケジュールに戻って、7 月 20 日 14 時から、お願いいたしたいと思います。

○石井専門委員　次は何ですか。

○木下課長補佐　今、用意しているのは、ノバルロンとフロニカミドです。

○鈴木座長　本当に長時間、どうもありがとうございました。