

食品安全委員会動物用医薬品専門調査会確認評価部会

第7回会合議事録

1. 日時 平成20年7月16日(水) 13:30～15:20

2. 場所 食品安全委員会中会議室

3. 議事

(1) 動物用医薬品(オキシベンダゾール、ジシクラニル、セファレキシン)

に係る食品健康影響評価について

(2) その他

4. 出席者

(専門委員)

三森座長、井上専門委員、今井専門委員、津田専門委員、
寺本専門委員、頭金専門委員、能美専門委員

(食品安全委員)

見上委員長、小泉委員、長尾委員、廣瀬委員

(事務局)

日野事務局次長、北條評価課長、猿田評価調整官、
関谷課長補佐、田中評価専門官

5. 配布資料

資料1 (案) 動物用医薬品評価書 オキシベンダゾール

資料2 (案) 動物用医薬品評価書 ジシクラニル

資料3 (案) 動物用医薬品評価書 セファレキシン

参考資料

6. 議事内容

○三森座長 ただいまから、第7回動物用医薬品専門調査会確認評価部会を開催いたします。

本日は皆様御出席でございます。

では、議題に入りたいと思います。本日の会議全体のスケジュールにつきましては、お手元に「第7回動物用医薬品専門調査会確認評価部会議事次第」が配付されておりますので、御覧いただきたいと思います。

議題に入ります前に、事務局より、議事、資料などの確認をお願いいたします。

○関谷課長補佐 本日の議事は、動物用医薬品に係る食品健康影響評価、オキシベンダゾール、ジシクラニル、セファレキシンとその他ということになっております。

まず、資料等の確認になります。本日の議事次第、委員名簿、座席表、それから、資料は1～3番まででございます。

資料1が「(案)動物用医薬品評価書 オキシベンダゾール」。

資料2が「(案)動物用医薬品評価書 ジシクラニル」。

資料3が「(案)動物用医薬品評価書 セファレキシン」。

その他に参考資料といたしまして、少し分厚い文献、海外での評価書をまとめたもの。

それから、薄い文献の「Detection of oxidative DNA damage, cell proliferation and *in vivo* mutagenicity induced by dicyclanil, a non-genotoxic carcinogen, using *gpt* delta mice」という文献を配付させていただいております。

資料については以上です。不足の資料等はございますか。

よろしいでしょうか。

○三森座長 それでは、議題の1に入らせていただきます。動物用医薬品に係る食品健康影響評価でございます。

まず、事務局から説明をお願いいたします。

○関谷課長補佐 それでは、説明させていただきます。資料1のオキシベンダゾールです。

オキシベンダゾールにつきましては、資料1の2ページに、審議の経過が載っておりますが、2007年の7月に厚生労働大臣より残留基準設定に係る食品健康影響評価についての要請があったということで、本日、確認評価部会に初めて上げさせていただいております。

続きまして、5ページ、オキシベンダゾールの用途としましては、寄生虫駆除剤、有効成分の一般名としてオキシベンダゾールということですが、

化学名、分子式、分子量、構造式につきましては、記載のとおりとなっております。

使用目的及び使用状況等ということで7に記載してありますが、ベンズイミダゾール系の広域スペクトルの寄生虫駆除剤となっております。豚、牛、羊、馬等の消化管線虫の成虫及び幼虫に対し

て用いられるということなのですが、現在、使用は豚に限られているということです。

我が国においてはオキシベンダゾールを含有する動物用医薬品は承認されていません。

本成分については、ポジティブリスト制度導入に伴う残留基準値が設定されております。

続きまして、安全性に係る知見の概要でございますが、本評価書は、EMEA のレポートを基に毒性に関する主な知見を整理しているということになります。

まず、吸収・分布・代謝・排泄試験です。

薬物動態試験では、オキシベンダゾールは速やかに吸収されるということで、投与量の多くは尿中に排泄されるとされております。また、代謝試験の結果からオキシベンダゾールは肝臓において速やかに代謝されるということが明らかとなっております。

17 行目、残留試験でございます。牛、羊、豚、馬における残留試験において組織中の残留は速やかに低下する。筋肉及び脂肪における総残留濃度は投与 4 日後には 0.1mg/kg 未満になる。肝臓及び腎臓では残留濃度がより高くなるのですが、投与 7 日後には 0.1mg/kg 未満になるということがわかっています。

それから、豚を用いた単回経口投与試験、それから 10 日間の混餌投与試験が行われておりますが、ここでも組織中濃度は速やかに低下するということが示されております。

7 ページ、豚でやはり放射活性の ^{14}C のオキシベンダゾールを投与して試験を行っております。この試験は、オキシベンダゾールを投与した豚から肝臓を取り出し、粉末としまして、ラットの飼料に混入する。それで、ラットに食べさせるという試験が行われておりまして、通常ですと 90% がラットに取り込まれるのですが、肝臓試料を介しますと、これが 40% になる結果が出ております。

残留の大部分は、肝臓ホモジネート中に存在するということが明らかになっております。

それから、残留試験の乳汁については残留物が速やかに消失するということが示されております。

18 行目、急性毒性試験でございます。本化合物の急性毒性は低いとされておりまして、げっ歯類において通常 LD50 は 10mg/kg 体重を上回る。家畜においても耐量としては 300mg/kg 体重を上回るとされております。

続きまして 98 日間の亜急性毒性試験、これはラット及びイヌで行われております。投与 1 か月後においてヘマトクリット値に有意差が認められておりますが、この値は正常値の範囲内であったとされております。

また、臨床症状は認められなかったということで、ヘマトクリット値の低下はオキシベンダゾールの投与に起因するものではないと考えております。

したがって、NOAEL をこの試験の最高用量であります 30mg/kg 体重/日と EMEA ではしております。

慢性毒性及び発がん性試験は実施されておられません。

8 ページ、生殖発生毒性試験です。こちらの試験は交配前及び妊娠初期に投与試験は実施されていないということで、(1) の周産期及び授乳期投与試験 (ラット) が行われております。この試験では 120mg/kg 体重/日投与群において、哺育児に眼瞼の開裂及び切歯の萌出という影響が認められております。NOAEL は 60mg/kg 体重/日であると考えられております。

催奇形性試験はラットで行われておりまして、胚・胎児毒性のみが 150mg/kg 体重/日投与群で認められ、これらの試験における NOAEL は 30mg/kg 体重/日であるとされております。

もう一つ催奇形性試験がございまして、こちらはマウスを用いておりますが、母動物、新生児いずれにも毒性影響はないということで、NOAEL が 30mg/kg 体重/日ということにされております。

それから、羊、牛、馬につきましても、催奇形性試験が行われておりますが、胚・胎児毒性は認められなかったとされております。

27 行目の遺伝毒性ですが、これは *in vitro* で 3 種類、*in vivo* で 1 種類ということで実施されておりますが、全て陰性の結果が出ております。

遺伝毒性の表がございまして、用量がいずれも不明になっておりまして、ここにつきましては、事務局で確認をして、できる限り調べまして、記入したいと考えております。

9 ページの 6 行目、食品健康影響評価に移ります。オキシベンダゾールは慢性毒性/発がん性試験は実施されていないのですが、生体にとって特段問題となる遺伝毒性を示さないと考えられることから ADI を設定することが可能であると考えております。

EMEA では、先ほどの 7 ページに記載があります 98 日間亜急性毒性試験で得られた NOAEL 30mg/kg 体重/日に安全係数として、通常の 100 に加えまして、オキシベンダゾールが倍数性を誘導したことから、これは先ほどの遺伝毒性の 9 ページの表の 1 行目に脚注として 10 μ g/mL 以上の濃度で、倍数性が認められたというのがございまして、それを受けてのことですが、追加係数 5 を適用して 500 としております。したがって、毒性学的な ADI を、0.06mg/kg 体重/日としております。

本調査会としましても、ADI 設定に当たっては、EMEA と同様に、ラット及びビヌを用いた 98 日間の亜急性毒性試験で得られた NOAEL 30 mg/kg 体重/日を用いることとし、安全係数については、通常の種差、個体差それぞれ 10 に慢性毒性/発がん性試験が実施されていないこと。それから生殖毒性試験が、先ほど御説明しましたように不足しているということ。それから染色体異常試験において倍数性が誘導されているということとを考慮した上で、追加の安全係数 10 を適用して、安全係数は 1,000 とするということが望ましいと考えております。

このことから、オキシベンダゾールの ADI としては NOAEL 30mg/kg 体重/日に安全係数 1,000 を適用いたしまして、0.03mg/kg 体重/日と設定するのが適当としております。

したがって、食品健康影響評価といたしましては、10 ページにありますように、オキシベンダゾ

ールとして 0.03mg/kg 体重/日ということにしております。

以上です。

○三森座長 ありがとうございます。ただいま事務局から説明がありましたが、評価書案のすべてについて概略を説明いただきましたが、吸収・分布・排泄から、個別に御意見を伺っていきたいと思います。まず、吸収・分布・代謝・排泄ですが、頭金先生、何かございますか。

○頭金専門委員 既に修文を加えていただいておりますので、特に付け加えることはございません。この化合物の特徴としては、動物に経口投与したときに速やかに吸収されず。肝臓において代謝されて、未変化体はほとんど検出されません。代謝物は尿中に排泄されるようです。残留する組織としては肝臓が主で、腎臓にも少し残るといった特徴があります。

以上です。

○三森座長 ありがとうございます。ほかに、どなたかございますか。

どうぞ。

○津田専門委員 7 ページの修文の点ですが、4 行から「14C-オキシベンダゾールを経口摂取した場合は、90%がラットに取り込まれるものの、肝臓試料から調整された粉末肝臓ラットの飼料に混入した場合、豚の肝臓中の、」とありますが、少し難しい表現でわかりにくいのです。本文ですと、こちらは肝臓ではないのですかね。要はそれを凍結乾燥したのではないのですかね。

○頭金専門委員 この場所は私も非常に理解しづらいところがありまして、原本を、私も読み直しました。化合物そのものを投与したときには、先ほど速やかに吸収されると申し上げましたが、90%ぐらいが吸収されます。ここではオキシベンダゾールを一旦豚に投与して、その豚の肝臓の粉末をラットに投与する実験を行っているようです。豚肝臓の粉末では代謝物になっていると思いますので、その代謝物を含んだ肝臓の粉末をラットに投与した場合は 40%しか取り込まれないということを示していると私は理解しました。つまり未変化体をラットにそのまま直接投与すると 90%が投与されるが、代謝物になってしまうと 40%程度しか吸収されないという趣旨のこと記載してあるのではないかと私自身は理解しております。

○津田専門委員 もしかしたら、この部分は lyophilised liver というのが 90%ですが、swine liver と記載してあるので、それを粉末にしたときの結合など、そういうものの違いであって、凍結乾燥すると 90%となるが、実際にそのものの肝臓を投与したときには 40%だったと、そういう表現かと思ったのですが違いますかね。

文章は EMEA SUMMARY REPORT (2) の 14 ですね。私も何だろうと思って読んでいたのですが、これでよいのですかね。

○関谷課長補佐 私もこの試験の目的があまりわからなくて、もし評価にそれほど影響がなければ、

例えば削除するなど、そういうことではいかがと思っておりますが。

○津田専門委員 もし頭金先生があまり重要でないとおっしゃるのであれば、私も不思議な文書だと思いますので。

○頭金専門委員 私の理解では代謝物の吸収性について、データを示していると思うのですが、それが毒性評価に影響がないのであれば、削除していただいてもよいと思います。

○三森座長 そういたしますか。削除して、2番目の試験は、恐らく代謝物を見ているということですね。40%しか入らないというのは、先生のおっしゃるとおりだと思うのですが、評価にはあまり影響を及ぼさないと思います。

○頭金専門委員 とにかく原本の英文そのものが非常に理解しにくいので、毒性試験の評価に影響がないということであれば削除していただいて結構です。

○三森座長 それでは事務局、削除してください。ほかにございますか。

なければ毒性試験に入りたいと思いますが、EMEAでは、ラット及びイヌの98日間亜急性毒性試験の最高用量で毒性影響がなかったことからNOAELを30mg/kg体重/日としておりますが、これがADIに結びつくわけですね。まず、亜急性毒性試験までコメントはございませんか。既に修文がされておりますが、何かありますか、今井先生。

○今井専門委員 非常に限られたデータしかございませんが、特にコメントございません。

○三森座長 ないようでしたらば、発がん性試験は実施されていないわけですから、8ページの5の生殖発生毒性試験ですか。ここについて寺本先生、何かございますか。

○寺本専門委員 8ページの11行のラットの催奇形性試験ですが、試験Aと試験Bの2試験が行われていて、毒性が見られたのは、150mg/kg体重/日で、胚・胎児毒性だけだったと、そういう簡単な表現しかないものですから、はっきり細かいことはわかりません。それから読み取れることは、試験Aでは30mg/kg体重/日までが無毒性であった、それから試験Bでは、25mg/kg体重/日が無毒性で150mg/kg体重/日では影響があった。この二つの試験を合わせれば、NOAELとしては30mg/kg体重/日だろうと考えられます。

あと、23行の(4)の催奇形性試験ですが、羊、牛、馬を使った試験で用量など細かいことが全くわかりません。ですが試験から催奇形性及び胚・胎児毒性がなかったという結論が出ていますので、タイトルとしては生殖発生毒性試験というよりは、催奇形性試験だろうということで、タイトルを変えました。

したがって、24行で羊、牛及び馬を用いた、そのあと生殖発生毒性試験が実施されたと記載されていますが、生殖発生毒性というのは消していただきたいと思っております。単に試験が実施されたとさせていただきますと思っております。

以上です。

○三森座長 ありがとうございます。今回の毒性試験のパッケージでは、従来のものの、生殖発生毒性試験パッケージから見ると不十分ということになりますね。

○寺本専門委員 そうですね。3節試験のうちの2節と3節は実施されているのですが、1節が実施されていないということで若干不足しているということです。

○三森座長 わかりました。ほかにございますか。なければ遺伝毒性試験に入りますが、能美先生、何かございますか。

○能美専門委員 事務局が指摘されましたように用量、いろいろなバクテリアの菌株が不明であることや、幾つか小核試験でマウスの細胞といいますか、どういうマウスを使っているかなどそういう点について、記載を入れていただければ、結果そのものは、これでよいのではないかと考えます。

○三森座長 そうしましたら EMEA に用量のことについては照会させていただいて、座長預かりということにさせていただきたいと思います。

それでは、食品健康影響評価に入りますが、EMEA は、ADI 設定に追加係数 5 を加えています。オキシベンダゾールの倍数性が問題だということですが、*in vivo* の小核は陰性ですので特段問題はないですね。このような評価をするものでしょうか。

○能美専門委員 たしか、チアベンダゾールという物質があつて、それについてはこういう倍数性を出してくるという性質が知られていると思います。ただ、倍数性の細胞というのは、それほど長く生き残るものではないので、多分紡錘体の形成阻害をするのではないかと思います。DNA そのものにアタックするというものではなくて、細胞分裂するときに染色体を引っ張る紡錘体の形成阻害が起こるので倍数性が出てくるということですから、遺伝毒性はあるが、間接的な影響といいますか、いわゆる閾値が出てくるようなタイプの遺伝毒性物質というようなものではないかと思います。小核試験でそういうものは検出できないのかもしれませんが。そこについては私も明確ではありません。

○三森座長 ありがとうございます。以上、遺伝毒性試験まででございますか、何かほかにございますか。

どうぞ。

○寺本専門委員 11 ページの表 3 がありますが、表 3 の真ん中より少し下の、ラットの周産期及び授乳期投与試験の無毒性量、これは 60 mg/kg 体重/日ですか。抜けています。

○三森座長 事務局よろしいですか。

○関谷課長補佐 追記いたします。

○三森座長 ほかにございませんか。なければ、9 ページの食品健康影響評価に入りますが、当部

会といたしましては、NOAEL は、98 日間亜急性毒性試験、ラット及びイヌ、30mg/kg 体重/日ということによろしいでしょうか。

そうしましたら、次に安全係数ですが、事務局からの提案ですが、慢性毒性／発がん性試験がないということですね。それと染色体異常試験については倍数性を誘導しているということ。この辺を考慮して追加の安全係数 10 を加算したい。したがって、安全係数は 1,000 を適用してみてもいかがでしょうかという形で、この食品健康影響評価の文章がつくられておりますが、いかがでしょうか。御議論をお願いしたいと思います。

○津田専門委員 これでよいと思います。

○三森座長 よろしいでしょうか。どうぞ。

○寺本専門委員 9 ページの 22 行に生殖毒性試験が不足という点も一つ加えていただけますか。

○三森座長 生殖毒性試験の不足、さきほどの第 1 節の試験がないということですので、ここで不足していることも加えて、追加 10 ということですね。したがって 1,000 をかけるということで、よろしいでしょうか。

それではまとめさせていただきたいと思います。オキシベンダゾールの食品健康影響評価については、ADI として 0.03mg/kg 体重/日を採用することが妥当であると考えられるということによろしいでしょうか。

(「はい」と声あり)

○三森座長 ありがとうございます。それでは、ただいまの審議結果を基にいたしまして、私の方で事務局の協力を得ながら報告書を作成いたしたいと思います。何か御意見などございましたら、各専門の先生方に御意見を求めますので、御協力をお願いいたします。

では、事務局作業をよろしくお願いいたします。

○関谷課長補佐 ありがとうございます。本日御意見をいただいた内容について、削除する部分あるいは確認をして記入する部分がございますので、その内容を修正いたしまして、各委員の先生方に御確認いただきたいと思いますと考えておりますので、よろしくお願いいたします。

評価書については、専門調査会に報告後、委員会に報告いたしまして、意見・情報の募集の手続をいたします。寄せられた意見への対応としましては、事務局で内容とりまとめさせ出てきまして、必要に応じて改めてお諮りしたいと思いますので、よろしくお願いいたします。

○三森座長 それでは、事務局、引き続き資料の説明をお願いいたします。

○関谷課長補佐 それでは資料 2 のジシクラニルになります。

3 ページの一番上に審議の経過が載っておりますが、2007 年 3 月 5 日に、厚生労働大臣より、残留基準設定に係る食品健康影響評価の要請がございました。今回初めて確認評価部会にかけさせて

いただいたことになっております。

6 ページ、評価対象動物用医薬品の概要ということで、昆虫成長抑制剤となっております。一般名ジシクラニル。化学名、分子式等は記載のとおりでございます。

使用目的及び使用状況につきましては、ピリミジン系の昆虫成長抑制剤ということで、クロバエによるハエ蛆症や蛆の発生を防ぐための主に羊用の局所治療薬となっております。

30～100mg/kg 体重/シーズンの薬用量が推奨されておりますが、我が国ではジシクラニルを含有する動物用医薬品は承認されておられません。

なお、ポジティブリスト制度導入に伴う残留基準値が設定されております。

7 ページ、安全性に係る知見の概要ということで、JECFA、EMA、それからオーストラリアの NRA のデータ、評価書等を基に主な知見を整理しております。

吸収・分布・代謝・排泄ですが、まずラットで行っております。放射標識ジシクラニルを経口投与していますが、消化管からの吸収が 80～85% ということで、最終投与 24 時間後には投与量の 93～96% が排泄されたということが示されております。また、組織中の放射ラベル濃度は、ここに記載されているような濃度が検出されておまして、血中での放射活性は赤血球で検出されたとされております。

それから、代謝物につきましては、総投与量の 48～54% を占める最大の分画は、こちらの 28 行目に MET-1U と記載してありますが、これが代謝物の大半を占めると考えられるとされております。

そのほかに、ここに記載されております MET-4U、MET-5U、MET-3U という、これらの代謝物が同定されておまして、糞中では総投与量の 3% 以下と著しく低いということとされております。肝臓と腎臓では、極性代謝物のほかに MET-4U が一番多く見られるということで、筋肉及び脂肪では、それと異なる代謝物のパターンであったという結果になっております。

8 ページ、同様に羊を用いまして、14 行目から「①放射性ジシクラニル」ですが、これは、噴射法、それから適下法という投与方法で行われておりますが、比較的長期間の残留が認められたとされております。皮膚に適用しておりますが、皮膚からの吸収は約 2%、大部分の放射活性は羊毛中、羊の毛の中に見られたとされております。

血中の C_{max} 、 T_{max} 等はここに記載されているとおりでございますが、主にターゲット組織としては肝臓ということで、この試験では皮下脂肪にも高い放射活性が出ているのですが、これはコンタミであろうというコメントがされております。

羊でも同様に肝臓及び腎臓の代謝物に関しては同様の傾向が見られております。

9 ページ、非常にたくさんの試験が行われておりますが、異なる種類の羊を用いた単回の局所投与試験が 6 行目からあります。

尿中及び糞中の排泄量から計算しますと、7日後の吸収量は、投与量の4%程度ということになっております。

それから、筋肉及び脂肪では未変化体のほかに微量の、先ほどの代謝物の、MET-4Uが検出されております。また筋肉ではMET-1Uという代謝物も認められているということでございます。

29行目でも、また異なる試験で、これは噴射法で単回局所投与されたものですが、代謝物の中身というのはどの試験も同じような傾向が見られております。

10ページ9行目、放射性のジシクラニル滴下法で、単回局所投与されておりますが、こちらについては、やはり同様の傾向で筋肉及び脂肪の残留物は主に未変化体で肝臓及び腎臓では未変化体及びMET-4Uということになっております。

これらの試験からジシクラニルとMET-4Uが異なる組織で主要な残留物があるとされておりますので、ジシクラニルとMET-4Uの和が残留の指標となる化合物であるとしております。組織としては、筋肉、脂肪、肝臓、腎臓が、残留の指標となるとされております。

続いて放射性でない、非放射性のジシクラニルの投与試験が同様に複数行われております。

11ページ、6行目からジシクラニルの最大治療量あるいは2倍量の滴下投与が行われておりますが、可食組織では非常に低い濃度のジシクラニルが検出されましたが、MET-4U代謝物については、特に腎臓に残留していたとされております。投与28日後で、筋肉で $20\mu\text{g/kg}$ 、肝臓で $90\mu\text{g/kg}$ 、腎臓で $80\mu\text{g/kg}$ 存在していたとされております。

また、複数の試験が行われておりますが、12ページ7行目から、羊の試験が記載されております。こちら、腎臓あるいは脂肪、肝臓というところに、組織中の残留物が認められているという結果になっております。

12ページの23行目からは、羊でGLP適合試験が行われておりますが、やはりジシクラニル及び代謝物のMET-4Uを定量しております。こちらも同様に、腎臓あるいは脂肪等で残留が見られているという結果になっております。

以上です。

○三森座長 吸収・排泄・分布・代謝でしょうか。非常に長いデータがございましたが、ここまでにつきまして何かコメントございますか。頭金先生、いかがですか。

○頭金専門委員 修正していただいておりますので特に付け加えることはありませんが、この化合物の特徴といたしましては、先ほどと同じように、ラットに経口で投与した場合、消化管から速やかに吸収されて、大部分が代謝されて尿中に出るということでございます。

実際の使用動物であります羊で経皮投与した場合は、数%が体内に取り込まれるようです。その際の主な残留部位は肝臓や腎臓、それから筋肉や脂肪ということになっております。

以上でございます。

○三森座長 事務局にお伺いいたしますが、このジシクラニルという用語は、厚生労働省から、この言葉で要請が来たのですか。

○関谷課長補佐 はい、諮問文では、ジシクラニルとされております。

○三森座長 これは正しいのですか。ダイサイクラニルと原体をつくっているノバルティスは呼んでいます。英語でも、日本語でも固有名詞は同じだと理解していたのですが、ジシクラニルでよろしいのですか。

○関谷課長補佐 諮問自体はジシクラニルで間違いございません。基本的に、我々としてはその名称で答申を返すということになると思います。

○三森座長 わかりました。少し目に付いたのですが、8ページの15行目、オックスフォード・ダウン腫羊の「腫」を「種」に変えていただいた方がよいですね。

○関谷課長補佐 修正させていただきます。

○三森座長 ほかにないようでしたら、どうぞ。

○小泉委員 今、言われた、腫の3行ほど下ですが、「総投与量の約37～59%が体内に残留し」というと、いかにも吸収されたように感じるのですが、これはほとんど吸着のようなことではないのでしょうか。

○頭金専門委員 おっしゃるとおりでして、これは体内に吸収されたというよりも、皮膚に付着している、または羊毛に付着している部分も含めて37～59%ということです。実際に体内に取り込まれたものは、23行目に記載がありますが2%になります。

○小泉委員 ここの体内の残留という、いかにも吸収されたように誤解を受けないでしょうか。

○頭金専門委員 修文が必要と思います。

○三森座長 何か具体的によい言葉がありますか。

○小泉委員 肝臓に残留ということでしょうか。

○関谷課長補佐 体表面に付着しているなど、そういう言葉ではいかがでしょうか。

○津田専門委員 簡単に羊にとしたらどうですか。羊に使用したら羊に残留したのでしょうか、そのうち2%は皮膚の吸収ということでいかがでしょうか。

○三森座長 よろしいですか。

○関谷課長補佐 済みません。具体的にどのように。

○三森座長 「体内」を「羊」に修正してください。

○関谷課長補佐 わかりました。

○三森座長 よろしいですか。

○今井専門委員 細かいことで恐縮なのですが、同じページの 25 行目、 C_{max} が 0.051 当量/g とありますが単位が抜けているような気がします。原本を確認しても、やはり equivalent としか記載されていないで、本来だと、ここは何か入ると理解してよろしいでしょうか。

○三森座長 頭金先生いかがですか。

○頭金専門委員 当然入ると思います。入るはずですが、参考資料にも記載されていないので正確にはわかりませんね。

○三森座長 これは JECFA の文章ですか。

○頭金専門委員 いえ、これは NRA の文書だと思います。後から追加で送られてきた資料に記載してあったと思います。

○三森座長 これは事務局で調べることはできますか。

○関谷課長補佐 原本には記載していないようですので、できる限り確認したいと思います。

○三森座長 お願いします。

○津田専門委員 C_{max} の単位はそこだけではなくて、ほかでも g になっていますね。ということは、もしかしたら mL を g で、そういう量で表しているのですかね。1 mL は 1 g ということですかね。

○三森座長 そこはお調べいただけますか。

○関谷課長補佐 後で調べまして、もし資料に記載してないようであれば問い合わせるということで対応したいと思います。例えば 9 ページの 11 行目にも記載してないのは、明らかにこれはおかしいですね。

○三森座長 そうですね。0.048 当量/g としか記載してないですね。では、それはお調べいただきたいと思います。

○関谷課長補佐 確認した上で御相談させていただきたいと思います。

○三森座長 なければ次の説明をよろしく願いいたします。

○関谷課長補佐 続きまして 13 ページの急性毒性試験から御説明いたします。

急性毒性試験は、ラットで行っております。急性経口の LD50 は雄で 560mg/kg 体重、雌で 500 mg/kg 体重でありました。

急性経皮 LD50 に関しては、雌雄とも 2,000 mg/kg 体重以上ということになります。

それから、亜急性毒性試験についてですが、28 日間亜急性毒性試験がラットで行われております。これは経皮投与で行われておりまして、死亡例もなく臨床症状も認められなかったとしております。

300mg/kg 体重/日の雌で、それから 1,000 mg/kg 体重/日の雌について、肝の絶対及び比重量の増加が認められております。30mg/kg 体重/日投与群では、脳の絶対重量の増加が認められておりまして、NOAEL としては、JECFA では、体重増加抑制及び肝臓の変化に基づいて、30 と設定をしております。

ます。EMA では、脳重量の増加から 5 mg /kg 体重/日ということにしております。

90 日間亜急性毒性試験（ラット）でございますが、こちらは混餌投与で行われております。

こちらは 125mg/kg 体重/日の投与群において、体重増加及び摂餌量のわずかな減少が認められております。

そのような影響から JECFA と EMA は、NOAEL を 25mg/kg 体重/日としております。これは餌の濃度ですので、1.6mg/kg 体重/日に相当いたします。

14 ページの 28 行目、90 日間亜急性毒性試験、これはイヌを用いております。1,500 mg/kg 体重/日の最高用量で死亡例が雄 1 例となっております。

500mg/kg 餌投与群については、一部の動物に、一過性の軽度な摂餌量の減少が認められたということでございます。

100mg/kg 餌以上の投与群についても血漿コレステロール及びリン脂質濃度の増加が認められたとされておりまして、JECFA では、それらから NOAEL を 20mg/kg 餌としています。これは 0.61mg/kg 体重/日に相当します。

一方、18 行目でございますように、EMA に関しては、最低の 20mg/kg 餌の用量でも、全例で細胞浮腫と見られる肝細胞肥大が認められるということから、NOAEL は設定できなかったとしております。

続きまして、慢性毒性／発がん性試験、16 ページですが、18 か月の慢性毒性／発がん性試験がマウスで行われております。混餌投与で行われておりますが、24 行目から 100mg/kg 餌以上投与群の雄で、クッパー細胞の色素沈着、主として、ヘモシデリン及び肝細胞の壊死が認められたとされています。

31 行目以降には、100 及び 500mg/kg 餌投与群で、嗅上皮の色素沈着の発生及び程度の増加、ボウマン腺の炎症性細胞浸潤が増加しているということが見られております。

また、ジシクラニル投与による悪性リンパ腫の発生頻度の変化はなかったが、500mg/kg 餌投与群の雌で悪性リンパ腫の浸潤と見られる部位が対照群あるいは他の投与量よりも多いということが認められました。

肝細胞腺腫及び肝細胞がんが、雌で最大耐量を超える用量で増加し、また、肝発がんに関与した可能性のある肝細胞増殖を示唆する所見のあることが注目されております。

JECFA では、嗅上皮についての影響は、生物学的意義はないとみなしているため、マウスでの肝臓についての影響から NOAEL を設定しております。

EMA においても、500mg/kg 餌以上で認められた腫瘍原性の影響については、正確な機序が明確でない。また、影響は最大耐用量を上回る用量が必要であることから肝臓への影響に基づいて NOAEL

を設定しております。

続きまして 24 か月のラットの慢性毒性／発がん性でございます。これも混餌投与で行われておりますが、500 あるいは 125mg/kg 餌投与群でも、体重減少が認められております。

また、125mg/kg 餌投与群において、無機リンの濃度の上昇に有意な差が示されております。また 125mg/kg 餌投与群では肝の比重量が増加していましたが、背景データ内であったということです。

25mg/kg 餌以上投与群において、嗅上皮の色素沈着の増加が認められております。この試験ではジシクラニルは腫瘍の発生頻度に影響はないとされております。

18 ページに移りますが、JECFA では、嗅上皮に対する影響は自然な加齢性変化の促進ということで、ジシクラニル自体は生存率あるいは行動、健康全般に影響しないということを目指して、体重変化や肝臓、脾臓の組織病理学的な変化に基づいて NOAEL を設定しております。

また、EMEA でも、こちらは嗅上皮における色素沈着の増加は毒性学的には有意なものではなく、発がん性に関する証拠はないとして NOAEL を設定しております。

続いて、12 か月イヌでの慢性毒性試験です。こちらは混餌投与により行われており、19 ページに結果が出ております。150mg/kg 餌投与群の雄で血漿コレステロール濃度の増加が見られております。

2 例で肝障害が認められているのですが、JECFA では、それらは本試験の他のイヌとは全く異なっており、イヌの 28 日及び 3 か月試験で、それぞれ 2,500 及び 1,500mg/kg 餌までを投与しておりますが、そこでは急性で重度の肝障害は認められなかった。このことから、これは偶発所見と判断してございまして、雄で認められた血漿コレステロール濃度の増加から NOAEL を記載のとおり設定しております。

EMEA においても同様に、NOAEL を設定しております。

今回、先生方に資料を送付いたしました後に、三森先生から、2 つの文献をいただいております。それは発がん性に関する文献でございます。お配りしております分厚い方の参考資料の 6 番、7 番でございます。

その後に、能美先生から、もう一つ論文を御紹介いただきまして、これが参考資料として付いている薄い方の資料でございます。

この 3 つについて御議論をいただく必要があると考えておりますので、この内容について御説明したいと思います。

発がん性試験の中でも、肝細胞がんについて影響が見られているところがありました。まだ御説明しておりませんが、遺伝毒性試験に関しては、通常のセットの試験では、いずれも陰性になっております。

そういった中で JECFA、EMEA では、ADI を設定しているという状況です。その中で三森先生から御提示いただいた 2 つの論文ですが、まず、「Possible involvement of oxidative stress in dicyclanil-induced hepatocarcinogenesis in mice」という題名の方ですが、これに関しましては、ジシクラニルが、酸化ストレスを生じて、二次的な酸化性の発がん作用を持っているのではないかということで、その機序を研究された論文ということでした。

この結果から、ジシクラニルが部分的に代謝経路に由来する酸化ストレスを誘導することを示唆しておりまして、酸化ストレスが、マウスにおいて、ジシクラニルによって誘発された肝臓がん形成で重要な役割の一つを担っているという推測が支持されたという結論になっています。

もう一つの、「Gene Expression Analysis on the Dicyclanil-Induced Hepatocellular Tumors in Mice」という題名の論文ですが、前回の研究においてマウスで酸化的 DNA 損傷を含む酸化ストレスが、ジシクラニルにより誘導される発がん機構の前がんステージに関与する可能性が示されたということで、今度はマウス 2 段階発がんモデルの肝細胞腫瘍組織について、酸化ストレス関連遺伝子を含む遺伝子の発現解析を行ったということでございます。

これらの結果から、結論としては、マウスのジシクラニル誘導肝細胞腫瘍において、アポトーシスの抑制と酸化的 DNA 損傷の修復の破綻が起きている可能性が示唆されたという内容でございます。

それから、能美先生からの論文でございますが、「Detection of oxidative DNA damage, cell proliferation and *in vivo* mutagenicity induced by dicyclanil, a non-genotoxic carcinogen, using *gpt* delta mice」という題名の論文ですが、こちらについては、これまで遺伝毒性ですべて陰性だったという結果を持つジシクラニルの遺伝毒性に関する論文です。

トランスジェニック突然変異分析の結果は、ジシクラニルの発がん性が雌における性特異性に関して一致していたというデータでございます。

これによって、ジシクラニルによって誘発された遺伝毒性を示している最初のレポートということになり、遺伝子突然変異分析に付随する発がん性のパラメーターの検査が、いわゆる非遺伝毒性発がん性のメカニズムを理解するために重要な情報を提供することができるという内容になってございます。

これらの新たに御提示いただいたデータを基に、どのような扱いとしていくかを御議論いただければと思います。

○三森座長 事務局から急性毒性、亜急性毒性試験、それと発がん性試験及び追加資料の説明がありました。まず、急性毒性と亜急性毒性試験までで、何かコメントがありますでしょうか。評価書案の 13、14 ページになりますが、ここままで何かコメントございますか。今井先生あるいは津田先生、何かございますか。

今井先生、お願いします。

○今井専門委員 既に修正いただいておりますので、特にコメントはございませんが、1か所だけ修正で間違いがありまして、13ページの17行目「高容量」の「容」を御修正いただければと思います。

以上です。

○関谷課長補佐 修正します。

○三森座長 15ページの33行目ですが、90日のイヌの試験ですが、JECFAの評価とEMEAの評価が違ってきますね。これについて、当確認評価部会としてどうするのかを決めておかなければいけないと思いますが、JECFAは33行目～36行目にありますように、NOAELは20mg/kg 餌となっております。ところがEMEAではNOAELは設定できなかったとしておりますが、いかがでしょうか。これに関して、今井先生、何かありますか。

○今井専門委員 非常に難しい問題の一つかと考えます。といいますのは、確かに肝細胞の肥大があるということですが、一方、生化学的検査等では、逸脱酵素など強い毒性を示唆する所見はないということで、基本的な考え方としては、NOAELの要件としては、アドバースではないというような考え方もできますし、片や安全サイドに立つとアドバースであるというような考え方もできますので、JECFA、EMEAそれぞれの主張があるというところではあります。個人的には、強い毒性を示唆するものではないので、アドバースというように考えなくてもよいのではないかと考えるところがあります。ただ非常に難しい問題であると認識しております。

以上です。

○三森座長 津田先生いかがですか。

○津田専門委員 このことは、専門ではないのでわかりません。三森先生、これはアドバースとして考えられるのでしょうか。

○三森座長 この後の発がん試験に関わってくるので、私はコメントしかねるのですが、遺伝子解析をしてみますと、かなりCYP系が動きますので、活性酸素のようなものがたくさん出てくるので、単なる肝細胞肥大という形ではなく、有害作用とは取るべきという感じがするのですが。

事務局、本日はNOAELの根拠は議論しなければいけませんか。

○関谷課長補佐 次の新しい文献の取扱い等がありますので、そちらの大きな流れをまず御審議いただいた方がよいかと思います。

○三森座長 そうしましたら、15ページの33行目から6行ぐらいございますが、ここはペンディングにさせていただいて、後で評価させていただくということにします。

その次の発がん性試験が、マウス、ラット、16ページ～19ページまでございますが、ここはい

かがでしょうか。

事務局から、御説明がありましたように、マウスの発がん性試験において肝細胞腫瘍が雌において誘発されているわけですが、追加資料にありますように、この剤の発がん性に関する試験を私共の研究室で実施しております。また関連して、能美先生も共同研究者でございますが、遺伝毒性に関する追加資料を提出していただいております、このような場合、私と能美先生は審議に参加することができませんので、マウスの発がん性については座長代理の井上先生にお願いしたいと思いますが、よろしいでしょうか。

それでは、井上先生よろしく申し上げます。

○井上専門委員 それでは、司会をさせていただきます。発がん性について、先生方、コメントがございましたらお願いいたします。

どうぞ。

○今井専門委員 発がん性の話に入る前に1点だけ、先ほどの肝細胞の肥大のことと関連いたしまして、17 ページのラットの発がん性試験の中の項目で、18 ページになりますが、嗅上皮の色素沈着の影響が、やはり JECFA は加齢性変化の促進であるということで、毒性とはみなしていないのですが、先ほど肝臓での話もありましたような、酸化ストレスが絡むようなことを考えると、この変化も、恐らく酸化ストレス絡みの話になるということコメントをさせていただければと思います。

○井上専門委員 ありがとうございます。ほかにいかがでしょうか。

もしなければ、三森専門委員と能美専門委員それぞれが関係した論文内容について御説明いただいて、また、それから議論したいと思いますが、よろしいでしょうか。

それでは、よろしいということで、三森専門委員、能美専門委員、よろしく申し上げます。

○三森座長 許可をいただきましたので、先ほど事務局から説明がありました今回の分厚い資料の159 ページでしょうか。Archives of Toxicology に掲載されております論文ですが、この薬剤について JECFA で議論されたとき、私もこの JECFA に参加しております、このメカニズムがわからないということでありました。そういう経緯から、私共の研究室で、なぜこのような肝発がんが雌だけに起こってくるのかということで、メカニズム解明のための検討を実施したということでございます。

使ったモデルは肝2段階発がんモデルというマウスのモデルですが、ジメチルニトロソアミンで、イニシエーション処理をした後、プロモーションステージに、ジシクラニルを投与するという実験でございますが、それを実験しましたところ、前がん病変が、ジシクラニルの投与群で増えてきたということがありまして、肝臓組織を摘出いたしまして、遺伝子解析を行ったということでござい

ます。

その結果、CYP1A が顕著に誘導され、CYP1A は活性酸素種をどんどん産生させる CYP 酵素ですの
で、酸化ストレスが上昇する可能性があると思われました。更に、もしそうであれば、酸化ス
トレスの指標として、8-ヒドロキシ-デオキシグアノシン (8-OHdG) も上がっているのではない
かということで、共同研究者の国立医薬品食品衛生研究所の梅村先生にお願いして測っていただい
ところ。8-OHdG も上がってきたということでございます。

更に、これは *in vivo* の肝臓での話ですが、では具体的に活性酸素が産生されているかどうかと
いうことを *in vitro* の系を用いまして、ROS の産生をはかってみたということです。そうしまし
たら、ROS も顕著に増加してきたということでありまして、以上の結果から、この実験の結論として、
ジシクラニルを投与することによって、CYP1A が誘導されることによって、活性酸素が過剰に発現
してまいりまして、その延長線上に、8-OHdG も増えてきたということです。

In vitro の系ですが、活性酸素種が、肝臓のミクロソームからどんどん出てきているというデー
タもありましたので、このようなことから、肝臓の前がん病変が増えてきたのではなかろうかとい
う考察をした論文が第1報です。

ジシクラニルは、JECFA におきましては、評価した当初、遺伝毒性試験のスクリーニングバッテ
リーはすべて陰性だということでございますので、肝臓がんについては、非遺伝毒性発がん物質の範
疇に入れてよかろうと評価して ADI が設定されているのですが、今回の実験結果からいきますと、
ジシクラニルを投与することによって、CYP 酵素が誘導されることによって活性酸素が出てきた。
その活性酸素が DNA を損傷してきているという二次的な DNA 損傷ということになります。このよ
うなものを非遺伝毒性発がん物質の範囲に入れるかどうかということについては、今のところ世界の
いずれの国でも評価していないと思います。その辺をどのようにこれから評価するか。閾値がある
かないかということだと思っておりますが、ジシクラニルの用量を下げていきますと、活性酸素の産生は
だんだん減少していきますので、ROS の産生がなくなれば DNA 損傷もなくなるということで、閾値
があつてよいと個人的には思っております。

169 ページの Toxicologic Pathology に掲載してある方の論文でございますが、こちらは同じ2
段階発がんモデルを用いておりますが、イニシエーターとしてはジエチルニトロソアミン、先ほど
はジメチルニトロソアミンですが、ジエチルニトロソアミンを投与することによって肝腫瘍をつ
くりました。20 週間ジシクラニルを投与することによって、肝臓に腫瘍が出てまいりまして、肝臓の
腫瘍組織でどのような遺伝子発現をしているかということで、その腫瘍組織をマイクロダイセク
ションという機械を使い、腫瘍組織を顕微鏡下で摘出しまして、その mRNA の動きを見たとい
うことです。要約の下から5行目の辺りに記載してありますが、腫瘍組織でも CYP1A1 とチオレドキ

シンリダクターゼ (Txnrd1) という活性酸素種を駆逐する第 2 相酵素です。これもきれいに上がってきたということで、CYP1A1 で ROS が産生されると、チオレドキシシンリアクターゼが動いて、その ROS を駆逐してしまうということが腫瘍組織の中でも起こっているということです。

そのようなことで、腫瘍組織の中でも、先ほどの論文と同じように活性酸素種が産生され、それによって腫瘍性の増殖性変化が増えてきているのではないかということを確認した論文ということでございます。

簡単ですが、以上のことから非遺伝毒性発がん物質というような範疇にジシクラニルは入れておりますが、メカニズム的には二次的な DNA 損傷が発現している可能性があるということです。それに対してどのように評価するのか。今のところ JMPR や JECFA ではこういうものについての評価は行っておりませんので、当確認評価部会でどのような判断をするのか、ここからは私の入るところではございませんので、私と、この後御説明いただく能美先生を除いた上で御議論いただきたいと思っております。

以上でございます。

○井上専門委員 ありがとうございます。それでは引き続き能美専門委員よろしく申し上げます。

○能美専門委員 事務局から追加で配っていただきました薄い方の追加資料、Mutation Research の 2007 年、633 巻、「Detection of oxidative DNA damage, cell proliferation and *in vivo* mutagenicity induced by dicyclanil, a non-genotoxic carcinogen, using *gpt* delta mice」という論文について内容を簡単に御説明いたします。

これは当所の病理部の梅村先生たちと私どもと共同であります。主要には病理部の先生方が実験を実施されております。ここで使っておりますマウスは、C57 ブラックマウスであります。その中には遺伝毒性を検出するためのレポーターの遺伝子が入っておりまして、このレポーターの遺伝子を投与後、いろんな臓器、この場合は肝臓ですが、そこから回収して大腸菌に戻して突然変異を検出する。更にシーケンス解析を行う。いわゆるトランスジェニック遺伝毒性試験のモデル動物です。

gpt デルタマウスという名前が付いておりまして、これは私どもで開発したものです。これを梅村先生たちは利用して、このマウス、雄と雌ですが、それに 0.15% のジシクラニルが 13 週間投与されました。それはこの論文の 3 ページ、48 ページと振ってありますが、そこに 2.2 Animals and treatments というのがありまして、構造式が記載してありますが、構造式の少し上の辺りから、「starting at 8 weeks of age the mice were fed diet containing」云々というようになっておりまして、0.15% のジシクラニルを 13 週間混餌投与したということです。

その後、と殺いたしまして、肝臓のレポーター遺伝子の変異を調べた。それから、細胞増殖活性

を Bromodeoxyuridine (BrdU) を投与して調べているというところでございます。

結果であります、49 ページに、Results がありまして、表 2 がございます。これが突然変異の頻度を示しますが、一番右端が、Mean±S. D. と、ここを見ていただければと思います。

4 つ数字が並んでおりますが、一番上がコントロールの雄、その次がジシクラニルを投入した雄、3 番目がコントロールの雌。4 番目がジシクラニルを投与した雌ということです。

ですので、御覧なって明らかなように、雌のジシクラニルを投与したところで、無処理に比べて 4 倍から 5 倍ぐらい突然変異の頻度が上がっているということでもあります。

こういう頻度が上がったということは勿論、統計的な有意差というのがあるわけですが、それだけではなくて、更にレポーターの遺伝子というのが大体 500 ベースぐらいでありますので、それをシーケンス解析を行いまして、では、A が T になってとか、G が C になって、そういうことを調べたというのが、隣の 50 ページの右上にあります表 3 です。Mutation spectra of *gpt* mutant colonies と記載してありまして、細々と記載してありますので簡単に申し上げますと、雄と雌で、コントロール、ジシクラニル、左から右にかけて、雄のコントロール、それからジシクラニル、雌のコントロール、ジシクラニル、縦の列がいろいろな塩基配列の種類をずっと記載してあるということでもあります。

細かいので詳細は割愛しますが、1 つだけご注目いただきたいのが、一番上に GC:TA と記載してあります。一番顕著だと思いますが、雄のコントロールとジシクラニル、MF と記載してありますが、Mutant frequency、 $\times 10^{-6}$ というのが、雄のコントロールは 0.02、それからジシクラニルの雄も 0.02、雌のコントロールも 0.02 なのですが、ジシクラニルの雌だけは 0.73 ということで、先ほどの全体の MF よりも、GC:TA という細かく種類を分けた方が、もっと高く倍率が出ているということです。30 倍以上上がっているということです。

この GC:TA というのは主に 8-OHdG によって起こる特徴的な変異なわけですが。ほかにもいろいろと変わっているところはあるわけですが、一番これが特徴的に変わっているということです。

表 4 は、別なタイプのミューテーションの変化を見ておりますが、いわゆるデリーションタイプというものは、ほとんど変化がありませんでしたので、塩基置換が非常に増えている。

それから、御注目いただきたいのは、51 ページに棒グラフが幾つか並んでおりますが、図の 3 というのがありまして、これは 8-OHdG レベル、肝臓の核の DNA における 8-OHdG のレベル、肝臓の核の DNA における 8-OHdG のレベルを雄と雌で比較している。斜線を引いてある方が投与群で、白い方がコントロールということです。この場合は雄も雌も両方とも 8-OHdG が増えているということです。

しかし、右上に行っていただきますと、図 5 というのがありまして、これは BrdU によって、細

胞増殖活性、細胞増殖がどのくらい盛んになったかということ示しているものでありますが、御覧なつていただきますと、雌の斜線を引いた方で、非常に細胞増殖が盛んになっているということです。

したがって、8-OHdG は雄も雌も両方にできるのですが、雌は細胞分裂、DNA 複製は盛んになっているので、8-OHdG の向かいに間違つて A を入れる確率が上がつてきて、GC:TA のトランスバージョンが増えてきたという解釈ができるのではないかと思います。

この物質については、少なくとも *in vivo* では、直接的か間接的か DNA に酸化損傷を起こして、更に雌では細胞増殖を盛んにするという性質があるのではないかと、ここから考えられると思います。

簡単ですが、以上です。

○井上専門委員 ありがとうございます。それでは、お二方の専門委員から説明がありましたが、これについてそれぞれコメントいただきたいと思います。

どうぞ。

○津田専門委員 能美先生、教えていただいてよろしいでしょうか。評価書の 16 ページの下、37 行辺りからですが、肝細胞腫及び肝細胞がんが雌でという文章がありますね。ここは本文をそのとおりに言うと、committee は、雌の肝細胞腫及び肝がんの用量が最大耐量を超えていること、及びそれらの動物に肝細胞増殖の兆候があつて、それがその肝がんの発生に関与している可能性があることを認めた。これが本当の表現だと思うのですが、これと今の先生の説明は非常によく合つているということですね。

○能美専門委員 私もそう思います。

○津田専門委員 わかりました。

○井上専門委員 ほかにいかがでしょうか。

○頭金専門委員 三森先生の論文で、少しお聞きしたいのですが、CYP1A1 が誘導されたというのはよくわかるのですが、このときに用量依存性は検討されたのでしょうか。

○三森座長 発がん用量が 1,500ppm で、その用量で起こっていることをまず探してみようということですので、1,500ppm しか行つておりません。

○頭金専門委員 わかりました。ありがとうございます。

○津田専門委員 三森先生、質問なのですが、先生のさきほどの御説明で、私が聞き間違えていなければ、ジシクラニルは、CYP1A1 などを誘導して、その結果、活性酸素を増やすとおっしゃいましたが、それは何か根拠ありますか。

○三森座長 *In vitro* の系を使いまして、ミクロソームにジシクラニルを直接投与したことによつて、そこから活性酸素種を見ているのですね。無処置対照群を置いておりますので、それと明らか

に差がつくということです。

○津田専門委員 私が思ったのは、活性酸素種を産生しているのは事実で、先生の仕事でもわかるのですが、CYP1A1の増加が活性酸素種の増加の原因だったのですか。

○三森座長 CYPシリーズの中で、1Aが一番ROSの産生が高いです。これについてはたくさん報告があります。

○津田専門委員 別の機序で並行に起こっている、直接のデータからはそこが読み切れなかったのですが、通常はCYP1A1のインダクションはプロモーターですね。

○三森座長 プロモーターだけでもないと思います。

○津田専門委員 そこが微妙なのですが、8-OHdGの増加は起こるといふ先ほどの能美先生の話、これはジェノトキシックですね。そこにどういう状況で活性酸素が絡んで、どのように発がんを我々が評価するかが一番重要な点なると思うので、そこを詳しくお聞きしているのですが、ジシクラニルは、最終的にジェノトキシックもあるし、もしかしたらそれ以外の細胞増殖、細胞サイクルを変えるかもしれないし、それに活性酸素が関わって行って、CYP1A1は勿論代謝に関わるが、先生の考えは、CYP1A1の増加は、まず、プライマリーに起こるのだということですね。

○三森座長 そのように理解しております。マイクロアレイで、CYPシリーズから何からすべて見えていますので、その中で一番きれいにCYP1A1が動いているということです。ミトコンドリアからもROSは産生されるのですが、ミトコンドリア関連の遺伝子は動いてきていないので、やはりROSの産生の元はCYP1Aと理解しております。

○津田専門委員 もう一つ、2段階試験を行っておりますが、ジシクラニルを先に実施してフェノバルを後で行ったという実験はないのですか。

○三森座長 肝イニシエーションアッセイをしております。

○津田専門委員 結果はどうでしたか。

○三森座長 陰性でした。1回投与をしておりますが、出てきません。

○津田専門委員 わかりました。

○今井専門委員 能美先生に教えていただきたいのですが、先ほどの津田先生からの御質問に関連して、ジシクラニルの構造を見ますと、エポキシ環があったり、側鎖に水素がたくさん付いたりということですが、構造的に、もし、遺伝毒性に関与している可能性があるとしたならば、これはバッテリーの遺伝毒性試験で引っかかってきているであろうと考えてもよろしいのでしょうか。

○能美専門委員 なかなか難しい質問ですね。構造を見て、この物質がどのような形で、活性酸素種を出してくるのかというのは、なかなか言いがたいところで、確かに先生がおっしゃるように、通常の遺伝毒性バッテリーで、なぜ陰性で、こういう*in vivo*のミュレーションアッセイをやっ

たときにだけ陽性になるのかというのは、私どもも見ていてどうしてなのかなというのが正直なところでは。

ただ、一方で、先ほどの三森先生の最初の論文で、図の6でしょうか。*in vitro* でマイクロソームと混ぜると、活性酸素、8-OHdGが出てくるという論文ですね。

これから考えれば、通常のスタンダードな Ames アッセイであれ、あるいは細胞であれ、チャイニーズハムスターの細胞であれ、そこに何らかの形で、8-OHdG ができても、おかしくないのではないかというのが正直な感じでは。

例えばそういうスタンダードな遺伝毒性試験の *in vitro* 系の修復を壊したようなものを使って行くと、*in vitro* 系の遺伝毒性試験でも陽性が出る可能性があるのではないかと、そういう気持ちは少ししていますが、そこはよくわかりません。

三森先生は CYP がたくさん出てきたために活性酸素が増えたというお話だったのですが、代謝物から活性酸素種が出てくる可能性はないのかなと、そこは私もよくわかりません。むしろ代謝の先生にお聞きしたいと思います。

○今井専門委員 能美先生から活性酸素種を中心にしたいろんな考察をいただいたところではあるのですが、私、最終的にこの場で詰めておかなければいけないと思っていますことは、評価書の中にもありますし、三森先生の論文の中の最後の結論で記載されているのですが、我々の手元にあるデータを見る限りは、このジシクラニルは直接的に遺伝毒性を発現するエビデンスはないという考え方で基本的によろしいでしょうか。

○能美専門委員 直接的にというのは、どのようなことでしょうか。

○今井専門委員 閾値がないと言われている、いわゆる遺伝毒性発がん物質の場合は、その物質が DNA に対して直接バインドして、付加体をつくって、それで遺伝毒性発現するので閾値がないというように考えられていると理解しているのですが、そういう現象が恐らくこのジシクラニルに関してはないだろうと、その考え方はよろしいでしょうか。

○能美専門委員 はい、そうだと思います。前回のときもあったと思うのですが、活性酸素種に由来する DNA 損傷については、閾値があるというのも、どのように切り分けるのかというのは、私もまだよく理解していないところですが、先生おっしゃるように、このもの自身が付加体をつくるというものではない。したがって何らかの形で、活性酸素種を出して、DNA 損傷に至っているところは間違いないと思います。閾値があるかどうかというのは、議論があるところだと思います。

○今井専門委員 ありがとうございます。

○井上専門委員 どうぞ。

○三森座長 私どもの研究室では、別途このような ROS を産生する肝発がん物質の実験を幾つか実

施しているのですが、やはり同じように、CYP1A や ROS を産生する酵素が上がってくるものは必ず肝発がんを示すと思います。ROS も産生してくるし、さらに、8-OHdG も上昇するということであり、何か関連性がありますね。

そこで、CYP の誘導がかからないように用量を下げていくと、一切そういうことが起こらないわけです。ROS の産生も出てこないし、勿論 8-OHdG も増加しないわけです。したがって用量を下げてくるとこのような二次的な DNA 損傷に起因する変異はなくなってしまうのではないかとは思いますが、しかし、こういうデータはまだ少ないと思いますので、閾値が本当にあるというように言い切れるかどうかは、たくさんのデータを蓄積しないとわからないと思います。

世界のどこでもこういうものに対してどういう評価をするということは決められていないはずです。二次的な DNA 損傷を起こすものについて、遺伝毒性発がん物質とは言わないという形で評価するのか、能美先生がおっしゃったように、やはり閾値はわからない、ROS を産生することによって二次的に DNA 損傷を起こすのであれば、遺伝毒性発がん性物質と同じ範疇になるとすると、どのように閾値を取れるのかということについて、議論が必要かと思えます。

○津田専門委員 能美先生、以前にも同様のことを先生にお話ししたことがあると思うのですが、確かに 8-OHdG ができるというのは、ジェノトキシックですね。ジェノトキシックで起こるカルシノジェネティック、その点は明らかですね。そういう場合に、普通は閾値がないと考えるのが普通ですが、例えば全く我々に本来はなくてもよいような化学物質であって、ジェノトキシックを起こしてくるというような場合には、それは閾値がないから基本的に食品に入れないなど、そういう態度を取っていますね。

ですが、活性酸素というのは、我々の体の中に常にできているものであるし、CYP1A1 も存在しているわけですね。そういったものがあって、それはいろいろな状況によって、普通の人でも増減している中であって、正常な身体の変化ですから、そのレベルは閾値だと考えてよいのではないかと思うのですが、そのような考え方は成り立たないのでしょうか。

○能美専門委員 公式見解がどのようなところにあるのかというのは、なかなか難しいところですが、ただ外から来る、例えば紫外線のようなものに対しても、我々はいろいろな防御機構を持っているので、したがってある一定以下であれば、そういう閾値のようなものが考えられるのかなという気がしますが、生体内物質であれ、生体外から来るものであれ、我々の防御機構の中にあるものであれば、その能力以下のものであれば、事実上無毒化されるという可能性があるのではないかと個人的には思っているのです。

したがって、先生がおっしゃるように、活性酸素種は生体内物質ですが、ほかにもアルキル化剤や脂質過酸化など、いろいろな形で、生体内の遺伝毒性物質というのはありますので、そういうも

のも一括して、いわゆる閾値のあるものに入れていくのかという議論にもなるのかという気がするのですが、あまり議論を広げてしまうとわかりにくくなってしまいます。

○井上専門委員 よろしいでしょうか。三森専門委員の先ほどの話を聞いておきますと、国際的にもこういう問題は明らかになっていないというのが一つありますね。

それから、津田専門委員の話もわかることはわかるのですが、閾値を決めたり、あるいは発がん性と活性酸素との関係をここで結論を出すには、多分、情報が不足しているような気がいたします。できれば継続審議にして答えが出るかどうかわかりませんが、継続審議ということで、今日はその辺で議論を閉じたいと思いますがよろしいでしょうか。

○今井専門委員 この活性酸素絡みの発がん遺伝毒性のことも含めまして、あまり話を広げるのという話がありましたが、例えば遺伝子修復酵素の阻害や、タンパク合成全体を抑えることによって、そのような修復酵素が抑えられて、結果的に遺伝毒性があるように見えてしまう物質など、そういうものもひょっとしたら出てくる可能性があるので、どこか受け皿が必要だろうと考えるのが一つ。

もう一つは、この問題に関しましては、動物用医薬品だけに限らず、農薬や食品添加物にも関わってくる問題ですので、この場で継続にして結論を出すのが適切かどうかということも少し考えるところではありますが、その辺りはいかがでしょうか。

○井上専門委員 多分、今井専門委員の御意見が一番もっともな話かもしれませんが、いかがでしょうか。本物質についてはこの委員会として、活性酸素遺伝毒性の絡みについて、現在はこれを評価しない。ただ事実であるということは、この文献があるわけですから、その旨はきちんとコメントを書くということで。

○津田専門委員 私が差し出がましく言うことではないかもしれませんが、これは残留基準が設定されていますね。そういう現状でここでの ADI の評価を求められているわけですね。ある資料を提出すればよいということでしたら継続審議ができますが、それでよいかどうか。

少し観点を変えますが、使用状況を見ますと、羊に使用されますね。ヒトの飲むミルクのための羊には適用外とされているわけですね。仮にそれ以外で使用した場合でも、先ほど頭金先生の説明の部分でもありましたが、羊にかけても、食品に入ると思われる量は極めて少ない。ここが難しいのですが、確かに遺伝毒性を疑われる物質ではあるが、使用状況とその強さ等を判断して、現時点では大きな問題はないというような結論を出すことはできないでしょうか。

○井上専門委員 いかがでしょうか。現在の議論内容は、多分、議論しても結論はなかなか難しいと考えますが。

○関谷課長補佐 事務局から申し上げます。この後の専門調査会もありますので、残念ながら時間

がありません。この資料を送付した後にこれらの文献が出てきたということで、考え方の整理ができていない部分もありますので、津田先生から御提案のあった方針も含めて、御相談しながら、どういった形で議論をしていただくかというところから少し整理させていただき、改めて御審議いただければと思いますが、いかがでしょうか。

○井上専門委員　そういう意味で継続審議ということで、よろしく願いいたします。

それでは、三森座長に司会をお返しいたします。よろしく願いします。

○三森座長　井上先生、どうもありがとうございました。事務局、20分までですが、いかがいたしましょうか。

○関谷課長補佐　専門調査会の予定がありますので、残念ですが、セファレキシンまで入れないということになりますので、ここで確認評価部会は終了ということにさせていただければと思います。

○三森座長　そうしますと、ジシクラニルのマウスの発がん性でストップということで、セファキシンについては、次回ということですね。

あと事務局何かございますか。

○関谷課長補佐　特にございませんが、次回の開催についてでございますが、次回は8月29日の午前中ということで予定しておりますので、よろしく願いいたします。例年ですと、8月に調査会は開催していないということなのですが、確認評価部会として8月29日の午前中、10時から12時半を予定しておりますので、よろしく願いいたします。

○三森座長　次回は8月29日の金曜日、10時から12時半までということですのでよろしく願いいたします。

それでは、ほかに何かございますか。

○関谷課長補佐　そうしましたら15時30分から公開で専門調査会が開催されますので、10分ほど休憩をとらせていただきたいと思います。

○三森座長　ということは15時30分をめぐりに、また御着席をお願いしたいと思います。

どうもありがとうございました。