

（案）

動物用医薬品評価書

フルメキン

2014年6月

食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会

目次

| | 頁 |
|----|---|
| 1 | |
| 2 | |
| 3 | |
| 4 | 〈食品安全委員会委員名簿〉..... 3 |
| 5 | 〈食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会専門委員名簿〉..... 3 |
| 6 | 要約..... 4 |
| 7 | I. 評価対象動物用医薬品の概要..... 5 |
| 8 | 1. 用途..... 5 |
| 9 | 2. 有効成分の一般名..... 5 |
| 10 | 3. 化学名..... 5 |
| 11 | 4. 分子式..... 5 |
| 12 | 5. 分子量..... 5 |
| 13 | 6. 構造式..... 5 |
| 14 | 7. 使用目的及び使用状況..... 5 |
| 15 | II. 安全性に係る知見の概要..... 6 |
| 16 | 1. 薬物動態試験..... 6 |
| 17 | (1) 薬物動態試験 (ラット及びイヌ)..... 6 |
| 18 | (2) 薬物動態試験 (牛)..... 7 |
| 19 | (3) 薬物動態試験 (えび)..... 7 |
| 20 | (4) 代謝試験 (<i>in vivo</i>)..... 8 |
| 21 | (5) 代謝試験 (<i>in vitro</i>)..... 15 |
| 22 | 2. 残留試験..... 15 |
| 23 | (1) 残留試験 (牛、経口投与)..... 15 |
| 24 | (2) 残留試験 (牛、筋肉内投与)..... 16 |
| 25 | (3) 残留試験 (羊、筋肉内投与)..... 16 |
| 26 | (4) 残留試験 (豚)..... 17 |
| 27 | (5) 残留試験 (鶏、飲水投与)..... 18 |
| 28 | (6) 残留試験 (七面鳥、飲水投与)..... 19 |
| 29 | (7) 残留試験 (にじます、混餌投与)..... 19 |
| 30 | (8) 残留試験 (乳汁、皮下投与)..... 20 |
| 31 | (9) 残留試験 (えび)..... 20 |
| 32 | 3. 遺伝毒性試験..... 21 |
| 33 | 4. 急性毒性試験..... 23 |
| 34 | 5. 亜急性毒性試験..... 24 |
| 35 | (1) 14日間亜急性毒性試験 (マウス) <参考データ>..... 24 |
| 36 | (2) 13週間亜急性毒性試験 (マウス) <マウスの肝毒性>..... 24 |
| 37 | (3) 14日間亜急性毒性試験 (ラット) <参考データ>..... 25 |
| 38 | (4) 90日間亜急性毒性試験 (ラット)..... 26 |
| 39 | (5) 14日間亜急性毒性試験 (モルモット) <参考データ>..... 27 |
| 40 | (6) 21日間亜急性毒性試験 (イヌ) <参考データ>..... 27 |

| | | |
|----|---|----|
| 1 | (7) 90 日間亜急性毒性試験 (イヌ) | 28 |
| 2 | (8) 13 週間亜急性毒性試験 (イヌ、若齢) <関節への影響> 今井専門委員修文 | 28 |
| 3 | (9) 15.5 週間亜急性毒性試験 (サル) <参考データ>..... | 29 |
| 4 | 6. 慢性毒性及び発がん性試験..... | 29 |
| 5 | (1) 1 年間慢性毒性試験 (イヌ) | 29 |
| 6 | (2) 18 か月間発がん性試験 (マウス) ①..... | 30 |
| 7 | (3) 18 か月間発がん性試験 (マウス) ②<マウスにおけるフルメキンの投与期間の長 | |
| 8 | さと肝臓の毒性変化及び腫瘍性変化の関連性> | 32 |
| 9 | (4) 二段階肝発がん性試験 (マウス) | 34 |
| 10 | (5) 26 週間発がん性試験 (マウス) <参考データ>..... | 35 |
| 11 | (6) 30 週間二段階発がん性試験 (マウス) <参考データ>..... | 35 |
| 12 | (7) 2 年間発がん性試験 (ラット) | 36 |
| 13 | (8) フルメキンのマウスにおける肝発がん性メカニズム..... | 37 |
| 14 | 7. 生殖発生毒性試験..... | 38 |
| 15 | (1) 生殖毒性試験 (ラット) | 38 |
| 16 | (2) 発生毒性試験 (マウス) ①..... | 40 |
| 17 | (3) 発生毒性試験 (マウス) ②..... | 40 |
| 18 | (4) 発生毒性試験 (ラット) | 40 |
| 19 | (5) 発生毒性試験 (ウサギ) | 41 |
| 20 | 8. 微生物学的影響に関する試験..... | 41 |
| 21 | (1) ヒト腸内細菌叢分離株に対する MIC①..... | 41 |
| 22 | (2) ヒト腸内細菌叢分離株に対する MIC②..... | 42 |
| 23 | (3) ヒト腸内細菌叢分離株に対する MIC (7-ヒドロキシフルメキン) | 43 |
| 24 | (4) ヒト腸内細菌叢の利用分画..... | 44 |
| 25 | 9. ヒトにおける知見..... | 44 |
| 26 | 10. 一般薬理試験 | 44 |
| 27 | (1) ヘキサバルビタール性睡眠時間に対する影響..... | 44 |
| 28 | 11. その他の毒性試験..... | 44 |
| 29 | (1) フルメキン投与マウス由来肝臓の mRNA プロファイル分析 | 44 |
| 30 | III. 食品健康影響評価 | 45 |
| 31 | 1. 国際機関等の評価..... | 45 |
| 32 | (1) JECFA における評価 | 45 |
| 33 | (2) EMEA における評価..... | 46 |
| 34 | 2. 食品健康影響評価..... | 46 |
| 35 | (1) 毒性学的 ADI について | 46 |
| 36 | (2) 微生物学的 ADI について..... | 48 |
| 37 | (3) ADI の設定について..... | 48 |
| 38 | 表 JECFA 及び EMEA における各種試験の無毒性量等の比較..... | 50 |
| 39 | <別紙：検査値等略称> | 52 |
| 40 | <参照> | 53 |

1 <審議の経緯>

- 2005年 11月 29日 暫定基準告示 (参照 1)
- 2010年 3月 19日 厚生労働大臣から残留基準設定に係る食品健康影響評価について要請 (厚生労働省発食安 0319 第 8 号)、関係資料の接受
- 2010年 3月 25日 第 325 回食品安全委員会 (要請事項説明)
- 2014年 6月 4日 第 87 回肥料・飼料等専門調査会

2
3

4 <食品安全委員会委員名簿>

| (2011年1月6日まで) | (2012年6月30日まで) | (2012年7月1日から) |
|-----------------|------------------|-----------------|
| 小泉 直子 (委員長) | 小泉 直子 (委員長) | 熊谷 進 (委員長*) |
| 見上 彪 (委員長代理*) | 熊谷 進 (委員長代理*) | 佐藤 洋 (委員長代理*) |
| 長尾 拓 | 長尾 拓 | 山添 康 (委員長代理*) |
| 野村 一正 | 野村 一正 | 三森 国敏 (委員長代理*) |
| 畑江 敬子 | 畑江 敬子 | 石井 克枝 |
| 廣瀬 雅雄 | 廣瀬 雅雄 | 上安平 冽子 |
| 村田 容常 | 村田 容常 | 村田 容常 |
| * : 2009年7月9日から | * : 2011年1月13日から | * : 2012年7月2日から |

5

6 <食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会専門委員名簿>

| (2011年9月30日まで) | (2013年9月30日まで) | (2013年10月1日から) |
|----------------|----------------|-------------------|
| 唐木 英明 (座長) | 唐木 英明 (座長) | 津田 修治 (座長*) |
| 酒井 健夫 (座長代理) | 津田 修治 (座長代理) | 今井 俊夫 (座長代理*) |
| 青木 宙 高橋 和彦 | 青木 宙 高橋 和彦 | 荒川 宜親 戸塚 恭一 |
| 秋葉 征夫 舘田 一博 | 秋葉 征夫 舘田 一博 | 池 康嘉 中山 裕之 |
| 池 康嘉 津田 修治 | 池 康嘉 戸塚 恭一 | 石原 加奈子 細川 正清 |
| 今井 俊夫 戸塚 恭一 | 今井 俊夫 細川 正清 | 今田 千秋 宮島 敦子 |
| 江馬 眞 細川 正清 | 江馬 眞 宮島 敦子 | 桑形 麻樹子 宮本 亨 |
| 桑形 麻樹子 宮島 敦子 | 桑形 麻樹子 山中 典子 | 小林 健一 山田 雅巳 |
| 下位 香代子 元井 葎子 | 下位 香代子 吉田 敏則 | 下位 香代子 山中 典子 |
| 高木 篤也 吉田 敏則 | | 高橋 和彦 吉田 敏則 |
| | | * : 2013年10月10日から |

7
8

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10

要 約

抗菌剤である「フルメキン」(CAS No.42835-25-6) について、JECFA 評価書、EMEA 評価書等を用いて食品健康影響評価を実施した。

[以降は審議後に記載。]

1
2 I. 評価対象動物用医薬品の概要

3 1. 用途
4 抗菌剤

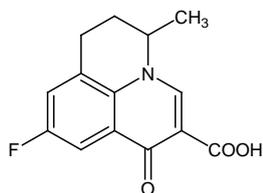
5
6 2. 有効成分の一般名
7 和名：フルメキン
8 英名：Flumequine

9
10 3. 化学名
11 CAS (No. 42835-25-6)
12 英名：9-Fluoro-6,7-dihydro-5-methyl-1-oxo-1*H*,5*H*benzo[*ij*]quinolizine-2
13 -carboxylic acid

14
15 4. 分子式
16 $C_{14}H_{12}FNO_3$

17
18 5. 分子量
19 261.25

20
21 6. 構造式



22 (参照 1) [MERCK INDEX]

23 7. 使用目的及び使用状況

24 フルメキンは、キノロン系合成抗菌剤であり、主にグラム陰性菌に抗菌活性を示す。
25 海外では、動物用医薬品として、牛、羊、鶏、魚類等に経口、筋肉内又は皮下投与で
26 使用される。等の食用動物の主に、家畜の腸管感染症の治療に用いられる。経口、筋肉
27 内又は皮下投与される。ヒト用医薬品としては、尿路尿管感染症の治療に限定的に用い
28 られる。(参照 2～6) [資料 5: FAS 51 EXPLANATION] [資料 6: FAS 53] [資料 13: EMEA (1)-1] [資料
29 14: EMEA(2)-1] [資料 15: EMEA(3)-1] 今井専門委員修文

30 日本では、動物用及びヒト用医薬品として承認されていない。

31 なお、ポジティブリスト制度導入に伴う残留基準値¹が設定されている。(参照 7)

¹ 平成 17 年厚生労働省告示第 499 号によって定められた残留基準値 (参照 7)

1
2
3
4
5
6

II. 安全性に係る知見の概要

本評価書は、JECFA 評価書、EMEA 評価書等を基に、フルメキンの毒性に関する主な知見を整理した。

検査値等略称は別紙に記載した。

【事務局より】

薬物動態試験及び残留試験に関して、JECFA の評価書と EMEA の評価書に、同一の試験と考えられる記載が多数ありますが、各評価書に記載されている数値が若干異なっています（おそらく JECFA の評価書では数値を幅で記載し、EMEA の評価書では平均値を記載していると考えられます。）。本評価書案では、JECFA の評価書の数値を主に記載しています。

7

1. 薬物動態試験

8

(1) 薬物動態試験（ラット及びイヌ）

9

イヌ（品種、齢及び頭数不明、雄）及びラット（系統、齢、匹数及び性別不明）に ^{14}C 標識フルメキンを単回経口投与（25 mg/kg 体重）し、薬物動態試験が実施された。

10
11
12

① 血漿中濃度

13

イヌでは、血漿中濃度は投与 2~4 時間後に C_{\max} （フルメキンとして約 55~65 $\mu\text{g eq/mL}$ 相当）に達した。投与後最初の 12 時間において、（血漿中）総放射活性の約 1/2 は未変化体であった。フルメキンの血漿中からの消失は二相性多指数関数的な動態を示し、 $T_{1/2}$ は α 相で 75 分、 β 相では 6.5 時間であった。細川専門委員修文

14
15
16
17

ラットでは、血漿中濃度は投与約 2 時間後に C_{\max} （約 70 $\mu\text{g eq/mL}$ ）に達した。血漿中の放射活性の大部分は未変化体と考えられた。フルメキンの血漿中 $T_{1/2}$ は 5.25 時間であった。（参照 8、9）[資料 2: FAS 33-2.1.1] [資料 7: TRS 851]

18
19
20
21

② 排泄・代謝

22

両動物種共に投与 5 日以内に尿及び糞中から投与量のほとんど全てが回収され、組織中にフルメキンや及びイヌはその代謝物はほとんど存在しないことが示された。宮本専門委員修文

23
24
25

フルメキンの排泄について、イヌとラットでは著しく異なっていた。イヌでは、投与量の 55~75% が糞中に排泄されたが、ラットでは 10~15% であった。イヌの尿中に未変化体としてみられたのは 5% 未満であり、13~15% はフルメキンの抱合体として排泄された。ラットでは、投与量の 20~36% が尿中に未変化体として排泄され、フルメキンの抱合体として排泄されるものはほとんどなかった。投与後 24 時間の尿中未変化体遊離フルメキン濃度は、両動物種でほぼ同様であった。（参照 8、9）[資料 2: FAS 33-2.1.1] [資料 7: TRS 851] 細川専門委員修文

26
27
28
29
30
31
32
33

1 (2) 薬物動態試験 (牛)

2 子牛 (品種及び性別不明、体重 54~82kg、4 頭) に ^{14}C 標識フルメキンを筋肉内又は
3 経口投与し、薬物動態試験が実施された。初回投与量は 12 mg/kg 体重で、その後 12 時
4 間毎に 6 mg/kg 体重を 9 回投与した。投与期間中及び最終投与後に尿、糞及び血液を採
5 取した。被験動物は最終投与 6、24、72 又は 168 時間後に安楽死処置した。(参照 10)
6 [資料 17: FNP41/10 Pharmacokinetics and Metabolism]

7 8 ① 吸収及び排泄 (筋肉内投与)

9 筋肉内投与試験では、血漿中濃度は、初回投与後上昇し、投与 2 時間後に C_{\max} ~~プラト~~
10 \equiv (5.2~7.4 mg eq/L) に達した後低下し、第 2 回投与直前には 1.3~2.6 mg eq/L であ
11 った。繰り返し投与により、最終投与まで定常状態が持続した。定常状態にすぐに達し、
12 最終投与時まで持続した。最終投与後、血漿中放射活性はゆっくりと減少し、最終投与
13 168 時間後には 0.2 mg eq/L となった。全血中放射活性濃度は血漿中濃度に類似してい
14 たが、その濃度は血漿中濃度より低かった。投与された放射活性の 48~63%は尿中に排
15 泄され (最初の 24 時間で 47~61%)、糞中への排泄は 21~41%であった。最終投与後
16 168 時間の放射活性の総回収率は 85~96%であった。(参照 4、5、10) [資料 17: FNP41/10
17 Pharmacokinetics and Metabolism] [資料 13: EMEA(1)-15] [資料 14: EMEA(2)-2] 細川専門委員修文

18 19 ② 吸収及び排泄 (経口投与)

20 経口投与試験では、血漿中 ~~濃度推移放射活性プロファイル~~ は筋肉内投与の血漿中 濃度
21 推移放射活性プロファイル と同様であったが、より低値であった。初回投与後の血漿中
22 濃度は、投与 0.5 時間後に C_{\max} ~~プラト~~ \equiv (2.5~5.8 mg eq/L) に達した後、第 2 回投与
23 直前には 0.8~1.5 mg eq/L に低下した。繰り返し投与により、最終投与まで定常状態が
24 持続した。定常状態にすぐに達し、最終投与時まで持続した。全血中放射活性濃度は血
25 漿中濃度に類似していたが、その濃度は血漿中濃度より低かった。投与された放射活性
26 の 52~73%は尿中に排泄され (最初の 24 時間で 49~70%)、糞中への排泄は 21~36%
27 であった。最終投与後 168 時間の放射活性の総回収率は 52~73%であった。(参照 4、5、
28 10) [資料 17: FNP41/10 Pharmacokinetics and Metabolism] [資料 13: EMEA(1)-15] [資料 14:
29 EMEA(2)-2] 細川専門委員修文

30 両投与経路とも、投与された放射活性の約 90%は投与 168 時間以内に排泄された (尿
31 中 : 55%、糞中 : 35%)。排泄される放射活性の大部分 (98%) は投与 24 時間以内に回
32 収された。(参照 4、5、10) [資料 17: FNP41/10 Pharmacokinetics and Metabolism] [資料
33 13: EMEA(1)-16] [資料 14: EMEA(2)-2]

34 35 (3) 薬物動態試験 (えび)

36 えび (ブラックタイガー : *Penaeus monodon*、体重 20~30 g、9 尾/時点/群) にフル
37 メキンを単回筋肉内又は強制経口投与 (いずれも 12 mg/kg 体重/日) し、薬物動態試験
38 が実施された。筋肉中のフルメキン濃度を HPLC によって経時的 (投与 1~360 時間の
39 間に 20 回) に測定した。

40 両投与経路における経時的な筋肉中フルメキン濃度を表 1、薬物動態パラメータを表

2に示した。

筋肉中濃度は、筋肉内投与で投与2時間後に C_{max} 最高濃度 (2,616.45 $\mu\text{g}/\text{kg}$) に達し、投与216時間後に定量限界 (5 $\mu\text{g}/\text{kg}$) 未満に低下した。強制経口投与では、投与12時間後に最高濃度 (365.8 $\mu\text{g}/\text{kg}$) に達し、投与144時間後に定量限界未満に低下した。筋肉内及び強制経口投与後の筋肉中の $T_{1/2}$ はそれぞれ 33.4 及び 60.2 時間であった。強制経口投与後の筋肉中の AUC は、筋肉内投与後の 1/5 であった。(参照 11、12) [資料 19: FNP41/15][資料 10: TRS918 Residue data] 細川専門委員修文

【細川専門委員コメント】

エビの強制経口投与とはどのような投与でしょうか。

表1 えびにおけるフルメキン単回筋肉内又は強制経口投与後の平均筋肉中濃度 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)

| 投与経路 | 投与後経過時間 (h) | | | | | |
|------|-------------|----------|----------|----------|--------|--------|
| | 1 | 2 | 4 | 8 | 12 | 24 |
| 筋肉内 | 1,885.80 | 2,616.45 | 2,101.87 | 1,777.95 | 744.48 | 600.76 |
| 経口 | 162.22 | 178.16 | 183.01 | 210.76 | 365.80 | 124.56 |
| | 48 | 72 | 96 | 120 | 144 | 168 |
| | 149.91 | 121.84 | 64.64 | 38.42 | 27.36 | 12.22 |
| | 65.41 | 15.75 | 11.62 | 7.67 | <LOQ | <LOQ |
| | 192 | 216 | 240 | 264 | 288 | 312 |
| | 6.66 | <LOQ | <LOQ | <LOQ | 0 | 0 |
| | <LOQ | <LOQ | 0 | 0 | 0 | 0 |

LOQ (定量限界) : 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ n=9 水温 28~32°C

表2 えびにおけるフルメキン単回筋肉内又は強制経口投与後の薬物動態パラメータ

| パラメータ | 筋肉内 | 経口 |
|---|-------|--------|
| $T_{1/2\beta}$ (h) | 33.45 | 60.21 |
| MRT (h) | 28.17 | 35.07 |
| AUC ($\mu\text{g} \cdot \text{h}^{-1}/\text{kg}$) | 56.55 | 12.23 |
| F (%) | | 21.63 |
| C_{max} ($\mu\text{g}/\text{kg}$) | | 365.81 |
| T_{max} (h) | | 12.0 |

$T_{1/2\beta}$: 消失半減期、MRT : 平均滞留時間、F : 投与量の利用率

(4) 代謝試験 (*in vivo*)

① 牛

a. 子牛 (品種及び性別不明) に ^{14}C 標識フルメキンを 10 回投与 (投与経路不明) し、代謝試験が実施された。初回投与量は 12 mg/kg 体重で、その後 12 時間毎に 6 mg/kg

1 体重を9回投与した。
 2 酵素による加水分解後、腎臓、筋肉、脂肪、尿及び糞から分離された主要な2物質は、
 3 フルメキン及び7-ヒドロキシフルメキンであった。このことから、これらの試料中のす
 4 べての主要代謝物は、フルメキン又は7-ヒドロキシフルメキンのグルクロン酸抱合体で
 5 あることが示された。全試料中の加水分解後のフルメキン代謝物の分布及び量を表3に
 6 示した。(参照5、10、13) [資料17: FNP41/10 Pharmacokinetics and Metabolism][資料8: TRS 879
 7 Residue data] [資料14: EMEA(2)-15]

8
 9 表3 子牛における¹⁴C標識フルメキン10回投与^(a)後の代謝物の分布

| 試料 | 放射活性の抽出率 (%) | フルメキン (%) | 7-ヒドロキシフルメキン (%) |
|----|-----------------------------|--|--|
| 尿 | | 81~86 ^(b) | 12~17 ^(b) |
| 糞 | 79~84 ^(c) | 72~82 | 16~27 |
| 腎臓 | 86~98 | 50~68 | 28~37 |
| 筋肉 | 99 | 98 | |
| 脂肪 | 87~97 | 51~77 | 22~47 |
| 肝臓 | 54~63 ^(c) 約80 | 26~40 ^(d) 55 ^{(b)(d)} | 59~60 ^(d) 42 ^{(b)(d)} |

10 (a) : 初回に12 mg/kg 体重を投与。その後12時間毎に6 mg/kg 体重を9回投与 (投与経路不明)

11 (b) : 酵素による脱抱合後に測定

12 (c) : 最終投与6時間後

13 (d) : より極性の高い代謝物も存在

14 **【事務局より】**

(1) JECFA 評価書では本試験の投与経路が不明ですので、「投与経路不明」と記載しております。

(2) 表3の肝臓について、下段の数値の意味が不明ですので、削除したいと考えておりますが、よろしいでしょうか。

【宮島専門委員コメント】

(1) 資料8: TRS879にorallyとありますが、本文の数字も微妙に異なるので、投与経路不明のままが良いと思います。

【細川専門委員コメント】

(2) 削除して良いと思います。

【宮島専門委員コメント】

(2) 注(b)にあるように、下段の値は酵素による脱抱合後に測定した結果なので、そのまま残してはいかがでしょうか。

【宮本専門委員コメント】

(2) 引用元資料 Allan et al. (1995)を確認することはできないでしょうか。

【事務局より】

(2) 非公表資料のため確認は難しいと考えております。

b. 上記代謝試験において、肝臓からの放射活性の抽出率は低く、主要代謝物の厳密な特定ができなかったため、最終投与後の異なる時点の子牛の肝臓から、酢酸エチル及びメタノールの両方で抽出することにより代謝物を分離した。放射活性の回収率は、最終投与 6 及び 24 時間後では酵素による脱抱合化により大きな影響は受けなかったが、時間の経過とともにリンゴマイマイ (*Helix pomatia*) 由来の酵素を用いて脱抱合化した酢酸エチル層に回収される放射活性の分画が増加した。分離された代謝物の放射活性の約 20%は、抱合化代謝物であると考えられた。溶媒抽出後の組織中の残留放射活性は、プロナーゼ消化後に抽出過程を繰り返すことにより回収が可能となった。

HPLC で得られたピークの放射活性プロファイリングによって、フルメキンと 7-ヒドロキシフルメキンの他に 13 種の代謝物 (M1~M13) が検出されたが、フルメキン、7-ヒドロキシフルメキン及び M1 が総抽出放射活性の大部分を占めた (表 4)。最終投与 24 時間後では、フルメキンは抽出された放射活性の 10~34%であり、7-ヒドロキシフルメキンは 2~12%であった。M1 は、抗菌活性を持たず、遊離型及び蛋白結合型として存在しており、最終投与 24 時間後以降の肝臓における主要代謝物であったが、同定されなかった。(参照 4、5、10、13、14) [資料 17: FNP41/10 Pharmacokinetics and Metabolism] [資料 18: FNP41/13 Metabolism][資料 8: TRS879 Residue data] [資料 13: EMEA(1)-20] [資料 14: EMEA(2)-15]

表 4 子牛の肝臓における *H. pomatia* を用いた加水分解後のフルメキンの主要代謝物

| | | 最終投与後経過時間 (h) | | | | |
|------------------------|--------------|---------------|-------|-------|-------|-------|
| | | 6 | 24 | 72 | 120 | 168 |
| 総放射活性 (mg eq/kg) | | 7.73 | 5.41 | 4.19 | 3.98 | 3.00 |
| 抽出放射活性 (%) タンパク質非消化 | | 65.5 | 51.0 | 48.2 | 41.1 | 48.5 |
| 代謝物 (%) | M1 | 9~15 | 25~41 | 26~43 | 52~57 | 35~63 |
| | フルメキン | 42~58 | 10~34 | ND | ND | ND |
| | 7-ヒドロキシフルメキン | 9~13 | 2~12 | 6~9 | ND | 0~22 |

ND : 不検出

筋肉内投与又は経口投与後の尿又は糞中に同定された 2 種の主要代謝物は、未変化体及びその水酸化物であった。尿及び糞において、フルメキンは検出した放射活性の約 80%を占め、水酸化物は 10~20%であった。他の未知の物質 (12%) が筋肉内投与後の尿にのみみられた。(参照 4、5) [資料 13: EMEA(1)-17] [資料 14: EMEA(2)-2]

c. 牛（肉用種、7か月齢、体重125～135 kg、雌雄各3頭）の頸部に¹⁴C標識フルメキンを5日間皮下投与（12 mg/kg 体重/日）し、代謝試験が実施された。最初の4回は左側頸部に、最後の1回は右側頸部に投与した。最終投与18時間後に、腎臓、肝臓、背最長筋、脂肪及び投与部位を採材し、HPLC、総放射活性及び~~抗菌微生物学的~~活性の測定に供した。~~抗菌微生物学的~~活性は、試験菌として *Morganella morganii* を用いて、寒天拡散法（採用した試験方法は不詳）によって測定した。これらの測定に用いた脂肪は、腎臓周囲、大網及び皮下の脂肪の混合物であった。[荒川専門委員修文]

HPLC 及び放射活性の分析の結果を表5に示した。

肝臓中の放射活性の約83%がフルメキンの代謝物又は結合型残留物であることが示された。筋肉及び腎臓では、代謝物又は結合型残留物が放射活性の約21%を占めたが、脂肪及び投与部位では、フルメキンはほとんどすべてが未変化体として回収された。（参照14、15）[資料18: FNP41/13 Metabolism][資料9: TRS900 Residue data]

~~抗菌微生物学的~~活性を有する残留物の平均濃度は、筋肉で414 µg/kg、脂肪で1,110 µg/kg、肝臓で1,794 µg/kg、腎臓で4,547 µg/kgであった。~~抗菌微生物学的~~活性を有する総残留物に対するフルメキンの比率は、筋肉で0.77、脂肪で1、肝臓で0.69及び腎臓で0.94であった。（参照5）[資料14: EMEA(2)-16][荒川専門委員修文]

【荒川専門委員コメント】

「微生物学的活性」は、どのような活性なのかすぐには分かりにくいので、章やパラグラフの最初は「微生物学的抗菌活性」とし、それ以降は「抗菌活性」と省略してはどうか。

【事務局より】

「微生物学的活性」は全て「抗菌活性」に修正しました。

表5 牛における¹⁴C標識フルメキン5日間皮下投与後の総放射活性に対するフルメキンの比率

| 試料 (n=6) | HPLC 検出フルメキン | | ¹⁴ C 標識フルメキンとして算出された総放射活性 | | HPLC 検出フルメキンと ¹⁴ C 放射活性の比率 (±SD) |
|-------------|---------------|---------------|--------------------------------------|------------------|---|
| | 平均 (µg/kg) | SD (µg/kg) | 平均 (µg eq/kg) | SD (µg eq/kg) | |
| 筋肉 | 321 | 89 | 374 | 92 | 0.79 (0.04) |
| 肝臓 | 1,200 | 280 | 7,110 | 1,380 | 0.17 (0.06) |
| 腎臓 | 4,200 | 981 | 5,320 | 1,270 | 0.79 (0.05) |
| 脂肪* | 1,080 | 666 | 1,180 | 954 | 1.00 (0.14) |
| 投与部位 | 455,000 | 456,000 | 464,000 | 434,000 | 1.04 (0.07) |

*：腎臓周囲、大網及び皮下の脂肪の混合物

② 羊

1 羊（品種不明、体重 38～50 kg、雌雄各 3 頭）の頸部に ¹⁴C 標識フルメキンを 1 日 2
 2 回、5 日間筋肉内投与し、代謝試験が実施された。初回投与量は 12 mg/kg 体重で、そ
 3 の後 12 時間毎に 6 mg/kg 体重を投与した。第 1～9 回投与では左側頸部に、最終投与は
 4 右側頸部に投与した。最終投与 16 時間後に、腎臓、肝臓、背最長筋、脂肪及び投与部
 5 位を採材し、HPLC 及び総放射活性の測定に供した。これらの測定に用いた脂肪は、腎
 6 臓周囲、大網及び皮下の脂肪の混合物であった。

7 HPLC 及び放射活性の測定の結果を表 6 にまとめた。

8 肝臓中の放射活性の約 94%がフルメキンの代謝物又は結合型残留物であることが示
 9 された。腎臓では放射活性の約 65%が、筋肉では 51%、脂肪では 44%が代謝物又は結
 10 合型残留物であった。左右の投与部位では、代謝物は少なく、未変化体が多くみられた。

11 （参照 14、15）[資料 18: FNP41/13 Metabolism] [資料 9: TRS900 Residue data]

12
 13 表 6 羊における ¹⁴C 標識フルメキン 5 日間（2 回/日）筋肉内投与後の総放射活性に
 14 対するフルメキンの比率

| 試料 (n=6) | HPLC 検出フルメキン | | ¹⁴ C 標識フルメキンとし て算出された総放射活性 | | HPLC 検出フルメキンと ¹⁴ C 放射活性の比率 (±SD) |
|-------------|---------------|---------------|--|------------------|--|
| | 平均 (µg/kg) | SD (µg/kg) | 平均 (µg eq/kg) | SD (µg eq/kg) | |
| 筋肉 | 49 | 15 | 100 | 21 | 0.49 (0.08) |
| 肝臓 | 139 | 30 | 2,520 | 787 | 0.06 (0.01) |
| 腎臓 | 710 | 148 | 2,230 | 682 | 0.35 (0.05) |
| 脂肪* | 120 | 77 | 160 | 131 | 0.56 (0.05) |
| 投与部位左 | 17,500 | 14,300 | 17,800 | 13,300 | 0.86 (0.24) |
| 投与部位右 | 13,300 | 12,000 | 12,500 | 10,000 | 0.96 (0.21) |

15 *: 腎臓周囲、大網及び皮下の脂肪の混合物

16 **【事務局より】**

表 6 は、FNP 41/13 の表 4 を記載しているものですが、表 4 のタイトルでは「i.v. administration」となっています。

【宮島専門委員コメント】

表 4 のタイトルがミスだと思われます。FNP 41/13 の本文及び参考文献のタイトルで確認（内容は確認できません）。

17
 18 ③ 豚

19 豚（品種不明、体重 45～49 kg、雌雄各 3 頭）の頸部に ¹⁴C 標識フルメキンを 1 日 2
 20 回、5 日間筋肉内投与し、代謝試験が実施された。投与は、初回に 15 mg/kg 体重を投
 21 与し、その後 12 時間毎に 7.5 mg/kg 体重を 9 回投与した。第 1～9 回投与では左側頸部
 22 に、最終投与では右側頸部に投与した。最終投与 16 時間後に、腎臓、肝臓、背最長筋、

1 脂肪及び投与部位を採材し、HPLC、総放射活性及び微生物学的抗菌活性の測定に供し
 2 た。抗菌微生物学的活性は、試験菌として *M.organella morganii* を用いて、寒天拡散
 3 法（採用した試験方法は不詳）によって測定した。測定に用いた脂肪は、腎臓周囲、大
 4 網及び皮下の脂肪の混合物であった。[荒川専門委員修文]

5 HPLC 及び放射活性の測定の結果を表 7 にまとめた。

6 肝臓中の放射活性の約 93%がフルメキンの代謝物又は結合型残留物であることが示
 7 された。腎臓では放射活性の約 56%が、脂肪付き皮膚では放射活性の約 45%が、筋肉及
 8 び脂肪では放射活性の約 25.45%が代謝物又は結合型残留物であった。（参照 14、15）[宮
 9 島専門委員修文][資料 18: FNP41/13 Metabolism] [資料 9: TRS900 Residue data]

10 抗菌微生物学的活性を有する残留物の濃度は、筋肉、脂肪付き皮膚、肝臓、腎臓及び
 11 投与部位でそれぞれ 378、288、803、3,024 及び 131,422 µg/kg であった。抗菌微生物
 12 学的活性を有する総残留物に対するフルメキンの比率は、筋肉で 0.53、脂肪付き皮膚で
 13 1、肝臓で 0.58 及び腎臓で 0.78 であった。（参照 5）[資料 14: EMEA(2)-20][荒川専門委員修
 14 文]

15
 16 表 7 豚における ¹⁴C 標識フルメキン 5 日間（2 回/日）筋肉内投与後の総放射活性に
 17 対するフルメキンの比率

| 試料 (n=6) | HPLC 検出フルメキン | | ¹⁴ C 標識フルメキンとし て算出された総放射活性 | | HPLC 検出フルメキンと ¹⁴ C 放射活性の比率 (±SD) |
|-------------|---------------|---------------|--|------------------|--|
| | 平均 (µg/kg) | SD (µg/kg) | 平均 (µg eq/kg) | SD (µg eq/kg) | |
| 筋肉 | 199 | 45 | 262 | 42 | 0.75 (0.05) |
| 肝臓 | 468 | 78 | 7,140 | 964 | 0.07 (0.02) |
| 腎臓 | 2,360 | 861 | 5,270 | 796 | 0.44 (0.10) |
| 脂肪* | 364 | 113 | 483 | 141 | 0.76 (0.09) |
| 脂肪付き 皮膚 | 246 | 41 | 446 | 59 | 0.55 (0.05) |
| 投与部位 | 104,000 | 57,600 | 125,000 | 68,000 | 0.83 (0.20) |

18 *: 腎臓周囲、大網及び皮下の脂肪の混合物
 19
 20

21 ④ 鶏

22 鶏（肉用種、5 週齢、体重 2.16~2.64 kg、雌雄各 3 羽）に ¹⁴C 標識フルメキンを溶液
 23 として 5 日間強制経口投与（18 mg/kg 体重/日）し、代謝試験が実施された。最終投与
 24 12 時間後に、腎臓、肝臓、筋肉（胸筋及び大腿筋）、脂肪（大網）及び脂肪付き皮膚を
 25 採材し、HPLC、総放射活性及び微生物学的抗菌活性の測定に供した。抗菌微生物学的
 26 活性は、試験菌として *M.organella morganii* を用いて、寒天拡散法（採用した試験方
 27 法は不詳）によって測定した。[荒川専門委員修文]

28 HPLC 及び放射活性の測定の結果を表 8 にまとめた。

1 肝臓中の放射活性の約 30%がフルメキンの代謝物又は結合型残留物であることが示
 2 された。腎臓では放射活性の約 24%が、筋肉では約 6%、脂肪付き皮膚では約 23%が代
 3 謝物又は結合型残留物であった。大網脂肪には測定可能なフルメキンの代謝物はみられ
 4 なかった。(参照 14、15) [資料 18: FNP41/13 Metabolism] [資料 9: TRS900 Residue data]

5 抗菌微生物学的活性を有する残留物の濃度は、筋肉、脂肪付き皮膚、腎臓及び肝臓で
 6 それぞれ 629、528、1,519 及び 2,013 µg/kg であった。抗菌微生物学的活性を有する総
 7 残留物に対するフルメキンの比率は、筋肉で 0.81、脂肪付き皮膚で 0.5、肝臓で 0.72 及
 8 び腎臓で 0.79 であった。(参照 5) [資料 14: EMEA(2)-22] 荒川専門委員修文

10 表 8 鶏における ¹⁴C 標識フルメキン 5 日間強制経口投与後の総放射活性に対するフル
 11 メキンの比率

| 試料 (n=6) | HPLC 検出フルメキン | | ¹⁴ C 標識フルメキンとして 算出された総放射活性 | | HPLC 検出フルメキンと ¹⁴ C 放射活性の比率 (±SD) |
|-------------|---------------|---------------|--|------------------|--|
| | 平均 (µg/kg) | SD (µg/kg) | 平均 (µg eq/kg) | SD (µg eq/kg) | |
| 筋肉 | 509 | 154 | 553 | 183 | 0.94 (0.10) |
| 肝臓 | 1,080 | 397 | 1,550 | 557 | 0.70 (0.04) |
| 腎臓 | 1,560 | 488 | 2,060 | 624 | 0.76 (0.06) |
| 脂肪付き 皮膚 | 275 | 95 | 361 | 127 | 0.77 (0.06) |
| 大網脂肪 | 129 | 38 | 123 | 44 | 1.09 (0.20) |

12
 13 ⑤ にじます

14 7°C及び 16°Cの水温の別々の水槽でにじます (平均体重 90.1±8.1 及び 100±10.3 g、
 15 5 尾/時点/群) に ¹⁴C 標識フルメキンを単回強制経口投与 (12 mg/kg 体重、ラクトース
 16 で 2%に処方、ゼラチンカプセル投与) し、代謝試験が実施された。16°C群は投与 18
 17 及び 36 時間後に、7°C群は投与 36 及び 96 時間後に、皮膚付き筋肉を採材し、HPLC、
 18 総放射活性及び微生物学的抗菌活性の測定に供した。抗菌微生物学的活性は、試験菌と
 19 して *M.organella morganii* を用いて、寒天拡散法 (採用した試験方法は不詳) によっ
 20 て測定した。荒川専門委員修文

21 HPLC 及び放射活性の測定の結果を表 9 にまとめた。

22 両水温群のどの時点においてもフルメキンの代謝物はみられなかった。(参照 14、15)
 23 [資料 18: FNP41/13 Metabolism] [資料 9: TRS900 Residue data]

24 抗菌微生物学的活性を有する残留物の濃度は、16°C群において、投与 18 及び 36 時間
 25 後でそれぞれ 4,046 及び 4,415 µg/kg であり、抗菌微生物学的活性を有する総残留物に
 26 対するフルメキンの比率は、それぞれ 0.83 及び 0.75 であった。7°C群においては、投与
 27 36 及び 96 時間後で 4,495 及び 2,541 µg/kg であり、抗菌微生物学的活性を有する総残
 28 留物に対するフルメキンの比率は、それぞれ 0.79 及び 0.67 であった。(参照 5) [資料 14:
 29 EMEA(2)-24] 荒川専門委員修文

表9 異なる水温のマスにおける ¹⁴C 標識フルメキン単回強制経口投与後の皮膚付き筋肉中の総放射活性に対するフルメキンの比率

| 水温/測定時点 (n=5) | HPLC 検出フルメキン | | ¹⁴ C 標識フルメキンとして算出された総放射活性 | | HPLC 検出フルメキンと ¹⁴ C 放射活性の比率 (±SD) |
|------------------|--------------|-----------|--------------------------------------|-----------|---|
| | 平均(μg/kg) | SD(μg/kg) | 平均(μg/kg) | SD(μg/kg) | |
| 16°C/18 h | 3,320 | 2,210 | 3,160 | 2,030 | 1.04 (0.06) |
| 16°C/36 h | 3,160 | 1,300 | 3,110 | 1,140 | 1.00 (0.07) |
| 7°C/36 h | 3,680 | 1,750 | 3,670 | 1,490 | 0.98 (0.11) |
| 7°C/96 h | 1,700 | 555 | 1,760 | 585 | 0.97 (0.05) |

(5) 代謝試験 (*in vitro*)

ラット、マウス、子牛、豚、鶏、ます及び羊（全て系統、齢、匹（頭）数及び性別不明）の肝ミクロソームを用いて *in vitro* の代謝試験が実施された。フルメキンは、~~ミト~~ ~~コン~~ ~~ソーム~~ 酵素系の第 I 相反応酵素群で僅かに代謝された。主要な代謝物は 7-ヒドロキシフルメキンであり、総放射活性の 6%未満であった。さらにフルメキンはグルクロン酸化され、グルクロン酸抱合体は全動物種で総放射活性の 12.5%未満であった。（参照 4、5）[\[宮島専門委員修文\]](#)[\[資料 13: EMEA\(1\)-18\]](#)[\[資料 14: EMEA\(2\)-2\]](#)

2. 残留試験

(1) 残留試験（牛、経口投与）

牛（品種及び性別不明、8~12 週齢、体重 92 kg、4 頭/時点）にフルメキンを 1 日 2 回、5 日間経口投与し、残留試験が実施された。投与は、初回に 12 mg/kg 体重を投与し、その後 12 時間毎に 6 mg/kg 体重を投与した。最終投与 24、36、48 及び 72 時間後に腎臓、肝臓、筋肉及び脂肪中のフルメキン及び代謝物である 7-ヒドロキシフルメキン濃度を HPLC によって測定した。

各時点の組織中のフルメキン濃度を表 10 に示した。（参照 10、13）[\[資料 17: FNP41/10 Tissue Residue Depletion Studies\]](#)[\[資料 8: TRS 879 Residue data\]](#)

また、7-ヒドロキシフルメキンは、筋肉、脂肪及び肝臓からは検出されず、腎臓からは微量（最終投与 24 及び 48 時間後にそれぞれ 171 μg/kg 及び 50 μg/kg 未満）が検出された。（参照 4、5）[\[資料 13: EMEA\(1\)-25\]](#)[\[資料 14: EMEA\(2\)-17\]](#)

表 10 牛におけるフルメキン 5 日間経口投与後の組織中フルメキン濃度 (mg/kg)

| 試料 (n=4) | 最終投与後経過時間 (h) | | | |
|-------------|---------------|-----------|-----------|-----------|
| | 24 | 36 | 48 | 72 |
| 腎臓 | 0.82~2.77 | 0.29~1.06 | 0.23~0.95 | 0.13~0.33 |
| 肝臓 | 0.70~1.47 | 0.24~0.64 | 0.17~0.53 | 0.07~0.29 |
| 筋肉 | 0.18~0.43 | 0.06~0.18 | 0.09~0.16 | 0.06~0.17 |
| 脂肪 | 0.15~1.04 | 0.11~0.15 | 0.24~0.48 | 0.08~0.15 |

1 LOQ (定量限界) : 肝臓、脂肪及び腎臓 0.05 mg/kg、筋肉 0.025 mg/kg

2 LOD (検出限界) : 0.018 mg/kg

3

4 (2) 残留試験 (牛、筋肉内投与)

5 牛 (品種及び性別不明、18 週齢、体重 192±5 kg、4 頭/時点) にフルメキンを 1 日 2
6 回、5 日間筋肉内投与し、残留試験が実施された。投与は、初回に 12 mg/kg 体重を投
7 与し、その後 12 時間毎に 6 mg/kg 体重を投与した。最終投与 24、36、48、72 及び 96
8 時間後に腎臓、肝臓、筋肉及び脂肪中のフルメキン及び代謝物である 7-ヒドロキシフ
9 ルメキン濃度を HPLC によって測定した。

10 各時点の組織中濃度を表 11 に示した。(参照 10、13) [資料 17: FNP41/10 Tissue Residue
11 Depletion Studies][資料 8: TRS 879 Residue data]

12 7-ヒドロキシフルメキンは、筋肉、脂肪及び肝臓からは検出されず、腎臓からは微量
13 (最終投与 24、48 及び 72 時間後にそれぞれ 108、53 µg/kg 及び 50 µg/kg 未満) が検
14 出された。(参照 4、5) [資料 13: EMEA (1)-25][資料 14: EMEA (2)-17]

15

16 表 11 牛におけるフルメキン 5 日間筋肉内投与後の組織中濃度 (mg/kg)

| 試料 (n=4) | 最終投与後経過時間 (h) | | | | |
|-------------|---------------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| | 24 | 36 | 48 | 72 | 96 |
| 腎臓 | 0.68~1.53 | 0.28~0.70 | 0.21~0.59 | 0.16~0.44 | 0.06~0.12 |
| 肝臓 | 0.14~0.34 | 0.06~0.16 | 0.06~0.08 | <LOD~0.08 | LOD~<LOQ |
| 筋肉 | 0.05~0.80 | 0.05~0.07 | 0.04~0.07 | 0.03~0.04 | 0.04~0.06 |
| 脂肪 | 0.12~0.28 | <LOQ | 0.05~0.11 | <LOQ | LOD~<LOQ |

17 LOQ (定量限界) : 肝臓、脂肪及び腎臓 0.05 mg/kg、筋肉 0.025 mg/kg

18 LOD (検出限界) : 0.018 mg/kg

19

20 (3) 残留試験 (羊、筋肉内投与)

21 羊 (品種、齢及び性別不明、4 頭/時点) にフルメキンを 1 日 2 回、5 日間筋肉内投与
22 し、残留試験が実施された。投与は、初回に 12 mg/kg 体重を投与し、その後 12 時間毎
23 に 6 mg/kg 体重を 1 日 2 回投与した。最終投与 18、30、48、60 及び 78 時間後に腎臓、
24 肝臓、筋肉及び脂肪中のフルメキン及び 7-ヒドロキシフルメキン濃度を HPLC によっ
25 て測定した。

26 各時点の組織中フルメキン濃度を表 12 に示した。(参照 10、13) [資料 17: FNP41/10
27 Tissue Residue Depletion Studies][資料 8: TRS 879 Residue data]

28 48 時間後の 7-ヒドロキシフルメキンは、痕跡のみがみられ、筋肉、脂肪及び肝臓で
29 10 µg/kg 未満、腎臓で 100 µg/kg 未満であった。(参照 4) [資料 13: EMEA (1)-29]

30

31 表 12 羊におけるフルメキンを 5 日間筋肉内投与後の組織中フルメキン濃度 (µg/kg)

| 試料 (n=4) | 最終投与後経過時間 (h) | | | | |
|-------------|---------------|----|----|----|----|
| | 18 | 30 | 48 | 60 | 78 |

| | | | | | |
|----|---------------|------------|-------------|------------|-----------|
| 腎臓 | 186.7~4,204.0 | 56.7~879.8 | 145.9~338.7 | 30.7~185.8 | 24.7~62.5 |
| 肝臓 | 168.7~1,255.3 | 17.6~145.2 | 36.5~76.6 | 17.7~64.0 | <LOQ~19.3 |
| 筋肉 | 54.9~491.6 | 17.2~87.6 | 24.5~40.7 | <LOQ~19.7 | <LOQ~12.4 |
| 脂肪 | 45.9~167.7 | 17.2~364.9 | 28.2~181.7 | 11.4~116.6 | 7.7~171.9 |

LOQ (定量限界) : 筋肉、肝臓、脂肪、腎臓 5 µg/kg

【事務局より】

投与経路について、FNP 41/10 では筋肉内投与であり、TRS 879 では経口投与となっています。「筋肉内投与」としてよろしいでしょうか？

【細川専門委員】

先ほどの i. v. と同様に恐らくミスタイプだと思われますので、筋肉内投与としてよいと思います。

【宮島専門委員】

FNP41/10 の参考文献のタイトルに intramusculaires とあるので、(内容は確認できませんが) 筋肉内投与でよいと思います。

(4) 残留試験 (豚)

① 経口投与試験

豚 (品種及び性別不明、4 か月齢、体重 52 kg、4 頭/時点) にフルメキンを 1 日 2 回、5 日間経口投与し、残留試験が実施された。投与は、初回に 15 mg/kg 体重を投与し、その後は 7.5 mg/kg 体重を 12 時間毎に投与した。最終投与 12、24、36、48、72 及び 96 時間後に腎臓、肝臓、筋肉及び脂肪中のフルメキン濃度を HPLC によって測定した。

各時点の組織中フルメキン濃度を表 13 に示した。(参照 10、13) [資料 17: FNP41/10 Tissue Residue Depletion Studies] [資料 8: TRS 879 Residue data]

表 13 豚におけるフルメキン 5 日間経口投与後の組織中フルメキン濃度 (mg/kg)

| 試料 (n=4) | 最終投与後経過時間 (h) | | | | | |
|-------------|---------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| | 12 | 24 | 36 | 48 | 72 | 96 |
| 腎臓 | 1.33~2.62 | 0.23~0.74 | 0.08~0.70 | 0.06~0.82 | 0.07~0.26 | 0.07~0.42 |
| 肝臓 | 0.30~0.50 | 0.07~0.19 | <LOQ~0.18 | <LOQ~0.30 | <LOQ~0.08 | <LOQ~0.08 |
| 筋肉 | 0.13~0.27 | <LOQ~0.07 | <LOD~0.07 | <LOD~0.10 | <LOD~<LOQ | <LOD~<LOQ |
| 脂肪 | 0.14~0.27 | <LOQ~0.06 | <LOQ~0.07 | <LOQ~0.07 | <LOD~<LOQ | <LOD~<LOQ |

LOQ (定量限界) : 0.05 mg/kg

LOD (検出限界) : 筋肉 0.024 mg/kg、肝臓 0.010 mg/kg、腎臓 0.015 mg/kg、脂肪 0.021 mg/kg

③ 筋肉内投与試験

豚 (品種、性別及び年齢不明) にフルメキンを筋肉内投与し、残留試験が実施された。投与は、初回に 15 mg/kg 体重を投与し、その後 12 時間毎に 7.5 mg/kg 体重を 9 回投与

1 した。最終投与 12、24、48 及び 72 時間後の組織中フルメキン及び代謝物の 7-ヒドロ
 2 キシフルメキン濃度を表 14 に示した。[宮島専門委員修文]

3 7-ヒドロキシフルメキンは、最終投与 48 時間後にかなりの量 (1900.19 µmg/kg) が
 4 肝臓及び腎臓から検出されたが、筋肉 (0.024 µmg/kg 未満) 及び脂肪 (0.050 µmg/kg
 5 未満) では僅かに検出された程度であった。(参照 4、5) [資料 13: EMEA (1)-26] [資料 14: EMEA
 6 (2)-21] [宮島専門委員修文]

8 表 14 豚におけるフルメキン 5 日間経口投与*後の組織中フルメキン濃度 (µg/kg)

| 試料 | 最終投与後経過時間 (h) | | | |
|-------|---------------|-----|-----|-----|
| | 12 | 24 | 48 | 72 |
| 腎臓 | 1,879 | 460 | 370 | 155 |
| 肝臓 | 448 | 125 | 164 | 75 |
| 筋肉 | 194 | 65 | 80 | <50 |
| 皮膚/脂肪 | 190 | 56 | 70 | <50 |

9 * : 初回に 15 mg/kg 体重を投与、その後は 7.5 mg/kg 体重を 12 時間毎に投与

11 (5) 残留試験 (鶏、飲水投与)

12 鶏 (肉用種、性別不明、6 羽/時点) にフルメキンを 5 日間飲水投与 (12 mg/kg 体重/
 13 日) し、残留試験が実施された。最終投与 6、24、36、48、72 及び 96 時間後に腎臓、
 14 肝臓、筋肉及び脂肪中のフルメキン濃度を測定した。

15 各時点の組織中フルメキン濃度を表 15 に示した。

16 最終投与 96 時間後には肝臓及び腎臓からフルメキンは検出されなかった。(参照 10、
 17 13) [資料 17: FNP41/10 Tissue Residue Depletion Studies] [資料 8: TRS 879 Residue data]

18 7-ヒドロキシフルメキンは、最終投与 6 時間後に、筋肉で ~~0.17170~~ 0.17170 mg/kg、皮膚/脂
 19 肪で ~~0.100~~ 0.100 mg/kg、肝臓で ~~1.5100~~ 1.5100 mg/kg 及び腎臓で ~~1.5900~~ 1.5900 mg/kg であり、最終投与
 20 48 時間後には、筋肉では 10 µg/kg 未満、脂肪及び皮膚/脂肪では 50 µg/kg に、肝臓及び
 21 腎臓ではそれぞれ 185 及び 165 µg/kg に低下した。(参照 5) [宮島専門委員修文] [資料 14:
 22 EMEA(2)-23]

23 【宮島専門委員コメント】

表 15 の単位に揃えましたが、できれば、残留試験の中で単位が統一されていると良
 いと思います。

25 表 15 鶏におけるフルメキン 5 日間飲水投与後の組織中フルメキン濃度 (mg/kg)

| 試料 (n=6) | 最終投与後経過時間 (h) | | | | | |
|-------------|---------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| | 6 | 24 | 36 | 48 | 72 | 96 |
| 腎臓 | 1.84~3.55 | 1.60~2.91 | 0.12~0.33 | <LOD~0.16 | <LOD~<LOQ | <LOD |
| 肝臓 | 1.94~3.00 | 1.64~2.63 | 0.12~0.22 | <LOQ~0.19 | <LOD~<LOQ | <LOD |
| 筋肉 | 1.23~1.81 | 1.15~1.68 | 0.11~0.19 | 0.04~0.17 | 0.02~0.05 | <LOD~<LOQ |

| | | | | | | |
|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|------|-----------|
| 脂肪付き皮膚/脂肪 | 0.48~1.10 | 0.39~0.98 | <LOQ~0.12 | <LOQ~0.12 | <LOQ | <LOD~<LOQ |
|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|------|-----------|

1 LOQ (定量限界) : 肝臓、腎臓 0.1 mg/kg、皮膚/脂肪 0.05 mg/kg、筋肉 0.025 mg/kg

2 LOD (検出限界) : 筋肉 0.010 mg/kg、肝臓、腎臓 0.030 mg/kg、脂肪 0.015 mg/kg

3

4 (6) 残留試験 (七面鳥、飲水投与)

5 七面鳥 (品種、齢及び性別不明、6羽/時点) にフルメキンを5日間飲水投与 (18 mg/kg
6 体重/日) し、残留試験が実施された。最終投与 24、36、48、72 及び 96 時間後に、HPLC
7 によって各組織中のフルメキン及び7-ヒドロキシフルメキンを測定した。

8 組織中のフルメキン濃度は、最終投与 24 時間後に筋肉、脂肪付き皮膚/脂肪、肝臓及
9 び腎臓でそれぞれ 60、66、56 µg/kg 及び 100 µg/kg 未満であった。その後の時点では、
10 フルメキンは脂肪付き皮膚/脂肪でのみ検出され、最終投与 48、72 及び 96 時間後にそ
11 れぞれ 74、53 (n=5) 及び 56 µg/kg (n=4) であった。最終投与 36 時間後には、筋肉
12 (1例のみで検出 : 115 µg/kg)、肝臓及び腎臓からはフルメキンは定量されなかった。
13 腎臓では、最終投与 48 及び 72 時間後に 100 µg/kg 未満であったが、最終投与 96 時間
14 後には検出限界未満となった。筋肉では、フルメキンは最終投与 48、72 及び 96 時間後
15 に検出されなかった (13 µg/kg 未満)。肝臓では、フルメキンは最終投与 48 時間後に
16 50 µg/kg 未満であり、最終投与 72 及び 96 時間後には 6 µg/kg 未満であった。

17 7-ヒドロキシフルメキンは、各時点で脂肪付き皮膚/脂肪の2~3例のみから検出され、
18 その濃度は 25~74 µg/kg の範囲であった。他の可食組織においては検出されなかった
19 (筋肉、肝臓及び腎臓でそれぞれ 11、12 及び 11 µg/kg 未満)。(参照 6) 宮島専門委員

20 修文[資料 15: EMEA(3)-5]

21

22 (7) 残留試験 (にじます、混餌投与)

23 にじます (10尾/時点/群) にフルメキンを水温 7.4°C又は 16.4°Cでそれぞれ5日間混
24 餌投与 (12 mg/kg 体重/日、12時間毎に1日2回に分けて投与) し、残留試験が実施さ
25 れた。通常比率の皮膚付き筋肉/皮膚中のフルメキン及び7-ヒドロキシフルメキン濃度を
26 HPLCによって測定した。

27 各時点の皮膚付き筋肉/皮膚中濃度を表 16 に示した。

28 最終投与 14 日後には、両水温においてフルメキンは検出されなかった。(参照 10、
29 13) 宮島専門委員修文[資料 17: FNP41/10 Tissue Residue Depletion Studies] [資料 8: TRS 879
30 Residue data]

31

32 表 16 まずにおけるフルメキン5日間混餌投与後の皮膚付き筋肉/皮膚中のフルメキン濃
33 度 (mg/kg)

| 水温 (n=10) | 最終投与後経過日数 (日) | | | | | |
|--------------|---------------|-----------|-----------|-----------|------|------|
| | 1 | 2 | 4 | 7 | 14 | 21 |
| 7.4°C | 2.71~8.58 | 0.63~3.92 | 0.08~1.49 | 0.06~0.13 | <LOD | <LOD |
| 16.4°C | 0.58~3.65 | 0.08~0.68 | <LOQ~0.08 | <LOD | <LOD | NA |

1 LOQ (定量限界) : 0.05 mg/kg LOD (検出限界) : 0.018 mg/kg NA : 分析せず

2 3 (8) 残留試験 (乳汁、皮下投与)

4 ① 放射標識試験

5 牛 (品種及び齢不明、4頭) に ^{14}C 標識フルメキンを 3 日間皮下投与 (12 mg/kg 体重
6 /日) し、乳汁の残留試験が実施された。最終投与 48 時間後まで乳汁を採取し、乳汁中
7 の総放射活性、微生物学的抗菌活性を有する残留物及びフルメキンを同時に測定した。
8 総放射活性は液体シンチレーション法により、フルメキン濃度は HPLC によって測定し
9 した (定量限界 : 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$)。抗菌微生物学的活性を有する残留物の測定は、試験菌として
10 *M. organella morganii* を用いて、寒天拡散法 (採用した試験方法は不詳) によって実施
11 した (定量限界 : 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、検出限界 : 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$)。荒川専門委員修文

12 乳汁中の放射活性は、最終投与 3 時間後に 808 $\mu\text{g eq}/\text{kg}$ であり、その後減少して、最
13 最終投与 6、12、24、36 及び 48 時間後にはそれぞれ 433、202、71、36 及び 17 $\mu\text{g eq}/\text{kg}$
14 となった。

15 平均フルメキン濃度は、最終投与 3、6、12、24、36 及び 48 時間後でそれぞれ 205、
16 110、50、20 及び 8 $\mu\text{g}/\text{kg}$ であった。

17 抗菌微生物学的活性を有する残留物の濃度は、最終投与 3 及び 6 時間後にそれぞれ 288
18 及び 130 $\mu\text{g}/\text{kg}$ であり、その後非常に速やかに低下し最終投与 12 時間後以降は検出限
19 界 (50 $\mu\text{g}/\text{kg}$) 未満となった。抗菌微生物学的活性を有する残留物の総量に対するフル
20 メキンの比率は 0.85 であった。(参照 6) [資料 15: EMEA(3)-3] 荒川専門委員修文

21 22 ② 非放射標識試験

23 牛 (品種及び齢不明、高泌乳及び低泌乳、8頭) にフルメキンを 5 日間皮下投与 (12
24 mg/kg 体重/日) し、乳汁を最終投与 204 時間後まで採取して、残留試験が実施された。
25 乳汁中のフルメキン濃度は HPLC によって測定した (定量限界 : 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、検出限界 : 1
26 $\mu\text{g}/\text{kg}$)。

27 フルメキン濃度は、最終投与 12 時間後の 107 $\mu\text{g}/\text{kg}$ から低下し、最終投与 24、36 及
28 び 48 時間後にはそれぞれ 28、21 及び 11 $\mu\text{g}/\text{kg}$ となった。その後の採取時点において、
29 フルメキンは数例から検出された (6~16 $\mu\text{g}/\text{kg}$) のみであった。(参照 6) [資料 15:
30 EMEA(3)-4]

31 32 (9) 残留試験 (えび)

33 えび (ブラックタイガー、体重 20~30 g、9 尾/時点/群) にフルメキンを 5 日間混餌
34 投与 (12 mg/kg 体重/日) し、残留試験が実施された。筋肉中フルメキン濃度を投与開
35 始当日から 15 日間測定した。

36 経時的な筋肉中フルメキン濃度を表 17 に示した。

37 投与期間中のフルメキン濃度は低く (30~46 $\mu\text{g}/\text{kg}$)、最終投与 96 時間後までに検出
38 限界未満となった。(参照 11、12) [資料 19: FNP41/15][資料 10: TRS918 Residue data]

39
40 表 17 えびにおけるフルメキン 5 日間混餌投与後の平均筋肉中濃度 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)

| | 投与開始経過日数 (日) | | | | | | |
|-------|---------------|------|------|------|------|-----|-----|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | | |
| 筋肉中濃度 | 0 | 43.8 | 45.5 | 45.0 | 29.8 | | |
| | 最終投与後経過時間 (h) | | | | | | |
| | 24 | 48 | 72 | 96 | 120 | 144 | 168 |
| | 28.5 | 22.7 | 9.29 | <LOQ | <LOQ | 0 | 0 |

1 LOQ (定量限界) : 5 µg/kg n=9 水温 28~32°C

2

【宮本専門委員コメント】
 投与開始経過日数と同じ段に、最終投与後 24 時間後の数値が入っている。分かりにくいので下の段に入れては。
【事務局より】
 修正しました。

3

4 **3. 遺伝毒性試験**

5 フルメキンの遺伝毒性試験結果を表 18 及び 19 にまとめた。(参照 2、3、8、16、17)

6 [資料 2: FAS33-2.2.6] [資料 5: FAS51-2.2] [資料 6: FAS53-2.2] [資料 21: 文献①] [資料 23: 文献③]

7

8 表 18 *in vitro* 試験 山田専門委員修文

| 検査項目 | 試験対象 | 用量 | 結果 |
|--------------------|---|--------------------------|----|
| 復帰突然変異試験 (Ames 試験) | <i>Salmonella typhimurium</i> TA98、TA100、TA1515、TA1537、TA1538 | 0.01~1,000 µg/disk (±S9) | 陰性 |
| 遺伝子突然変異試験前進黨然変異試験 | マウスリンフォーマ細胞 (L5178Y 細胞、 <i>hprt</i> 遺伝子座) | 0~200 µg/mL (±S9) | 陰性 |
| 遺伝子突然変異試験 | チャイニーズハムスター 卵巣由来細胞 | 0~200 µg/mL (±S9) | 陰性 |

9

10 表 19 *in vivo* 試験 山田専門委員修文

| 検査項目 | 試験対象 | 用量 | 結果 |
|------------------------|------------------|---|----|
| 染色体異常試験 | ラット骨髓細胞 | 1,000 mg/kg 体重 経口投与 | 陰性 |
| コメットアッセイ ^{a)} | マウス (肝臓及び他の組織細胞) | 125、250、500 mg/kg 単回経口投与 3 及び 24 h | 陽性 |
| 不定期 DNA 合成試験 | ラット (肝臓細胞) | 156.25、312.5、625 mg/kg 体重 単回強制経口投与 下位専門委員修文 | 陰性 |

| | | | |
|------------------|-----------------------------|--|-----------|
| <u>染色体異常試験</u> | <u>ラット (骨髄)</u> | <u>1,000 mg/kg 体重</u> <u>経口投与</u> | <u>陰性</u> |
| <u>遺伝子突然変異試験</u> | <u>gpt delta マウス (肝臓細胞)</u> | <u>0.4%フルメキン含有飼料</u> <u>13 週間混餌投与</u> | <u>陰性</u> |

- 1 a) : マウス (ddY系、5又は8週齢) にフルメキンを単回経口投与 (0、125、250又は500 mg/kg 体重)
2 し、投与3又は24時間後の組織 (8週齢：胃、結腸、肝臓、腎臓、膀胱、肺、脳及び骨髄、5週齢：
3 肝臓) を採取し、コメットアッセイを実施した。また、肝臓の一部を切除したマウス (ddY系、8週齢)
4 に切除4日後にフルメキンを単回経口投与 (0、125、250又は500 mg/kg 体重) し、投与3時間後に
5 肝臓を採取し、コメットアッセイを実施した。
6 8週齢のマウスでは、投与3時間後の胃、結腸及び膀胱に用量依存的な DNA 損傷がみられたが、投与
7 24時間後の組織にはみられなかった。また、投与3時間後の5週齢のマウスの肝臓及び肝切除したマ
8 ウスの再生肝臓において、DNA 損傷がみられた。

【山田専門委員コメント】

これだけ注釈をつけているのはなぜでしょうか？

【下位専門委員コメント】

この注釈はなくてもよいかと思います。加筆するならば、同じ文献からの引用として結果に重要な意味があるトポイソメラーゼ II 阻害作用があったことを記しておく方がよいと思います。

- 9
10 フルメキンを用いた *in vitro* の遺伝子突然変異試験の結果は Ames 試験をはじめとして、
11 いずれも陰性であった。
12 一方、*in vivo* 試験のうち、DNA 傷害性を検出するコメットアッセイは肝臓で陽性の結
13 果であった。しかしながら、遺伝子突然変異試験 (マウス肝臓) が陰性であったことから、
14 DNA 損傷はその後修復され突然変異に至らないと推察される。
15 また、フルメキンはトポイソメラーゼ II を阻害することが報告されており、コメットア
16 ッセイにおいて見られた DNA 損傷は、本酵素阻害による二次的な作用と考えられた。
17 よって、食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、フルメキンには生体にとって特段
18 問題となる遺伝毒性はないものと判断した。 山田専門委員、下位専門委員修文
19

【事務局より】

in vivo のコメットアッセイで、フルメキンが肝臓において散発的に DNA 鎖切断を引き起こしたことから、フルメキンは遺伝毒性を有する可能性が示されています。しかしながら、*in vivo* のラット肝細胞におけるフルメキンの不定期 DNA 合成試験では陰性であり、フルメキンは肝臓の DNA に直接的に作用しないことが示されています。以上から、「食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、フルメキンは生体にとって特段問題となる遺伝毒性はないものと判断した。」としてもよろしいでしょうか。

【山田専門委員コメント】

修正案を大幅に削除した理由は二つあります。

一つは、まとめの文章は特別な理由がない限りは短くするのがよいだろうと考えていることです。

もう一つは、フルメキンは Ames が陰性で、トランスジェニックも陰性という結果なので、コメットが陽性だとしても、「問題となる遺伝毒性はない」と判断できると考えるからです。

UDS は修復の中でも DNA 合成を伴うものを検出しますので、TopoII 関与に関わらず、損傷の種類によっては、検出が難しいこともあると思います。

陰性結果の試験を列挙する意味で書きましたが、上述のように、コメット陽性の否定は Ames と TG の陰性結果で十分なので、UDS、さらに染色体異常試験の陰性結果も、まとめの文章から削除してもいいと思います。

【下位専門委員コメント】

UDS 試験のところで、先生がさらに修正して下さったもので OK です。

評価案は、先生が修正して下さったように短くする方向でと私も思いますので、すっきりしてよかったですと思います。

評価書案の後半の発がん試験結果と合わせまとめている部分ですが、この節の議論（コメット陽性でも問題ないと判断される根拠）をふまえとりまとめをどうぞよろしくお願いたします。

1
2
3
4
5
6

4. 急性毒性試験

各動物種におけるフルメキンの急性毒性試験の結果を表 20 に示した。(参照 8) [資料 2: FAS 33-2.2.1]

表 20 フルメキンの急性毒性試験結果

| 動物種 | 雌雄 | 投与経路 | LD ₅₀ (mg/kg 体重) |
|-----|----|---------|-----------------------------|
| マウス | 雌 | 経口 | 2,480 (2,000~3,075) |
| | 雌 | 経口 (絶食) | 1,630 (1,190~2,233) |
| | 雌 | 静脈内 | 97 (90~104) |
| | 雌 | 静脈内 | 90 (86~93) |
| | 雌 | 静脈内 | 822 (718~944) |
| ラット | 雄 | 経口 (絶食) | 2,210 (1,864~2,625) |
| | 雌 | 経口 (絶食) | 2,450 (1,992~3,014) |
| | 雌 | 経口 (絶食) | 1,340 (971~1,849) |
| | 雌 | 経口 (絶食) | 1,375 (1,170~1,620) |
| | 雌 | 経口 (絶食) | 1,753 (1,520~2,025) |
| ウサギ | 雄 | 経口 | >2,000 |
| イヌ | 雌雄 | 静脈内 | >120 |

7
8

上表のイヌを用いた急性毒性試験では、雌雄各 1 匹にフルメキンを 2%溶液として 2

1 日間投与（雄：100 mg/kg 体重/日、雌：120 mg/kg 体重/日）した。投与後、全例に重
2 篤な間代性強直性痙攣、衰弱、失禁及び一般状態の不良（defection）がみられたが、投
3 与開始 2 日後までに正常に回復し、残りの観察期間に毒性徴候はみられなかった。

4 5 5. 亜急性毒性試験

6 (1) 14 日間亜急性毒性試験（マウス）＜参考データ＞²

7 マウス (Swiss-Webster 系、雌 10 匹) にフルメキンを 14 日間強制経口投与 (500 mg/kg
8 体重/日、~~胃挿管により投与~~) し、亜急性毒性試験が実施された。特に脱毛の発現に注意
9 して観察された。その結果、脱毛、又は他の毒性徴候はみられなかった。(参照 8) [資料
10 2: FAS 33-2.2.2.1] 今井専門委員修文

11 12 (2) 13 週間亜急性毒性試験（マウス）＜マウスの肝毒性＞

13 マウス (CD-1 系、16 匹/群) にフルメキンを 13 週間混餌投与 (雄：0、25、50、100、
14 400 又は 800 mg/kg 体重/日相当、雌：0、100、400 又は 800 mg/kg 体重/日相当) し、
15 亜急性毒性試験が実施された。被験動物は、毎日一般状態の観察及び体重測定を実施し、
16 摂餌量測定及び飼料効率の換算を毎週実施した。血漿中酵素活性は投与開始 12 週後に
17 一度測定した。最終投与日に、HPLC により血漿中のフルメキン及び 7-ヒドロキシフル
18 メキンを測定した結果、フルメキンは吸収されたことが示された。最終投与後全被験動
19 物を剖検し、肝臓重量を測定し、肝臓及び他の肉眼的に異常がみられた組織試料は病理
20 組織学的検査に供した。試験終了時に肝ミクロソームを用いて、TP、チトクローム P450
21 (CYP) 含有量、レゾルフィン誘導体及びクマリン誘導体の CYP 依存性の脱アルキル
22 並びに 1-ナフトールのグルクロン酸化を測定することにより異物代謝酵素活性を調べ
23 た。アロクロールを投与した動物のミクロソームを陽性対照として用いた。 宮本専門委
24 員修文

25 死亡例はみられず、一般状態に投与に起因する影響はみられなかった。

26 800 mg/kg 体重/日投与群で投与開始 1 週に摂餌量の僅かな低下を伴う体重の増加抑制
27 がみられた。この影響は雄でより顕著であった。

28 血液生化学的検査では、400 mg/kg 体重/日以上投与群で ALT 及び ALP が、800 mg/kg
29 体重/日投与群で LDH 及び AST が有意に上昇していた。~~⇐これら血漿中酵素活性から高~~
30 用量投与群 (400 及び 800 mg/kg 体重/日投与群)における肝障害が示唆された。 宮本
31 専門委員修文

32 【吉田専門委員修文】

血液生化学的検査では、400 mg/kg 体重/日以上投与群で ALT 及び ALP が、800 mg/kg
体重/日投与群で LDH 及び AST が有意に上昇し、~~血漿中酵素活性から 800 mg/kg 体重/日
投与群における肝障害が示唆された。~~

33
34 肝臓重量は、400 及び 800 mg/kg 体重/日投与群で増加した。

² 試験の詳細が報告されていないことから参考データとした。

1 肝臓の病理組織学的検査では、用量依存的な肝細胞の変性がみられた。この変化は、
2 小葉中心性肥大及び脂肪空胞化 (50 mg/kg 体重/日以上投与群の雄及び 400 mg/kg 体重
3 /日以上投与群の雌)、倍数性の増加、核内封入体及び小葉中心性単細胞壊死 (400 mg/kg
4 体重/日以上投与群) を伴っていた。これらの影響は雄でより顕著であった。有糸分裂像
5 活性の増加が 800 mg/kg 体重/日投与群の雄で観察された。フルメキンは、800 mg/kg
6 体重/日までの用量の投与において、肝臓の CYP 依存性の薬剤代謝酵素又はグルクロニ
7 ルトランスフェラーゼ活性にほとんど又は全く影響を及ぼさなかった。[今井専門委員・

8 吉田専門委員修文

9 これらのことから、(1)フルメキンは、肝臓の CYP 依存性の異物代謝酵素系又はグル
10 クロン酸化に目立った誘導及び阻害の効果はない、(2)肝臓はマウスにおけるフルメキン
11 の標的器官で特に雄で顕著である、と結論付けられた。50 及び 100 mg/kg 体重/日投与
12 群の雄にみられた僅かな変性変化を伴う肝細胞の軽度の肥大性変化は、過重な代謝とい
13 うより肝毒性病変の徴候であり、変性、壊死と再生を繰返したものとみなされた。した
14 がって、本試験において、雄における肝毒性病変に基づき、NOEL は 25 mg/kg 体重/
15 日と考えられた。(参照 4、5、13、18) [資料 3: FAS 39-2.1.1.2] [資料 8: TRS 879 Toxicological data] [資
16 料 13: EMEA (1)-4] [資料 14: EMEA(2)-4] 今井専門委員修文

17 食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、50 mg/kg 体重/日投与群の雄のマウスで
18 肝細胞の変性が認められたことから、本試験における NOAEL を 25 mg/kg 体重/日と設
19 定した。

21 (3) 14 日間亜急性毒性試験 (ラット) <参考データ>³

22 ① ラット (Swiss-Webster 系、雌雄各 5 匹/群) にフルメキンを 14 日間強制経口投与 (0、
23 125、250 又は 500 mg/kg 体重/日、~~胃挿管により投与~~) し、亜急性毒性試験が実施され
24 た。 今井専門委員修文

25 試験期間中、死亡例はみられなかった。500 mg/kg 体重/日投与群の雌雄に、投与開始
26 3～5 日後に顕著な脱毛が観察され、試験期間中持続した。(参照 8) [資料 2: FAS 33-2.2.2.2]

28 ② 2 系統のラット (SD 及び CFN 系、雌雄各 5 匹/群) にフルメキンを 14 日間強制経口
29 投与 (それぞれ 0 又は 800 mg/kg 体重/日、~~胃挿管により投与~~) し、亜急性毒性試験が
30 実施された。 今井専門委員修文

31 投与群では、臨床徴候として、腹部膨満、チアノーゼ、脱水、体重増加抑制及び減少
32 が観察された。剖検では、SD ラットの投与群の雄 1 例の左側脇腹で脱毛が観察された。
33 CFN ラットの投与群の雌雄各 1 例が試験期間中に死亡した。投与 12 日に死亡した雄で
34 は、尿で腹部が汚染され、赤色の腸内容物及び髄膜出血がみられた。投与 14 日に死亡
35 した雌に肉眼病変はみられなかった。14 日間生存した CFN ラットの投与群における剖
36 検所見では、雄 1 例に悪液質及び嵌頓包茎が、雌 1 例では尿による腹部汚染がみられた。

37 (参照 8、9) [資料 2: FAS 33-2.2.2.2] [資料 7: TRS 851 Toxicological data]

38

³ 試験の詳細が報告されていないことから参考データとした。

1 (4) 90 日間亜急性毒性試験 (ラット)

2 ラット (SD 系、雌雄各 10 匹/群) にフルメキンを 90 日間強制経口投与 (0、200、400
3 又は 800 mg/kg 体重/日、~~胃挿管による投与~~) し、亜急性毒性試験が実施された。毒性
4 徴候は毎日観察し、体重は毎週測定した。今井専門委員修文

5 死亡例はみられなかった。

6 一般状態では、投与群の全例で脱毛がみられ、雌の方が雄よりも重篤であった。800
7 mg/kg 体重/日投与群の大部分及び 200 mg/kg 体重/日投与群の雌数例で散発的な尿失禁
8 が発現した。400 mg/kg 体重/日以上投与群の全例で流涎が顕著であったが、200 mg/kg
9 体重/日投与群及び対照群ではみられなかった。立毛は対照群及び 400 mg/kg 体重/日
10 以上の投与群で散見された。

11 体重は、400 mg/kg 体重/日以上投与群の雌雄で有意な増加抑制がみられた。

12 血液学的検査及び血液生化学的検査では、投与に起因する影響はみられなかった。し
13 かし、投与群の全例で、用量依存的な尿のアセトン (ケトン) 反応陽性がみられたが、
14 フルメキン代謝物による干渉によるものと考えられた。 今井専門委員修文

15 臓器重量では、投与群の全例で用量相関的な相対肝重量の増加がみられた。800 mg/kg
16 体重/日投与群で、雌雄の相対腎重量及び雄の絶対腎重量が増加した。400 mg/kg 体重/
17 日以上投与群の雌雄では、副腎の相対重量が有意に増加した。800 mg/kg 体重/日投与群
18 では、心臓、脳、脾臓及び精巣の相対重量も有意に増加したが、これらの臓器の病理組
19 織学的検査の情報は得られなかった。

20 **【吉田専門委員コメント】**

相対重量の増加は体重増加抑制の影響と考えられます。

21 剖検では、唯一観察された異常が脱毛であった。

22 **【吉田専門委員コメント】**

群は確認できますでしょうか。

23 **【事務局より】**

引用した海外評価書からは確認できませんでした。

24 肝臓の病理組織学的検査では、800 mg/kg 体重/日投与群で、肝細胞の腫脹及び拡大 (30
25 ~90%) が観察された。~~同様の肝細胞の変性変化は 200 及び 400 mg/kg 体重/日投与群~~
26 ~~では観察されなかった。~~ (参照 4、5、8、9) [資料 2: FAS 33-2.2.2.2][資料 13: EMEA (1)-4] [資料
27 14: EMEA(2)-4] [資料 7: TRS 851 Toxicological data] 今井専門委員修文

28 **【吉田専門委員コメント】**

腫脹及び拡大を、肥大にまとめてもよいかもしれません。

29 **【今井専門委員コメント】**

「腫脹及び拡大」を「腫大」に修正する。

1
2 投与群の全例で用量相関的な肝臓の相対重量の増加がみられたことから、本試験にお
3 ける NOEL は設定できなかった。

4 食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、投与群の全例で肝臓の相対重量が増加し
5 ていることから、本試験における LOAEL を 200 mg/kg 体重/日と設定した。
6

【事務局より】

肝臓の重量について、絶対重量の記載はなく、相対重量の増加のみをもって毒性と捉えて LOAEL を設定しています。

【吉田専門委員コメント】

脱毛、尿失禁、ケトン尿も全群で観察されています。

7
8 (5) 14 日間亜急性毒性試験 (モルモット) <参考データ>⁴

9 モルモット (Hartley 種、雌 5 匹/群) にフルメキンを 14 日間強制経口投与 (0、300
10 又は 500 mg/kg 体重/日) し、亜急性毒性試験が実施された。試験開始時及び終了時に
11 被毛を採取し、被毛の成長パターンの違いについて調べた。

12 500 mg/kg 体重/日投与群で、投与 4 日に 2 例が、投与 6 日に 3 例が死亡した。300 mg/kg
13 体重/日投与群では、投与 12 日及び最終投与後に各 1 例が死亡した。試験期間中、どの
14 時点においても脱毛はみられなかった。顕微鏡検査において、試験終了時の被毛とは
15 顕微鏡検査において試験開始時に採取したの被毛にと変化はみられなかった。剖検の情
16 報は得られなかった。(参照 8、9) [資料 2: FAS 33-2.2.2.3] [資料 7: TRS 851 Toxicological data]

17 今井専門委員修文
18

【吉田専門委員コメント】

原文でも microscopically となっていますが、肉眼でみた被毛の様子が試験開始時とか
わらなかったという意味でしょうか。

【事務局より】

参照資料を確認しましたが、詳細は不明でした。

19
20
21 (6) 21 日間亜急性毒性試験 (イヌ) <参考データ>⁵

22 イヌ (雑種、雌雄各 1 匹、体重: 雄 8.3 kg、雌 5.0 kg) にフルメキンを 21 日間経口
23 投与 (300 mg/kg 体重/日、1 日 2 回に分けてゼラチンカプセルで投与) し、亜急性毒性
24 試験が実施された。

⁴ 試験の詳細が報告されていないことから参考データとした。

⁵ 試験の詳細が報告されていないことから参考データとした。

1 投与3時間以内に、嘔吐、抑鬱状態、運動失調及び軽度の過活動等の際立った徴候が
2 みられた。これらの徴候は、投与10日から14日の間で最も重篤となり、その後は軽減
3 した。投与開始1週間には両被験動物共に食欲が減退し、その結果、試験期間中に雄は
4 0.6 kg、雌は0.8 kg 体重が減少した。剖検では、両被験動物共に投与の影響はみられな
5 かった。(参照8、9) [資料2: FAS 33-2.2.2.4] [資料7: TRS 851 Toxicological data]

6 7 (7) 90日間亜急性毒性試験(イヌ)

8 イヌ(ビーグル種、若齢成犬(young adult)、雌雄各2匹/群)にフルメキンを90日間
9 経口投与(0、50、100又は200 mg/kg 体重/日、1日2回に分けてゼラチンカプセル又
10 は錠剤で投与)し、亜急性毒性試験が実施された。各被験動物の毒性徴候は、投与直後
11 から定期的に1日を通して観察し、体重は毎週測定した。

12 どの投与群においても、死亡例も一貫した毒性徴候もみられなかった。

13 一般状態では、皮膚の紅潮紅が投与群にみられたのみであった。この徴候は、非常に
14 まれに非特異的なパターンで発現した。[荒川専門委員修文]

15 試験期間中の体重の変動は僅かであり、有意又は投与に関連した変化とはみなされな
16 かった。

17 血液学的検査及び尿検査のパラメータに、フルメキンの投与による影響はみられな
18 かった。

19 血液生化学的検査では、LDHの上昇が投与14日に50、100及び200 mg/kg 体重/日
20 投与群でそれぞれ1、1及び3例にみられたが、投与42及び90日において、LDHは正
21 常であった。

22 試験終了時の剖検及び病理組織学的検査では、心臓、肝臓、腎臓及び骨格筋に投与の
23 影響はみられなかった。(参照8) [資料2: FAS 33-2.2.2.4]

24 食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、全投与群において血中LDHの上昇がみ
25 られたが、投与期間中に正常に回復し、その他に毒性兆候はみられなかったことから、
26 本試験におけるNOAELを最高用量である200 mg/kg 体重/日と設定した。

27 28 (8) 13週間亜急性毒性試験(イヌ、若齢) <関節への影響> [今井専門委員修文]

29 イヌ(ビーグル種、3か月齢、雌雄各10匹/群)にフルメキンを13週間強制経口投与
30 (0、15、30、60又は150 mg/kg 体重/日、錠剤で投与)し、亜急性毒性試験が実施さ
31 れた。定期的に血漿中のフルメキン及び7-ヒドロキシフルメキンをHPLCにより測定
32 し、フルメキンの吸収について調べた。一般状態の観察は毎日実施し、跛行及び運動性
33 に特に注意を払った。体重は毎週測定した。試験期間中に血清中ALPを3回測定した。
34 投与開始3週後に各群4匹を、残りは13週後に剖検し、前後肢の体重を支える関節の
35 表面の異常及び変化を検査した。肩及び股関節は病理組織学的検査に供した。

36 死亡例はみられなかった。

37 一般状態では、用量相関的に頻度を増す嘔吐及び摂餌量の減少を含む幾つかの有害反
38 応の徴候のみが観察された。失調性歩行及び運動性の低下といった関節障害の臨床徴候
39 はみられなかった。

40 150 mg/kg 体重/日投与群の雌で顕著な体重の増加抑制がみられた。

1 血液生化学的検査では、血清中 ALP に変化はなかった。

2 150 mg/kg 体重/日投与群では、投与 3 週間後には雌雄各 2 頭に滑膜の限局性過形成
3 (synovial focal hyperplasia)及び関節の病変(このうち 2 頭には、軟骨の空洞(cavitation
4 in the cartilage))がみられた。投与 13 週間後には、雌 1 頭に肉眼所見の関節病変(肩部
5 の関節にびらん(erosion))、雌 2 頭に組織学的所見の関節病変(軟骨の軽度のびらん
6 (slight erosion of the cartilage))及び雄 1 頭に滑膜の過形成がみられた。中山専門委員
7 修文

8 60 mg/kg 体重/日投与群では、投与 3 週間後には、組織学的所見として雄 1 頭の股関節
9 の軟骨にびらんがみられた。30 mg/kg 体重/日投与群では、投与 3 週及び 13 週間後におい
10 ても肉眼的及び組織学的所見は何らみられなかった。15 mg/kg 体重/日投与群では、投
11 与 13 週後の雌 1 頭の股関節に肉眼所見としてびらんがみられたが、この病変には組織
12 学的変化はみられなかった。

13 15 mg/kg 体重/日投与群の雌 1 頭の股関節でみられた肉眼所見のびらんは、毒性学的
14 に意味があるものと考えなかったことから、幼若イヌにおける関節障害の誘発に関する
15 NOEL は 30 mg/kg 体重/日と考えられた。(参照 5、13、18) [資料 3: FAS 39-2.1.1.1][資料
16 8: TRS 879 Toxicological data][資料 14: EMEA(2)-4]

17 食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、15 mg/kg 体重/日投与群の雌 1 頭の股関
18 節でみられた肉眼所見のびらんは偶発的なものであり、60 mg/kg 体重/日投与群の雄 1
19 頭に股関節の軟骨のびらんがみられていることからとから、本試験における NOAEL を
20 30 mg/kg 体重/日と設定した。

21 22 (9) 15.5 週間亜急性毒性試験 (サル) <参考データ>⁶

23 サル (アカゲザル、雌 3 匹) にフルメキンをゼラチンカプセルによる 1 日 2 回の経口
24 投与による 15.5 週間漸増投与 (100 mg/kg 体重/日を 1 週間、200 mg/kg 体重/日を 3 週
25 間、300 mg/kg 体重/日を 8 週間、400 mg/kg 体重/日を 1 週間、500 mg/kg 体重/日を 1
26 週間、600 mg/kg 体重/日を 1.5 週間) し、亜急性毒性試験が実施された。

27 1 例が投与 2 日目に偶発的に死亡した。

28 試験期間中に嘔吐、完全な拒食及び一過性の脱毛といった臨床徴候がみられた。

29 剖検及び病理組織学的検査 (皮膚) では、どの被験動物にも変化は観察されなかった。

30 (参照 8) [資料 2: FAS 33-2.2.2.6]

31 32 6. 慢性毒性及び発がん性試験

33 (1) 1 年間慢性毒性試験 (イヌ)

34 イヌ (ビーグル種、雌雄各 4 匹/群) にフルメキンを 1 年間経口投与 (0、50、100 又
35 は 200 mg/kg 体重/日、1 日 2 回に分けて投与) し、慢性毒性試験が実施された。200 mg/kg
36 体重/日投与群で嘔吐が生じたため、投与開始 5 日間は 100 mg/kg 体重/日のみの投与で、
37 その後は予定通り 200 mg/kg 体重/日を 2 回 (100 mg/kg 体重/回) に分けて投与した。

38 1 年間の投与期間において死亡例はなかった。

⁶ 試験の詳細が報告されていないことから参考データとした。

1 一般状態では、投与群で用量相関的な痙攣の発現が観察された。痙攣は比較的重篤で
2 あったが、その発現時間は短時間（15～30 秒）であり、大部分の場合、続いて運動失調
3 及び振戦が発現した。投与約 10 分以内に正常な行動に回復した。他の投与に起因する
4 臨床徴候として、運動失調、低運動性、振戦、嘔吐（特に試験初期）、摂餌量の低下及
5 び体重減少がみられた。投与に起因した過剰な流涎及び軽度の歯肉炎は試験期間の後半
6 6 か月間に 200 mg/kg 体重/日投与群の 5 例及び 100 mg/kg 体重/日投与群の 1 例で観察
7 された。投与に関連した影響として、1 例で運動失調、ゆっくりとしたナックリング反
8 応（~~slow-knuckling response~~）及び過剰な膝蓋及びつま先の反射が顕著にみられた。

9 試験期間中、全投与群で摂餌量の減少が顕著であり、その結果試験開始後 3 週間は体
10 重が減少した。しかし、体重減少に完全な用量相関性はみられなかった。

11 血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、臓器重量、剖検及び病理組織学的検査に
12 おいて、投与に起因する影響はみられなかった。

13 用量相関的な痙攣がみられたことから、本試験における NOEL は、50 mg/kg 体重/
14 日と考えられた。（参照 4、5、8、9）[資料 2: FAS 33-2.2.2.5] [資料 7: TRS 851 Toxicological data]
15 [資料 13: EMEA (1)-5] [資料 14: EMEA(2)-5]

16 食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、用量相関的な痙攣の詳細が不明であるこ
17 とから、本試験における NOAEL は設定できしなかった。

【事務局より】

本試験の NOAEL については、TRS 851 及び EMEA(1)及び(2)では本試験の NOEL
を 50 mg/kg 体重/日と記載しています。しかし、本専門調査会の結論としては、「用量
相関的な痙攣の詳細が不明であることから、本試験における NOAEL を設定しなかつ
た」としております。

【今井専門委員コメント】

事務局案に賛成です。

19 (2) 18 か月間発がん性試験（マウス）①

20 マウス（~~CD-1~~/ICR 系、雌雄各 93 匹/群）にフルメキンを 18 か月間混餌投与（0、400
21 又は 800 mg/kg 体重/日）し、発がん性試験が実施された。臨床的な毒性徴候は毎日観
22 察した。摂餌量及び体重は定期的に測定した。試験終了時には被験動物を剖検に供し、
23 全被験動物の組織及び肉眼的病変部の病理組織学的検査が実施された。 今井専門委員修
24 文

25 毒性徴候として、投与 6 週から試験終了時まで、800 mg/kg 体重/日投与群で僅かな体
26 重増加抑制がみられた。

27 生存率、摂餌量及び一般状態に投与の影響はみられなかった。

28 血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査又は臓器重量に関する情報は得られなかつ
29 た。

30 剖検で肉眼的にみられた肝腫瘍がみられた動物数の発生率を表 21 に示した。肝腫瘍
31 の発生率は用量相関的であり、雄の方が雌より高頻度であった。
32

表 21 マウスを用いたフルメキンの 18 か月間発がん性試験においてける肝臓の腫瘍発生率及び毒性変化がみられた動物数

| 群 | 対照 | | 400 mg/kg 体重/日 | | 800 mg/kg 体重/日 | |
|--------------------|-------|----|----------------------|----|-----------------------|----------------------|
| | 雄 | 雌 | 雄 | 雌 | 雄 | 雌 |
| 動物数 ^a | 70 | 64 | 75 | 69 | 78 | 69 |
| 全腫瘍数 | 6 (9) | 0 | 28 ^b (37) | 0 | 69 ^b (88) | 9 ^b (13) |
| 良性のみ ^c | 6 (9) | 0 | 25 ^b (33) | 0 | 36 ^b (46) | 7 ^b (10) |
| 良性+悪性 ^d | 0 | 0 | 0 | 0 | 30 ^b (38) | 0 |
| 悪性のみ ^e | 0 | 0 | 3 (4) | 0 | 3 (4) | 2 (3) |
| 肝毒性変化 | | 0 | 32 ^b (43) | 1 | 78 ^b (100) | 39 ^b (57) |

a : 剖検及び病理組織学的検査を実施した動物数 () 内は%

b : 対照群との有意差あり (p<0.05)

c : 肝腫瘍及び又は異型を伴う肝腫非定型肝癌

d : 同一動物に発生した肝腫定型又は異型を伴う肝腫非定型肝癌及び肝細胞癌

e : 肝細胞癌

【吉田専門委員コメント】

原文の hepatoma、hepatoma with atypica は、ここでは肝細胞腺腫、異型を伴う肝細胞腺腫のような意味なので、補足説明が必要かと思えます。

【今井専門委員コメント】

hepatoma については通常、肝細胞がんと訳すべきかと思われませんが、ここでは良性腫瘍を指しているようです。肝細胞（腺）腫とするのも誤訳になる可能性がありますので、一つの提案として下記のように修正させて頂きました。

「肝癌」→「良性肝細胞腫瘍」、「非定型肝癌」→「異型を伴う肝細胞腫瘍」

肝臓の腫瘍は、組織学的に肝腫(hepatoma)癌、異型を伴う肝腫(hepatoma with atypica)非定型肝癌及び肝細胞癌(hepatocellular carcinoma)に分類された。前二者本試験において、肝癌及び非定型肝癌は良性、後者肝細胞癌は悪性と分類された。肝腫瘍の発生率の用量相関性は明らかであり、雄において良性及び悪性腫瘍の発生率は高く、肉眼的所見は病理組織学的検査で確認された。また、用量相関的な肝細胞の毒性変化が 400 mg/kg 体重/日投与群の雄及び 800 mg/kg 体重/日投与群の雌雄で発現した。肝細胞の毒性変化として、細胞質の変性変化、空胞化、脂肪浸潤並びにリンパ球及び好中球の浸潤存在がみられた。肝毒性の発現と並行して肝腫瘍の発現がみられた。中山専門委員修文

400 及び 800 mg/kg 体重/日投与群の雄において全腫瘍及び良性腫瘍は対照群と比較して有意に (p<0.05) 増加した。800 mg/kg 体重/日投与群の雄における良性及び悪性の両腫瘍を発現した動物数も、対照群と比較して有意に増加していた。雌では、800 mg/kg 体重/日投与群の全腫瘍発生動物数及び良性腫瘍のみの発生数が有意に増加していた。

1 他の組織変化は毒性学的意義のない、投与に起因するものではないと考えられた。

2 本試験において、NOAELは設定できないと考えられた。(参照 4、5、8、9) [資料 2: FAS
3 33-2.2.3.1] [資料 7: TRS 851 Toxicological data] [資料 13: EMEA (1)-10] [資料 14: EMEA(2)-8]

4 食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、全投与群の雄に全腫瘍及び良性腫瘍の発
5 生率の増加がみられたことから、本試験において NOAEL は設定できないと判断した。

6
7 (3) 18 か月間発がん性試験 (マウス) ②<マウスにおけるフルメキンの投与期間の長さ
8 と肝臓の毒性変化及び腫瘍性変化の関連性>

9 フルメキンの 18 か月間混餌投与試験が実施され、上記①の試験で観察された投与期
10 間の長さや肝臓の毒性変化及び腫瘍性変化との関連性について調べられた。5 群のマウ
11 ス (CD-1/ICR 系、雄) を用いて、混餌投与試験が実施された。[今井専門委員修文]
12 各群の投与方法を表 22 に示した。

13
14 表 22 雄マウスにおけるフルメキン 18 か月間混餌投与試験の投与方法

| 群 | 動物数 (匹) | 投与方法 |
|----|---------|---|
| A | 60 | 対照群：フルメキン無投与 |
| B | 100 | 800 mg/kg 体重/日を 18 か月間投与 投与開始 3、6、9 及び 12 か月後に 10 匹ずつ中間剖検 |
| C | 80 | 800 mg/kg 体重/日を最初の 6 週間投与、次の 6 週間休薬、さら に次の 6 週間投与し、残りの期間は休薬 投与開始 12、18 及び 24 週後に 10 匹ずつ中間剖検 |
| D | 60 | 800 mg/kg 体重/日を最初の 6 週間のみ投与、その後休薬 投与開始 6 週後に 10 匹を中間剖検 |
| E* | 50 | 800 mg/kg 体重/日のフルメキン製剤 (DMF の含有量：0.001% 未満) を 18 か月間投与 投与開始 6 週後に 5 匹、12 か月後に 10 匹を中間剖検 |

15 *: 上記①の試験で投与されたフルメキン製剤のロットに含まれていた 0.3%DMF が発がん性に影響した
16 かどうか調べるために設定された。

17
18 臨床徴候は、週末及び休日 (生死のチェックのみ) を除いて毎日観察された。試験の
19 最後 3 日間は観察の代わりに生死のチェックが行われた。試験開始 18 週までは体重及
20 び摂餌量を毎週測定し、その後、毎月実施された。肝腫瘍及び肝臓の毒性変化は上記①
21 の試験と同様に組織学的に分類された。

22 B 及び E 群では、A 群 (対照群) と比較して投与 18~78 週において平均体重が低く、
23 死亡率が高かった。E 群では投与 18 週から試験終了時まで摂餌量が 15%多かった。腹
24 部膨満は投与群において対照群より、より一般的にみられた。血液学的検査、血液生化
25 学的検査、尿検査及び臓器重量についての情報は得られなかった。

26 B 群の中間剖検結果 (表 23) から、フルメキン投与後の肝腫瘍の進行が時間依存性で
27 あることが判明した。投与開始 3 か月後において、肝腫瘍を発現した被験動物はなかつ

1 たが、10 例全てに肝臓における毒性変化がみられた。投与開始 6、9 及び 12 か月後に
 2 おける肝腫瘍を有する動物数は、それぞれ 1、3 及び 9 例（2 例は悪性）であった。E 群
 3 では、投与開始 6 週間後の中間剖検で 5 例全ての肝臓に毒性変化がみられた。投与開始 12
 4 か月後には 6 例に肝腫瘍がみられた。

5
 6 表 23 B 群（800 mg/kg 体重/日を 18 か月間投与）における肝腫瘍の発現匹数中間剖
 7 検結果

| | 投与開始後経過月数（月） | | | |
|----------|--------------|---|---|----|
| | 3 | 6 | 9 | 12 |
| 肝腫瘍発現動物数 | 0 | 1 | 3 | 9 |

8 n=10

9
 10 試験終了時に剖検した全被験動物の肝腫瘍の発現及び肝臓の毒性変化がみられた動
 11 物数の発現数を表 24 に示した。B 及び E 群において、~~良性腫瘍並びに~~良性及び悪性腫
 12 瘍の発生率について、対照群と比較して統計学的に有意に増加していた。B 群の 2 例に
 13 肝細胞癌由来の転移性肺病変がみられた。B 及び E 群の被験動物の多く（それぞれ 81
 14 及び 97%）に肝臓の毒性変化がみられた。中山専門委員修文

15
 16 表 24 雄マウスを用いたフルメキン 18 か月間投与特殊試験における肝腫瘍及び肝臓
 17 の毒性変化がみられた動物数の発生率

| | 群 | | | | |
|--------------------|------------|---|--|---|--|
| | A (対照群) | B (800 mg/kg 体 重/日を 18 か月 間投与) | C (800 mg/kg 体 重/日を 6 週間 投与+休薬6週 間+800 mg/kg 体重/日を 6 週 間+残余期間 休薬) | D (800 mg/kg 体重/日 6 週間 投与+残余期 間 休薬) | E (800 mg/kg 体 重/日のフルメ キン製剤を 18 か月間投与) |
| 動物数 ^a | 60 | 58 | 49 | 48 | 35 |
| 全腫瘍数 | 7 (12) | 39 ^b (67) | 11 (22) | 10 (21) | 29 ^b (83) |
| 良性のみ ^c | 5 (8) | 26 ^b (45) | 8 (16) | 7 (15) | 15 ^b (43) |
| 良性+悪性 ^d | 1 (2) | 12 ^b (21) | 2 (4) | 1 (2) | 11 ^b (31) |
| 悪性のみ ^e | 1 (2) | 1 (2) | 1 (2) | 2 (4) | 3 (9) |
| 肝毒性変化 | 0 | 47 ^b (81) | 0 | 0 | 34 ^b (97) |

18 a：剖検及び病理組織学的検査を実施した動物数 () 内は%

19 b：対照群との有意差あり (p<0.05)

20 c：肝腫瘍及び/又は異型を伴う肝腫非定型肝癌

21 d：同一動物に発生した肝腫定型又は異型を伴う非定型肝癌及び肝細胞癌

1 e: 肝細胞癌

2
3 肝臓の毒性変化は可逆性であり、表 24 の C 及び D 群では、試験終了時には明らかな
4 毒性変化はみられず、中間剖検に供した動物にも肝腫瘍はみられなかった。C 及び D 群
5 では、全腫瘍の発生率は対照群の約 2 倍であったが、統計学的に有意な増加ではなかつ
6 た。

7 E 群の結果から、フルメキンへの混入物質としての DMF の存在によって、フルメキ
8 ンの経口投与によって生じる肝臓の毒性変化及び腫瘍性変化の進行に影響を及ぼさな
9 いことが示された。(参照 4、5、8、9) [資料 2: FAS 33-2.2.3.1] [資料 7: TRS 851 Toxicological data]
10 [資料 13: EMEA (1)-10] [資料 14: EMEA(2)-8]

11 (4) 二段階肝発がん性試験 (マウス)

12 マウス (C3H 系、7 週齢、雄 5 又は 8 匹/群) にフルメキンを混餌投与 (4,000 ppm)
13 し、2 週間のイニシエーション相と 13 週間のプロモーション相の 2 段階肝発がん性試験
14 が実施された。投与開始 2 及び 5 週の 2 回、D-ガラクトサミン (Gal) を腹腔内投与 (300
15 mg/kg 体重) した。また、フェノバルビタール (PB) が 13 週間飲水投与又は非投与さ
16 れた。
17

18 投与方法を表 25 に示した。

19 表 25 2 段階肝発がん性試験における投与方法

| 群 | 投与方法 |
|---|--|
| 1 | 試験期間を通じてフルメキンを含有しない基本飼料 (BD) |
| 2 | 試験期間を通じて BD 投与開始 2 及び 5 週に D-ガラクトサミン (Gal) を腹腔内投与 |
| 3 | 試験期間を通じて BD 投与開始 2 及び 5 週に Gal を腹腔内投与 フェノバルビタール (PB) を 13 週間飲水投与 (500 ppm) |
| 4 | フルメキン含有飼料 (FL、4,000 ppm) 2 週間+BD13 週間 投与開始 2 及び 5 週に Gal を腹腔内投与 |
| 5 | FL2 週間+BD13 週間 投与開始 2 及び 5 週に Gal を腹腔内投与 PB を 13 週間飲水投与 |
| 6 | 試験期間を通じて FL 投与開始 2 及び 5 週に Gal を腹腔内投与 |

21
22 試験期間中、フルメキン投与群 (4~6 群) で対照群に比較して有意な体重の低値がみ
23 られたが、基本飼料に切り替えると回復した (4 及び 5 群)。肝臓の絶対重量の有意な増
24 加が 3、5 及び 6 群でみられ、フルメキンとフェノバルビタールの長期投与の影響と考
25 えられた。肝臓の相対重量は全投与群 (2~6 群) で高値を示した。病理組織学的検査で

1 は、肝細胞増殖巣は、FL/PB+Gal 及び FL/FL+Gal 群（5 及び 6 群）でそれぞれ 8 匹
 2 例中 2 匹例及び 7 匹例中 6 匹例に観察された。各群にみられた肝細胞病変を表 26 に示
 3 した。

4
 5 表 26 マウスにおける 2 段階発がん性試験でみられた肝細胞病変がみられた動物数
 6 中山専門委員修文

| 群 | 動物数 | 肝細胞病変 | | |
|---------------|-----|-----------|------------|--------|
| | | 小葉中心性脂肪変性 | 小葉中心性肝細胞肥大 | 肝細胞増殖巣 |
| 1 (BD/BD) | 4 | 0 | 0 | 0 |
| 2 (BD/BD+Gal) | 8 | 0 | 0 | 0 |
| 3 (BD/PB+Gal) | 8 | 0 | 8 | 0 |
| 4 (FL/BD+Gal) | 8 | 0 | 0 | 0 |
| 5 (FL/PB+Gal) | 8 | 0 | 8 | 2 |
| 6 (FL/FL+Gal) | 7 | 7 | 0 | 6 |

7 BD：基本飼料 Gal：D-ガラクトサミン PB：フェノバルビタール FL：フルメキン

8
 9 本試験の結果で 5 及び 6 群で肝細胞増殖巣がみられた動物数がそれぞれ 8 匹中 2 匹、
 10 7 匹中 6 匹にみられたこと、及び遺伝毒性試験の *in vivo* のコメントアッセイにおいて
 11 DNA 損傷を示す結果であったこと（表 19）から、フルメキンは腫瘍イニシエーターの
 12 可能性が示唆された。（参照 2、16）[資料 5: FAS 51-2.2] [資料 21: 文献①]

13 **【事務局より】**

JECFA では、本試験の結果からフルメキンは腫瘍イニシエーターである可能性に言
 及しています。本試験に関する本専門調査会のご判断について、ご検討をお願いいたし
 ます。

14
 15 **(5) 26 週間発がん性試験（マウス）＜参考データ＞⁷**

16 ヘテロ接合 *p53* 欠損マウス⁸にフルメキンを 26 週間混餌投与(4,000 ppm)した結果、
 17 好塩基性肝細胞巢の肝臓病変は発現したが、その時点で壊死はみられなかった。試験に
 18 用いた用量で細胞死はみられなかった（壊死は発現しなかった）。（参照 2）吉田専門委
 19 員修文[資料 5: FAS 51-2.2]

20
 21 **(6) 30 週間二段階発がん性試験（マウス）＜参考データ＞⁹**

22 マウス (CD-1 系) においてフルメキンの 30 週間混餌投与 (4,000 ppm: マウスの 18
 23 か月間発がん性試験における最低用量に相当) 又は *N*-ニトロソジエチルアミンの単回腹
 24 腔内投与により、雄に好塩基性の肝臓の病巣が生じた。フルメキンは、また、肝臓にお

⁷ 試験の詳細が報告されていないことから参考データとした。

⁸ 遺伝毒性発がん物質に対する感受性が増大している。

⁹ 試験の詳細が報告されていないことから参考データとした。

1 いて8-ヒドロキシデオキシグアノシン付加物の数を増加させた。これらの反応は酸化
2 DNA 損傷と一致しており、発がん性に関連がある可能性があると考えられた。

3 マウス (CD-1 系、雄、5 週齢、20 匹/群) を 6 群に分け、二段階発がん試験を実施し
4 た。1~3 群にはジエチルニトロソアミン (DEN、100 mg/kg 体重) を、4~6 群には生
5 理食塩水を単回腹腔内投与した。DEN 又は生理食塩水の投与 1 週間後から 30 週間、1
6 及び 4 群にはフルメキンを混餌投与 (4,000 ppm : マウスの 18 か月発がん性試験にお
7 ける最低用量に相当) し、2 及び 5 群には PB を飲水投与 (500 ppm) した。3 及び 6
8 群は、基本飼料を与え、対照群とした。フルメキンの投与開始 9、19、24 又は 30 週目
9 に、各群 5 匹を安楽死処置し、肝臓を採取した。-

10 毒性所見として小葉中心性肥大及び脂肪滴を含む極性肝細胞、炎症性細胞浸潤及び有
11 糸分裂肝細胞の増加が 1 及び 4 群の全時点でみられたが、重篤度は投与期間が伸びるに
12 つれて減少した。フルメキンは CYP1A1、2B1 及び 3A2 を誘導しなかった。免疫染色
13 法で 8-ヒドロキシデオキシグアノシン (8-OHdG) が陽性の肝細胞数が 1 及び 4 群とも
14 に増加した。PB 投与の 2 及び 5 群では好塩基性の肝細胞肥大が顕著にみられ、この肝
15 細胞は CYP1A1 及び 3A2 を強く発現していた。変性細胞巣は DEN 投与の有無によら
16 ずフルメキン投与群 (1 及び 4 群) でみられた。特に、1 群では肝毒性の発現と並行し
17 てみられた。

18 フルメキンのマウスにおける肝発がん性は、肝毒性とその結果として生じる細胞増殖
19 に依存すると考えられた。また、酸化 DNA 損傷が発がん性に関連がある可能性が示
20 唆された。(参照 2、21) [資料 5: FAS 51-2.2][資料 24: 文献④Cancer lett.]

21 22 (7) 2 年間発がん性試験 (ラット)

23 ラット (CFN/Wistar 系、雌雄各 60 匹/群) にフルメキンを 2 年間混餌投与 (0、200、
24 400 又は 800 mg/kg 体重/日) し、発がん性試験が実施された。臨床的毒性徴候は毎日観
25 察した。摂餌量及び体重は定期的に測定した。試験終了時には剖検し、全被験動物の組
26 織及び肉眼病変部は病理組織学的検査に供した。

27 400 mg/kg 体重/日以上の投与群で死亡率が有意に減少した。

28 用量相関的な平均体重及び摂餌量の低下が投与群でみられた。

29 血液学的検査、血液生化学的検査及び尿検査に投与の影響はみられなかった。

30 臓器重量では、400 mg/kg 体重/日以上の投与群の雄で、下垂体、肝臓、心臓及び脳の
31 相対重量が有意に増加した。同様に、800 mg/kg 体重/日投与群の雌の肝臓、心臓及び脳
32 の相対重量が有意に増加した。

33 病理組織学的検査では、400 mg/kg 体重/日以上の投与群の雄の下垂体で良性の色素嫌
34 性腺腫がみられ~~顕著であ~~が、発生率は対照群よりも高くはなかった。肝臓では、軽
35 度の変性変化による肝細胞肥大病巣が散在した。これらの細胞の一部は、細胞質中に脂
36 肪滴を有し脂肪化していた。400 mg/kg 体重/日以上~~の投与群の雄の多くは精子形成を欠~~
37 いていたが、この影響について統計学的な分析はされなかった。 [今井専門委員修文]

38 フルメキンに起因する発がん影響は、2 年間の投与期間中及び投与終了時のいずれに
39 おいても観察されなかった。全群で観察された良性及び悪性の腫瘍は自然発生的なもの
40 と考えられ、対照群に比較して投与群での腫瘍発生率に有意な増加はみられなかった。

1 本試験における NOEL は 200 mg/kg 体重/日と考えられた。(参照 4、5、8、9) [資料
2: FAS 33-2.2.3.2] [資料 7: TRS 851 Toxicological data] [資料 13: EMEA (1)-9] [資料 14: EMEA(2)-8]

3 食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、400mg/kg 体重/日投与群において臓器の
4 相対重量の有意な増加がみられていることから、本試験における NOAEL を 200 mg/kg
5 体重/日と設定した。また、本試験では発がん性はみられなかった。
6

【事務局より】

臓器の重量について、絶対重量の記載はなく、相対重量の増加のみをもって毒性と捉
えて NOAEL を設定しています。

7
8 (8) フルメキンのマウスにおける肝発がん性メカニズム

9 遺伝毒性試験の結果からでは、*in vivo* のラット肝細胞におけるフルメキンの不定期
10 DNA 合成試験で陰性結果が得られ、フルメキンは肝臓の DNA に直接的に作用しない
11 と考えられた。また、B6C3F1 *gpt delta* マウスを用いた *in vivo* の突然変異試験で陰性
12 結果が得られたことから、フルメキンは生体にとって特段問題となる遺伝毒性はないも
13 のを示すことはないと考えられ、フルメキンは非遺伝毒性発がん物質であると考えら
14 れた。

15 げっ歯類の肝臓における非遺伝毒性発がん性は、様々なメカニズム (投与によるホル
16 モン活性、ペルオキシソーム増殖、肝臓の薬剤代謝酵素の誘導及び肝毒性) により発生
17 するとされている。(参照 18) [資料 3: FAS 39-2.1.1.3]

18 現在、フルメキンにはホルモン活性を有するとの報告等はない。

19 マウスを用いた 13 週間亜急性毒性試験で、フルメキンは肝毒性を有し、雌雄マウス
20 において肝細胞の変性及び巣状壊死を引き起こし、その結果、最高用量投与群の雄マウ
21 スにおいて細胞分裂応答が生じた。また、800 mg/kg 体重/日までの用量の投与で、肝臓
22 の P450 依存性の異物代謝酵素系又はグルクロン酸化に目立った誘導も阻害もしないこ
23 とが示された。

24 マウスを用いた 18 か月間発がん性試験で、雄において肝腫瘍の発生率は用量依存的
25 及び投与期間依存的に増加し、並行して肝毒性変化の発生も増加した。

26 マウスを用いた二段階発がん試験では、フルメキン投与群に肝細胞増殖巣がみられ、
27 また *in vivo* のコメットアッセイで DNA 損傷を示す結果であったことから、肝イニシエ
28 ーション作用が示唆された。

29 マウスを用いた 30 週間二段階発がん試験では、フルメキン投与群に 8-ヒドロキシデ
30 オキシグアノシン (8-OHdG) の免疫染色陽性の肝細胞が増加した。変性細胞巣は DEN
31 投与の有無によらずフルメキン投与群でみられた。特に、DEN 及びフルメキンの投与
32 群では肝毒性の発現と並行してみられた。フルメキンのマウスにおける肝発がん性は、
33 肝毒性とその結果として生じる細胞増殖に依存すると考えられた。その要因として、酸
34 化的 DNA 損傷が挙げられた。(参照 23) [資料 24: 文献④Cancer let.]

35 また、フルメキン投与マウス由来肝臓の mRNA プロファイル分析 (後述の「11. (1)
36 フルメキン投与マウス由来肝臓の mRNA プロファイル分析」を参照) においてもでは、
37 酸化的ストレスに対する反応がマウスのフルメキンに起因する肝細胞癌の発生に大き

1 な役割を果たす可能性が示唆された。(参照 20) [資料 22: 文献②]

2 その後、in vivo の不定期 DNA 合成試験において陰性の結果が得られたことから、
3 これらのことから、マウスにおける発がん性は、肝毒性によるものであり、肝毒性に
4 対する酸化ストレスとも関連性があると考えられる。

5 様々な非遺伝毒性肝毒性物質によりげっ歯類の肝腫瘍が誘発されることが示されてい
6 る。高用量及び長期間の暴露により突然変異の発現頻度が増し、いまだ仮説のメカニズ
7 ムではあるが、がん原遺伝子及び成長因子の発現により細胞レベルの腫瘍性形質変化の
8 可能性が増すとされている。げっ歯類では、肝細胞の壊死—再生サイクルを繰り返すこ
9 とにより肝細胞増殖が亢進し、変化した肝細胞 (いわゆる前がん病変) となり、最終的
10 に腫瘍となると考えられている。(参照 18) [資料 3: FAS 39-2.1.1.3]

11 JECFA では、フルメキンのマウスの肝臓における腫瘍形成は非遺伝毒性で閾値に基
12 づいたメカニズムによるものと評価され、肝毒性による肝細胞の壊死—再生サイクルの
13 誘発及び酸化ストレスが関連しているとされた。

14 その後、gpt delta マウスを用いたフルメキンの 13 週間混餌投与では、HPLC で測定
15 した 8-OHdG 量はフルメキン投与群で増加し、BrdU 陽性細胞が増加したことから、フ
16 ルメキンの肝腫瘍メカニズムは、酸化 DNA 損傷ではなく、肝毒性による肝細胞の壊
17 死—再生の繰返しによるものであるとしている。(参照 17) [資料 23: 文献③]

18 以上のことから、フルメキンの肝発がんメカニズムは、肝毒性による肝細胞の壊死—
19 再生の繰返しに関与しており、プロモーション作用と考えられた。

20 【事務局より】

フルメキンのマウスにおける肝発がん性メカニズムの記載内容について、ご確認お願
いいたします。

21
22 7. 生殖発生毒性試験

23 (1) 生殖毒性試験 (ラット)

24 ラット (SD 系) を用いて生殖毒性試験が実施された。雄 (体重 140~160 g、11 又は
25 12 匹/群) には、~~少なくとも~~交配 80 日前から交配期間を通じてフルメキンを強制経口投
26 与 (0、100、200、400 又は 800 mg/kg 体重/日) した。雌 (体重 150~215 g、20 又は
27 21 匹/群) には、~~少なくとも~~交配 21 日前から交配、妊娠及び授乳期間を通じてフルメキ
28 ンを強制経口投与した。

29 雌の各群の投与量及び投与期間方法を表 27 に示した。桑形専門委員、小林専門委員

30 修文

31
32 表 27 フルメキンの生殖毒性試験における雌ラットに対する投与量及び投与期間方
33 法桑形専門委員修文

| 群 | 投与量 (mg/kg 体重/日) | 投与量方法 |
|---|---------------------|-------|
| I | 0 | 対照群 |

| | | |
|------|-----|--|
| II | 800 | (投与 2 週に 21 例中 19 例が死亡) |
| III | 400 | 400 mg/kg 体重/日投与群の雄と交配。交配後は妊娠及び授乳期間を通じて 200 mg/kg 体重を 2 回/日投与。 |
| IV | 200 | 200 mg/kg 体重/日投与群の雄と交配。交配後は妊娠及び授乳期間を通じて 100 mg/kg 体重を 2 回/日投与。 |
| V | 100 | 200 mg/kg 体重/日投与群の雄と交配。交配後は妊娠及び授乳期間を通じて 50 mg/kg 体重を 2 回/日投与。 |
| VI | 0 | 対照群。800 mg/kg 体重/日投与群の雄と交配。 |
| VII | 200 | 400 mg/kg 体重/日投与群の雄と交配。妊娠 15 日に投与を中止。 |
| VIII | 100 | 200 mg/kg 体重/日投与群の雄と交配。妊娠 15 日に投与を中止。 |

1

2

II 群では、雌ラットは投与 1 週目に 4 例が、投与 2 週目に 15 例が死亡した。平均体重は対照群に比べて有意に低かった。毒性徴候として、脱毛、衰弱及び呼吸抑制障害が顕著であった。

3

4

5

III 群では、雌ラットは対照群と比較して、有意に平均体重の有意な低値が低く、妊娠期間の延長が長く、同腹児数の減少が少なく、死亡児数の増加がみられたが多かった。

6

7

IV 群の雌でも、妊娠率、妊娠期間、同腹児数及び生存児数は III 群と同様の傾向であったが、統計学的な有意差はみられなかった。III 及び IV 群の出生平均児体重は対照群と比較して有意な低下がみられたに低かった。

8

9

V、VI、VII 及び VIII 群の雌に生殖パラメータの有意な変化はみられなかった。しかし、妊娠期間及び授乳期間を通じてフルメキンを投与された母動物から出生した児動物では、出生時及び離乳時における平均体重の有意な低下がみられたに低かった。桑形専門委員、小林専門委員修文

10

11

12

13

全投与群の児動物の体重が対照群と比較して低値を示したことから、NOEL は設定できないと考えられた。(参照 8、9) [資料 2: FAS 33-2.2.4.1] [資料 7: TRS 851 Toxicological data]

14

15

食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、400 mg/kg 体重/日群において対照群と比較して、有意な母動物平均体重の低下、妊娠期間の延長、同腹児数の減少がみられたことから、本試験における母動物の NOAEL は 200mg/kg 体重/日と設定した。児動物については、全投与群の児動物に体重の低下がみられたことから、NOAEL は設定できなかった。桑形専門委員、小林専門委員修文

16

17

18

19

20

【事務局より】

200 mg/kg 体重/日群の妊娠率、妊娠期間、同腹児数及び生存児数は、400 mg/kg 体重/日群と同様の傾向でしたが、それらの変化は有意でなかったことから、本試験の母動物の NOAEL は 200 mg/kg 体重/日としました。

【桑形専門委員コメント】

事務局案を支持します。

1
2 (2) 発生毒性試験 (マウス) ①

3 妊娠マウス (CD-1 系、18 又は 22 匹/群) の妊娠 6~15 日にフルメキンを強制経口投
4 与 (0、50、100、200 又は 400 mg/kg 体重/日) し、発生毒性試験が実施された。妊娠
5 17 日に卵巣、子宮及び子宮内容物を調べた。

6 母動物では、体重が 200 mg/kg 体重/日以上 of 投与群で妊娠 12 日以降、~~から残りの妊~~
7 娠期間を通じて有意に低下した。生存胎児数及び吸収胚・胎児数は、いずれの投与群に
8 おいても有意差変化はみられなかった。桑形専門委員、小林専門委員修文

9 胎児では、400 mg/kg 体重/日投与群において、胎児体重の僅かな低下がみられたが、
10 対照群と比較して有意ではなかった。肉眼検査で、口蓋裂が 400 mg/kg 体重/日投与群
11 の 3% (227 例中 6 例) にみられた。胎児 72 例を解剖したところ 9 例 (13%) に口蓋裂
12 がみられ、このうち 4 例は肉眼検査でも検出された。50 及び 100 mg/kg 体重/日投与群
13 では、口蓋裂を有する胎児は各 1 例であったが、200 mg/kg 体重/日投与群にはみられな
14 かった。胸骨分節及び頭蓋骨の骨化遅延は、対照群を含む全群の多くの胎児の大多数で
15 顕著であった。この骨化遅延は、通常、帝王切開を行うこの系統のマウスに必要とされ
16 る妊娠 18 日より早く胎児を検査したことによるものと考えられた。桑形専門委員修文

17 本試験における NOEL は、本試験の最高用量である 400 mg/kg 体重/日と考えられた。

18 (参照 4、5、8、9) [資料 2: FAS 33-2.2.5.1] [資料 7: TRS 851 Toxicological data] [資料 13: EMEA (1)-6]
19 [資料 14: EMEA(2)-6]

20 食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、200 mg/kg 体重/日以上 of 投与群の母動物
21 において有意な体重の低下が認められたことから、本試験における母動物の NOAEL は
22 100 mg/kg 体重/日と設定した。児動物については、400 mg/kg 体重/日群の児動物に複
23 数の口蓋裂がみられたことから、本試験における児動物の NOAEL は 200 mg/kg 体重/
24 日と設定した。また、催奇形性はみられなかった。

25
26 (3) 発生毒性試験 (マウス) ②

27 妊娠マウス (OFI-IOPS、32 又は 35 匹/群) にフルメキンを妊娠 2~15 日に強制経口
28 投与 (0、100、200 又は 400 mg/kg 体重/日、胃内挿管により投与) し、発生毒性試験
29 が実施された。

30 200 mg/kg 体重/日以上 of 投与群で、骨化遅延、気管陥入した気管、腎盂拡張及び口蓋
31 裂が観察された。これらの所見は、フルメキンの投与に起因した催奇形性ではなく胎児
32 毒性と考えられた。桑形専門委員、小林専門委員修文

33 本試験における NOEL は 100 mg/kg 体重/日と考えられた。(参照 4、5、8、9) [資料
34 2: FAS 33-2.2.5.1] [資料 7: TRS 851 Toxicological data] [資料 13: EMEA (1)-6] [資料 14: EMEA(2)-6]

35 食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、200 mg/kg 体重/日以上 of 投与群の児動物
36 に胎児毒性がみられていることから、本試験における児動物の NOAEL を 100 mg/kg
37 体重/日と設定した。また、催奇形性はみられなかった。

38
39 (4) 発生毒性試験 (ラット)

40 妊娠ラット (COBS、23 又は 27 匹/群) にフルメキンを妊娠 6~15 日に強制経口投与

1 (0、100、200 又は 400 mg/kg 体重/日) し、発生毒性試験が実施された。妊娠 20 日に、
2 卵巣、子宮内容物を調べた。

3 母動物では、用量相関的な平均体重の低下がみられ、400 mg/kg 体重/日投与群では対
4 照群と有意差がみられた。

5 胎児では、200 mg/kg 体重/日以上投与群の胎児体重が対照群と比較して有意に低かつ
6 た。200 mg/kg 体重/日以上投与群では、胸骨分骨、椎骨及び頭蓋骨の骨化遅延もまた顕
7 著であった。投与に起因した内臓又は骨格異常奇形はみられなかった。

8 本試験における NOEL は 100 mg/kg 体重/日と考えられた。(参照 4、5、8、9) 桑形
9 専門委員修文[資料 2: FAS 33-2.2.5.2] [資料 7: TRS 851 Toxicological data] [資料 13: EMEA(1)-6] [資料
10 14: EMEA(2)-6]

11 食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、400 mg/kg 体重/日投与群において、母動
12 物に有意な体重の低下がみられたことから、本試験における母動物の NOAEL は 200
13 mg/kg 体重/日と設定した。胎児については、200 mg/kg 体重/日以上の投与群の胎児の
14 体重が、対照群と比較して有意な低下がみられたことから、本試験における胎児の
15 NOAEL は 100 mg/kg 体重/日と設定した。また、催奇形性はみられなかった。桑形專
16 門委員修文

17 18 (5) 発生毒性試験 (ウサギ)

19 妊娠ウサギ (NZW 種、15 又は 21 匹/群) にフルメキンを妊娠 6~18 日に強制経口投
20 与 (0、100、200 又は 400 mg/kg 体重/日、胃内挿管により投与) し、発生毒性試験が
21 実施された。妊娠 29 日に子宮内を調べた。生存胎児については、胎児体重、性別、並
22 びに内部及び外部異常を調べた。桑形専門委員修文

23 24 【小林専門委員修文】

「胃挿管により投与」を削除

25 200 mg/kg 体重/日以上の投与群において、母動物及び胎児の平均体重の軽微な減少が
26 みられたが、対照群と比較して有意な減少ではなかった。小林専門委員修文

27 児動物の骨格検査の結果、いずれの投与群においても骨化遅延はみられなかった。本
28 試験において、投与に起因する胎児毒性はみられなかった。

29 本試験における NOEL は本試験の最高用量である 400 mg/kg 体重/日と考えられた。
30 (参照 4、5、8、9) [資料 2: FAS 33-2.2.5.3] [資料 7: TRS 851 Toxicological data] [資料 13: EMEA(1)-6]
31 [資料 14: EMEA(2)-6]

32 食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、全投与群の胎児に投与に起因する毒性兆
33 候がみられなかったことから、本試験における胎児の NOAEL は 400 mg/kg 体重/日と
34 設定した。

35 36 8. 微生物学的影響に関する試験

37 (1) ヒト腸内細菌叢分離株に対する MIC①

38 平成 18 年度食品安全確保総合調査「動物用抗菌性物質の微生物学影響についての調

1 査」(平成18年9月～平成19年3月)において、ヒト腸内細菌叢分離株等に対するフル
 2 ルメキンの約 5×10^6 CFU/spotにおけるMICが調べられている(表28)。荒川専門委
 3 員修文
 4

【荒川専門委員コメント】

「腸内細菌」という語は「腸内細菌科」と混同されやすいので、「腸内細菌叢」や「腸内細菌叢構成細菌」などに統一したほうがよいと思われる。

【事務局より】

「腸内細菌叢分離株」又は「腸内細菌叢」に修正いたしました。

5
6 表28 フルメキンのヒト腸内細菌叢分離株に対するMIC₅₀

| 菌名 | 株数 | 最小発育阻止濃度 (µg/mL) | |
|---|----|-------------------|----------|
| | | MIC ₅₀ | 範囲 |
| 通性嫌気性菌 | | | |
| <i>Escherichia coli</i> | 30 | 0.5 | 0.5～8 |
| <i>Enterococcus</i> sp. | 30 | >128 | >128 |
| 偏性嫌気性菌 | | | |
| <i>Bacteroides</i> sp. | 30 | 128 | 32～128 |
| <i>Fusobacterium</i> sp. | 20 | 64 | 32～64 |
| <i>Bifidobacterium</i> sp. | 30 | >128 | >128 |
| <i>Eubacterium</i> sp. | 20 | >128 | 32～>128 |
| <i>Clostridium</i> sp. | 30 | >128 | >128 |
| <i>Peptococcus</i> sp./ <i>Peptostreptococcus</i> sp. | 30 | 16 | 4～128 |
| <i>Prevotella</i> sp. | 20 | 32 | 32～64 |
| <i>Lactobacillus</i> sp. | 30 | >128 | 128～>128 |
| <i>Propionibacterium</i> sp. | 30 | >128 | 128～>128 |

7
8 調査された菌種のうち、最も低いMIC₅₀が報告されているのは *E. coli* の 0.5 µg/mL
 9 であった。本調査の結果から、MIC_{calc}¹⁰は 1.937 µg/mL (0.001937 mg/mL) と算出さ
 10 れた。(参照19) [18年度調査事業] 荒川専門委員修文
 11

12 (2) ヒト腸内細菌叢分離株に対するMIC②

13 健康なヒトボランティアの糞便から分離された100菌株(ヒト腸内細菌叢の10種の
 14 好気性及び嫌気性菌の10菌株)を嫌気性及び好気性下で寒天を用いた連続希釈法によ
 15 り、MIC₅₀、MIC₉₀及びMIC₅₀の幾何平均(接種濃度: 10⁷ CFU/mL)が調べられた(表
 16 29)。
 17

¹⁰試験薬がその菌に対して活性を有する属の平均MIC₅₀の90%信頼限界の下限値

1 表 29 ヒト腸内細菌叢分離株のフルメキンに対する感受性

| 菌名 | MIC (µg/mL) | | | |
|--------------------------------|-------------|-------------------|-------------------|-------------------------|
| | 範囲 | MIC ₅₀ | MIC ₉₀ | MIC ₅₀ の幾何平均 |
| <i>E. coli</i> (好気性) | 0.25~0.50 | 0.33 | 0.48 | 0.47 |
| <i>E. coli</i> (嫌気性) | 0.25~0.50 | 0.33 | 0.48 | 0.47 |
| <i>Streptococcus</i> spp. | 16~>32 | >32 | >32 | >32 |
| <i>Proteus</i> spp. | >32 | >32 | >32 | >32 |
| <i>Lactobacillus</i> spp. | >32 | >32 | >32 | >32 |
| <i>Bifidobacterium</i> spp. | >32 | >32 | >32 | >32 |
| <i>Bacteroides fragilis</i> | 16~>32 | >32 | >32 | >32 |
| <i>Eubacterium</i> spp. | >32 | >32 | >32 | >32 |
| <i>Clostridium</i> spp. | 0.50~2.0 | 0.95 | 1.70 | 1.32 |
| <i>Fusobacterium</i> spp. | 1.0~32 | 1.0 | 5.1 | 3.25 |
| <i>Peptostreptococcus</i> spp. | >32 | >32 | >32 | >32 |

2

【石原専門委員コメント】

参考資料の本文中には MIC₅₀ の幾何平均と記載がありますが、実際には各群（各菌種）10 株の MIC の幾何平均ではないでしょうか？

MIC₅₀ は、各群で 1 つの値となるため、幾何平均を出す意味がありません。

3

4 *E. coli* が最も感受性が高く、10 菌株に対する平均 MIC₅₀ は 0.33 µg/mL であった。
 5 ヒトの腸から分離された最も感受性の高い一般的な偏性嫌気性細菌である種の平均
 6 MIC₅₀ は、*Clostridium* spp. 及び *Fusobacterium* spp. に対する平均 MIC₅₀ は、それぞれ
 7 0.95 及び 1.0 µg/mL であった。（参照 5、13、18） [資料 3: FAS 39-2.1.2][資料 8: TRS 879
 8 Microbiological data][資料 14: EMEA(2)-12] 荒川専門委員修文

9

【石原専門委員コメント】

参照資料の本文には、“平均” MIC₅₀ との記載があるが、群ごとに 1 つの値が決まるため、“平均” は、不要ではないか。

10

11 (3) ヒト腸内細菌叢分離株に対する MIC (7-ヒドロキシフルメキン)

12 上記試験と同様の条件下で *E. coli*、*Clostridium* sp. 及び *Fusobacterium* sp. 各 10 菌株
 13 に対する 7-ヒドロキシフルメキンの MIC₅₀ を測定した。*E. coli* はフルメキン
 14 よりも 7-ヒドロキシフルメキンに対して感受性が低く、7-ヒドロキシフルメキン濃度が
 15 2 µg/mL では発育の阻止がみられず、4 µg/mL では発育が 100% 阻止された。*Clostridium*
 16 sp. 及び *Fusobacterium* sp. は、測定した最高濃度 (16 µg/mL) でも感受性を示さなかつ
 17 た。ヒト腸内細菌叢に対する 7-ヒドロキシフルメキンの活性は、フルメキンに比較する
 18 と僅かであった。（参照 5、13、18、） [資料 3: FAS 39-2.1.2][資料 8: TRS 879 Microbiological data]
 19 [資料 14: EMEA(2)-12] 荒川、石原専門委員修文

1 2 (4) ヒト腸内細菌叢の利用分画

3 腸内細菌叢に対するフルメキンの利用分画を調べるために、健康なヒトボランティア
4 (性別不明、5人) に¹⁴C 標識フルメキンを経口投与 (830 mg/ヒト) し、投与5日後ま
5 で、尿及び糞中の放射活性を測定した。[荒川専門委員修文]

6 排泄物からは合計84% (76~92%) の放射活性が回収され、糞中で9% (5.7~13%)、
7 尿中では75% (70~81%) であった。その結果、フルメキンの投与量の約10%がヒト
8 腸内細菌叢で利用可能であると結論付けられた。(参照5、18) [資料3: FAS 39-2.1.2]、[資料
9 14: EMEA (2)-2]

10 11 9. ヒトにおける知見

12 EMEA 評価書では、フルメキンは、ヒト用医薬品として1,200 mg/ヒト/日の用量で1
13 日3回に分けて投与される。医薬品の安全性監視試験 (治療に用いられた40,722,119
14 錠について) が1984~1993年に実施され、アレルギー、消化に対する影響及び神経学
15 的影響及び知覚神経への影響といった副作用が報告された。(参照4、5) [資料13: EMEA
16 (1)-12] [資料14: EMEA(2)-9]

17 18 10. 一般薬理試験

19 (1) ヘキソバルビタール性睡眠時間に対する影響

20 フルメキンの14日間投与 (100 mg/kg 体重/日、投与経路不明) による前処置をした
21 ラットでは、ヘキソバルビタール性睡眠時間が著しく短縮された。このことから、これ
22 らの試験条件下では、フルメキンの投与によりラットにおいて、薬物代謝酵素が誘導さ
23 れる可能性肝ミクロソーム薬剤代謝活性を増強させることが示唆された。(参照8) [資料
24 2: FAS 33-2.1.2] [細川専門委員修文]

25 26 11. その他の毒性試験

27 (1) フルメキン投与マウス由来肝臓の mRNA プロファイル分析

28 フルメキンを1、4又は8週間混餌投与 (4,000 ppm) したマウス (C3H/He) の肝臓
29 をcDNA マイクロアレイにより分析し、不投与のマウスと比較した。さらに、より包括
30 的な結果を得るため、選択された遺伝子の経時的変化を定量的 RT-PCR により調べた。
31 マイクロアレイ分析から、ストレス反応遺伝子である、グルタチオン S-トランスフェ
32 ラーゼ (GST) α 及び GST μ の発現は非常に多く、酸化ストレスの発生が示唆された。
33 一方、発現が減少した遺伝子には、CYP のような第 I 相の代謝酵素及びアポトーシスに
34 関連したタンパク質が含まれていた。これらの変化は定量的 RT-PCR により確認され、
35 概ねマイクロアレイ分析と一致していた。酸化ストレスによる DNA 損傷のマーカー
36 である、8-オキシグアニン DNA グリコシラーゼ 1 (OGG1) の発現は時間依存的に増加
37 した。

38 これらの結果から、酸化ストレスに対する反応がマウスのフルメキンに起因する肝
39 細胞癌の発生に大きな役割を果たす可能性が示唆された。(参照20) [資料22: 文献②]

1 Ⅲ. 食品健康影響評価

2 1. 国際機関等の評価

3 (1) JECFA における評価

4 JECFA では、第 48 回会議（1997 年）で、*E. coli* は通常フルオロキノロンに非常に
5 感受性が高いが、腸内細菌叢の中ではマイナーな細菌種であり、腸管内で優勢な偏性嫌
6 気性菌はフルオロキノロンに比較的感受性が低いことから、フルメキン残留物によるヒ
7 ト腸内における生態系の阻害は起こりそうもないと考えられた。このことから、毒性学
8 的 ADI を採用することが適切であると考え、マウスを用いた 13 週間亜急性毒性試験に
9 おける肝毒性を根拠とした NOEL 25 mg/kg 体重/日に、試験期間が短く、変性した肝細
10 胞の病巣の組織化学的検査が実施されていないことを考慮した安全係数 1,000 を適用し、
11 ADI として 0～30 µg/kg 体重/日が設定された。（参照 18）[資料 3: FAS 39-3,4]

12 第 60 回会議（2003 年）では、腫瘍形成性についてプロモーション作用のみを有する
13 非遺伝毒性発がん物質と考えられていたフルメキンを投与した雄マウスを用いた *in*
14 *vivo* コメットアッセイの結果から、フルメキンが DNA 鎖の損傷を引き起こすことが推
15 測され、フルメキンがマウスの肝臓に腫瘍を誘発させる可能性を否定することができな
16 かったため、第 48 回会議で設定された ADI が一旦取り消された。（参照 2）[資料 5: FAS
17 51-3,4]

18 しかし、第 62 回会議（2004 年）では、コメットアッセイの限界に言及しつつが限定
19 的な試験であることを考慮し、また *in vivo* のラット肝細胞におけるフルメキンの不定
20 期 DNA 合成試験で陰性結果が得られ、フルメキンは肝臓の DNA に直接的に作用しな
21 いことが示唆されたことから、マウスの肝臓における腫瘍形成は非遺伝毒性で閾値に基
22 づいたメカニズムによるものであると結論付けた。その結果、フルメキンについて、第
23 48 回会議で最初に設定されていた ADI である 0～30 µg/kg 体重/日が再び設定された。
24 （参照 3）[資料 6: FAS 53-3,4]

25

【下位専門委員コメント】

（コメットアッセイについて）「限定的な試験であることを考慮し、」という記載は検討
した方がよいのではないかと思います。

【事務局より】

原文では「the Committee also noted the limitation of this assay」となっています。「コ
メットアッセイの限界に言及しつつ」では、どうでしょうか。

【下位専門委員コメント】

フルメキンに関するコメットアッセイの結果は、陽性でしたが、それは、topoisomerase
II の阻害作用に関する報告があったため、このような結果が出てしまうのがコメットア
ッセイのデメリットだと思います。また、酸化的 DNA 損傷なども酵素を作用させないと検出
できません。よって、提案された「コメットアッセイの限界に言及しつつ」の文言でニュ
アンスが伝わればよいと思います。

26

1 (2) EMEAにおける評価

2 EMEA (1996年)では、推奨される4試験 (*in vitro* の復帰突然変異試験、HPRT
3 試験、チャイニーズハムスター卵巣由来細胞を用いたほ乳動物遺伝子突然変異試験、及
4 び *in vivo* のラット骨髄細胞を用いたほ乳動物染色体異常試験) で陰性結果が得られて
5 いることからフルメキンに遺伝毒性はないと考えた。また、フルメキンが CD-1 マウス
6 に肝細胞腫瘍を増加させたものの、肝細胞腫瘍を増加させるメカニズムは肝毒性による
7 可能性があると考え、マウスの3か月間投与試験で肝毒性がみられなかったことから、
8 マウスの13週間亜急性毒性試験の NOEL (25 mg/kg 体重/日) に安全係数として100
9 に、腫瘍発生のメカニズムが完全に解明されていないとして追加の10の1,000を適用
10 し、毒性学的 ADI として 0.025 mg/kg 体重/日 (1.5 mg/kg 体重/ヒト) が設定された。

11 微生物学的 ADI については、ヒト腸内細菌叢分離株に対する MIC₅₀ に関するデータ
12 から、最も感受性の高い菌である *E. coli* の MIC₅₀ (0.33 µg/mL)、微生物が利用可能な
13 経口用量の分画にヒトのデータから 0.1 とし、CVMP の標準計算式を用いて次のとおり
14 算出された。(参照 4、5) 荒川専門委員修文 [資料 13: EMEA (1)-13,14] [資料 14: EMEA(2)-11,14]
15

$$\begin{aligned} \text{ADI}(\mu\text{g/kg 体重/日}) &= \frac{\text{MIC}_{50} \text{ の幾何平均} \times \text{CF2}^{*2}}{\text{CF1}^{*1}} (\mu\text{g/mL}) \times \frac{\text{一日糞量}(150 \text{ mL})}{\text{微生物が利用可能な経口用量の分画}^{*3} \times \text{ヒト体重}(60 \text{ kg})} \\ &= \frac{0.33 \times 1}{0.1} \times \frac{150}{60} = 8.25 \mu\text{g/kg 体重/日} = 495 \mu\text{g/ヒト/日} \end{aligned}$$

16
17
18 *1: 最も感受性の高い菌である MIC₅₀ を採用していることから補正の必要がないことから 1

19 *2: 接種菌濃度 (10⁷ 又は 10⁹ 菌/mL) により MIC 値が大きく変わることはないため 1

20 *3: ヒトに ¹⁴C 標識フルメキンを単回投与後約 10% が糞中に排泄されたことから 0.1
21

22 EMEA では、微生物学的 ADI が毒性学的 ADI より小さいことから、微生物学的 ADI
23 (8.25 µg/kg 体重/日) が採用された。
24

25 2. 食品健康影響評価

26 (1) 毒性学的 ADI について

27 ~~遺伝毒性試験に関して、*in vivo* のコメントアッセイにおいて陽性の結果が得られた。~~
28 ~~しかしながら、*in vivo* の不定期 DNA 合成試験の結果は陰性であり、フルメキンが肝臓~~
29 ~~の DNA に直接作用しないことが示されたことから、フルメキンは生体にとって特段問~~
30 ~~題となる遺伝毒性はないものと判断した。~~

31 遺伝毒性試験において、*in vivo* のコメントアッセイでは陽性の結果が得られたが、
32 遺伝子突然変異試験 (*gpt delta* マウス肝臓) が陰性であり、DNA 損傷はその後修復さ
33 れ突然変異に至らないと推察されたことから、フルメキンは生体にとって特段問題とな

1 る遺伝毒性はないと考えられた。

2 慢性毒性及び発がん性試験に関して、マウスの18か月間発がん性試験において、用
3 量相関的な肝臓の腫瘍発生率の増加及び肝臓の毒性変化（肝細胞の細胞質の変性、空胞
4 化、脂肪浸潤等）がみられた。また、マウスの二段階発がん性試験のフルメキン投与
5 群では、肝細胞増殖巣病変がみられ、フルメキンの肝腫瘍イニシエーション作用ター
6 の可能性が示されたが、*in vivo*の *gpt delta* マウスを用いた遺伝子突然変異試験の結果が
7 陰性であったことから、イニシエーション作用は突然変異によるものではないと推察さ
8 れた。

9 マウスの30週間二段階発がん試験で8-OHdGの免疫染色陽性の肝細胞の増加がみあ
10 られたが、*gpt delta* マウスを用いたフルメキンの13週間混餌投与試験では、HPLCで
11 測定した8-OhdG量はフルメキン投与群で増加は認められず、BrdU陽性細胞が増加し
12 たことから、フルメキンの肝腫瘍メカニズムは、酸化のDNA損傷ではなく、肝毒性に
13 よる肝細胞の壊死-再生の繰り返しが関与しており、プロモーション作用と考えられた。

14 また、一方、ラットの2年間発がん性試験では発がん性はみられなかった。

15 フルメキンについては、肝腫瘍のイニシエーターの可能性が示されたが、フルメキン
16 は肝臓のDNAに直接作用しないこと及びフルメキンの肝腫瘍の形成機序は肝毒性によ
17 るものと考えられることから、以上から、フルメキンは遺伝毒性発がん物質ではなく、
18 ADIを設定することが可能と考えられた。

19 各種毒性試験で得られたNOAEL又はLOAELのうち最小値は、マウスを用いた13
20 週間亜急性毒性試験で得られたNOAEL 25 mg/kg 体重/日であり、毒性学的ADIは、こ
21 のNOAELに安全係数として1,000（種差10、個体差10、イヌの慢性毒性試験及びマ
22 ウスの発がん性試験でNOAELが設定できなかったこと腫瘍のイニシエーション作用
23 を有する可能性があること及びNOAELを採用した試験の試験期間が短いことを考慮
24 した〇〇10）を適用し、~~〇〇0.025~~ mg/kg 体重/日と設定することが適当と判断した。

26 【案① 追加の安全係数を10とした場合】

27 各種毒性試験で得られたNOAEL又はLOAELのうち最小値は、マウスを用いた13
28 週間亜急性毒性試験で得られたNOAEL 25 mg/kg 体重/日であり、毒性学的ADIは、こ
29 のNOAELに安全係数として1,000（種差10、個体差10、イヌの慢性毒性試験及びマ
30 ウスの発がん性試験でNOAELが設定できなかったこと及びNOAELを採用した試験
31 の試験期間が短いことを考慮した10）を適用し、0.025 mg/kg 体重/日と設定するこ
32 が適当と判断した。

34 【案② 追加の安全係数を3とした場合】

35 各種毒性試験で得られたNOAEL又はLOAELのうち最小値は、マウスを用いた13
36 週間亜急性毒性試験で得られたNOAEL 25 mg/kg 体重/日であり、毒性学的ADIは、こ
37 のNOAELに安全係数として300（種差10、個体差10、イヌの慢性毒性試験及びマウ
38 スの発がん性試験でNOAELが設定できなかったこと及びNOAELを採用した試験の
39 試験期間が短いことを考慮した3）を適用し、0.083 mg/kg 体重/日と設定するこ
40 が適当と判断した。

1

【事務局より】

以下についてご検討くださいますようお願いいたします。

- (1) フルメキンについて、フルメキンは遺伝毒性発がん物質ではなく、ADI を設定することが可能と考えて良いでしょうか。
- (2) NOAEL の設定について、採用した試験や数値は、これでよいでしょうか。
- (2) 追加の安全係数の設定理由及びその数値について、ご検討をお願いいたします。

【下位専門委員コメント】

- (1) よいと思われれます。

2

3 (2) 微生物学的 ADI について

4 微生物学的影響については、平成 18 年度食品安全確保総合調査「動物用抗菌性物質
5 の微生物学的影響調査」により、詳細な知見が得られており、この結果から VICH ガイ
6 ドラインに基づいて微生物学的 ADI を算出することができる。

7 フルメキンの MIC_{calc} は 0.001937 mg/mL、微生物が利用可能な経口用量の分画（細
8 菌が暴露される分画）に 0.1、結腸内容物 220 g、ヒト体重 60 kg を適用し、VICH の算
9 出式に基づいて微生物学的 ADI を算出すると、以下のとおりとなる。

10

$$ADI = \frac{0.001937 \text{ (mg/mL)}^1 \times 220^2}{0.1^3 \times 60^4} = 0.071 \text{ mg/kg 体重/日}$$

11

12 1): MIC_{calc} : 試験薬がその菌に対して活性を有する属の平均 MIC₅₀ の 90 %信頼限界の下限值

13 2): 結腸内容物の量(g)

14 3): ¹⁴C 標識フルメキン (830 mg/ヒト) を 5 人の健康ヒトボランティアに経口投与した試験で、投与後
15 5 日に糞中から 9%の放射活性が回収されたことに基づき、腸内細菌叢が利用可能な経口用量の分画
16 として 10%荒川専門委員修文

17 4): ヒト 1 人当たりの体重(kg)

18

19 この VICH の算出式は現時点で国際的コンセンサスが得られている手法であり、微生物
20 学的 ADI 0.071 mg/kg 体重/日をフルメキンの微生物学的 ADI として採用するのが適
21 当であると判断した。

22

23 (3) ADI の設定について

24 **【案① 追加の安全係数を 10 とした場合】**

25 フルメキンの毒性学的 ADI (0.025 mg/kg 体重/日) は、微生物学的 ADI (0.071 mg/kg
26 体重/日) よりも小さいことから、フルメキンの ADI として次の値を採用することが適
27 当と考えられる。

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18

フルメキン 0.025 mg/kg 体重/日

暴露量については、当該評価結果を踏まえ暫定基準値の見直しを行う際に確認することとする。

【案② 追加の安全係数を3とした場合】

フルメキンの微生物学的 ADI (0.071 mg/kg 体重/日) は、毒性学的 ADI (0.083 mg/kg 体重/日) よりも小さいことから、フルメキンの ADI として次の値を採用することが適当と考えられる。

フルメキン 0.071 mg/kg/体重/日

暴露量については、当該評価結果を踏まえ暫定基準値の見直しを行う際に確認することとする。

1 表 JECFA 及び EMEA における各種試験の無毒性量等の比較

| 動物種 | 試験 | 投与量 (mg/kg 体重/日) | 無毒性量 (mg/kg 体重/日) | |
|------------|--|--|------------------------------------|--------------------------|
| | | | JECFA | EMEA |
| マウス | 14 日間亜急性毒性 | 500 (強制経口投与) | — | |
| | 13 週間亜急性毒性 | 雄：25、50、100、400、800 雌：100、400、800 (混餌投与) | 25 肝毒性 | 25 肝毒性 |
| | 18 か月間発がん性 | 0、400、800 (混餌投与) | — 発がん性有り | — 発がん性有り |
| | | 0、800 (混餌投与：投与期間、投与方法の異なる群を設定) | — | — |
| | 13 週間発がん性 (2 段階肝発がん性) | 4,000 ppm (混餌投与) | — | |
| | 26 週間発がん性 (ヘテロ接合 <i>p53</i> -欠損マウス使用) | 4,000 ppm (混餌投与) | — | |
| | 30 週間発がん性 | 4,000 ppm (混餌投与) | — | |
| | 発生毒性 | 0、50、100、200、400 (強制経口投与) | 400 | 100 骨形成への影響 催奇形性なし |
| | | 0、100、200、400 (強制経口投与) | 100 骨化遅延、口蓋裂等 | |
| | ラット | 14 日間亜急性毒性 | 0、125、250、500 (強制経口投与) | — |
| 90 日間亜急性毒性 | | 0、200、400、800 (強制経口投与) | — | — 投与群で肝臓の 相対重量の増加 |
| 2 年間発がん性 | | 0、200、400、800 (混餌投与) | 200 精子形成不全、 臓器重量変化 発がん性なし | — 発がん性なし |
| 生殖毒性 | | 0、100、200、400、800 (強制経口投与) | — 生殖毒性なし | |
| 発生毒性 | | 0、100、200、400 | 100 | 100 |

| | | | | |
|------------------------|-------------|---|--|---|
| | | (強制経口投与) | 骨化遅延、胎児 体重低値 | 骨形成への影響 催奇形性なし |
| ウサギ | 発生毒性 | 0、100、200、400 (強制経口投与) | 400 催奇形性なし | — 催奇形性なし |
| モルモット | 14日間亜急性毒性 | 0、300、500 (強制経口投与) | — | |
| イヌ | 21日間亜急性毒性 | 300 (経口投与) | — | |
| | 90日間亜急性毒性 | 0、50、100、200 (経口投与) | — | — |
| | 13週間亜急性 | 0、15、30、60、150 (経口投与) | 30 関節症誘発 | 30 関節症誘発 |
| | 1年間慢性 | 0、50、100、200 | 50 痙攣 | 50 痙攣 |
| サル | 15.5週間亜急性毒性 | 100(1週間)、200(3週間)、 300(8週間)、400(1週間)、 500(1週間)、600(1.5週間) (経口漸増投与) | — | |
| 毒性学的 ADI (mg/kg 体重/日) | | | 0.03 NOAEL : 25 SF : 1,000 | 0.025 NOAEL : 25 SF : 1,000 |
| 毒性学的 ADI の設定根拠 | | | マウス 13週間亜 急性毒性試験 | マウス 13週間 亜急性毒性試験 |
| 微生物学的 ADI (mg/kg 体重/日) | | | 0.037 | 0.00825 |
| 微生物学的 ADI の設定根拠 | | | 主要なヒト腸内 細菌叢由来菌の 中で最も感受性 の高い菌の平均 MIC ₅₀ : VICH 式 | ヒト腸内細菌叢 由来菌の中で最 も感受性の高い 菌の MIC ₅₀ : CVMP 式 |
| ADI | | | 0.03 | 0.00825 |

1 — : 設定なし

2

1 <別紙：検査値等略称>

| 略称等 | 名称 |
|-------------------|---|
| ADI | 一日摂取許容量 |
| ALP | アルカリホスファターゼ |
| ALT | アラニンアミノトランスフェラーゼ [=グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ (GPT)] |
| AST | アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ [=グルタミン酸オキサロ酢酸トランスアミナーゼ (GOT)] |
| AUC | 薬物濃度曲線下面積 |
| C _{max} | 血（漿）中最高濃度 |
| DMF | ジメチルホルムアミド |
| EM(E)A | 欧州医薬品審査庁 |
| HPLC | 高速液体クロマトグラフィー |
| JECFA | FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議 |
| LD ₅₀ | 半数致死量 |
| LDH | 乳酸脱水素酵素 |
| LOAEL | 最小毒性量 |
| MIC | 最小発育阻止濃度 |
| MIC ₅₀ | 50%最小発育阻止濃度 |
| MIC ₉₀ | 90%最小発育阻止濃度 |
| NOAEL | 無毒性量 |
| NOEL | 最大無作用量 |
| T _{max} | 最高濃度到達時間 |
| T _{1/2} | 消失半減期 |
| TP | 総タンパク質 |

2

3

- 1 <参照>
- 2 1. The Merck Index, 14th Edition, 2004
- 3 2. JECFA : Toxicological evaluation of certain veterinary drug residues in food, WHO
- 4 FOOD ADDITIVES SERIES 51
- 5 3. JECFA : Toxicological evaluation of certain veterinary drug residues in food, WHO
- 6 FOOD ADDITIVES SERIES 53
- 7 4. EMEA : COMMITTEE FOR VETERINARY MEDICAL PRODUCTS ;
- 8 FLUMEQUINE SUMMARY REPORT (1), 1996
- 9 5. EMEA : COMMITTEE FOR VETERINARY MEDICAL PRODUCTS ;
- 10 FLUMEQUINE SUMMARY REPORT (2), 1999
- 11 6. EMEA : COMMITTEE FOR VETERINARY MEDICAL PRODUCTS ;
- 12 FLUMEQUINE (Extension to bovine milk and turkey) SUMMARY REPORT (3),
- 13 1999
- 14 7. 食品、添加物等の規格基準（昭和 34 年厚生省告示第 370 号）の一部を改正する件（平
- 15 成 17 年 11 月 29 日付、厚生労働省告示第 499 号）
- 16 8. JECFA : Toxicological evaluation of certain veterinary drug residues in food, WHO
- 17 FOOD ADDITIVES SERIES 33
- 18 9. JECFA : EVALUATION OF CERTAIN VETERINARY DRUG RESIDUES IN FOOD.
- 19 WHO Technical Report Series, No.851, Flumequine, 1995
- 20 10. Residues of some veterinary drugs in animals and foods. FAO Food and Nutrition
- 21 Paper 41/10.
- 22 11. Residues of some veterinary drugs in animals and foods. FAO Food and Nutrition
- 23 Paper 41/15.
- 24 12. JECFA : EVALUATION OF CERTAIN VETERINARY DRUG RESIDUES IN
- 25 FOOD. WHO Technical Report Series, No.918, Flumequine, 2003
- 26 13. JECFA : EVALUATION OF CERTAIN VETERINARY DRUG RESIDUES IN
- 27 FOOD. WHO Technical Report Series, No.879, Flumequine, 1998
- 28 14. Residues of some veterinary drugs in animals and foods. FAO Food and Nutrition
- 29 Paper 41/13.
- 30 15. JECFA : EVALUATION OF CERTAIN VETERINARY DRUG RESIDUES IN
- 31 FOOD. WHO Technical Report Series, No.900, Flumequine, 2001
- 32 16. Kashida Y, Sasaki F, Yu, Ohsawa K, Yokohama N, Takahashi A, Watanabe T and
- 33 Mitsumori K. Mechanistic study on flumequine hepatocarcinogenicity focusing on
- 34 DNA damage in mice. Toxicol Sci. 2002;69(2):317-21.
- 35 17. Kuroiwa Y, Umemura T, Nishikawa A, Kanki K, Ishii Y, Kodama Y, et al. Lack of in
- 36 vivo mutagenicity and oxidative DNA damage by flumequine in the livers of *gpt*
- 37 *delta* mice. Arch Toxicol. 2007;81(1):63-9.
- 38 18. JECFA : Toxicological evaluation of certain veterinary drug residues in food, WHO
- 39 FOOD ADDITIVES SERIES 39
- 40 19. 平成 18 年度食品安全確保総合調査「動物用抗菌性物質の微生物学的影響についての

- 1 調査」報告書
- 2 20. Kashida Y, Takahashi A, Moto M, Okamura M, Muguruma M, Jin M, et al. Gene
3 expression analysis in mice liver on hepatocarcinogenesis by flumequine. Arch
4 Toxicol. 2006;80(8):533-9.
- 5 21. Yoshida M., Miyajima K., Shiraki K., Ando J., Kudoh K., Nakae D., et al.
6 Hepatotoxicity and consequently increased cell proliferation are associated with
7 flumequine hepatocarcinogenesis. Cancer Let. 1999;141:99-107
- 8
- 9
- 10