

食品安全委員会農薬専門調査会評価第四部会

第42回会合議事録

1. 日時 平成27年 2 月 26 日（木） 14:00～17:01

2. 場所 食品安全委員会中会議室（赤坂パークビル22階）

3. 議事

- （1）農薬（フロメトキン）の食品健康影響評価について
- （2）その他

4. 出席者

（専門委員）

西川座長、長野副座長、井上専門委員、加藤専門委員、佐々木専門委員、
玉井専門委員、中塚専門委員、本多専門委員、森田専門委員、山手専門委員、
與語専門委員

（食品安全委員会）

佐藤委員、山添委員、三森委員

（事務局）

姫田事務局長、関野評価第一課長、高崎評価調整官、堀部課長補佐、横山課長補佐、
丸野専門官、鈴木技術参与、賀登係長、齊藤係長、木村専門職、小牟田専門職

5. 配布資料

- | | |
|----------|---------------------|
| 資料 1 | 農薬専門調査会での審議状況一覧 |
| 資料 2 | フロメトキン農薬評価書（案）（非公表） |
| 資料 3 | 論点整理ペーパー（非公表） |
| 机上配布資料 1 | フロメトキン参考資料 |

6. 議事内容

○横山課長補佐

それでは、定刻となりましたので、ただいまから第42回農薬専門調査会評価第四部会を開催いたします。

本日は、評価第四部会の専門委員の先生方11名に御出席いただいております。

食品安全委員会からは3名の委員の先生が御出席されております。

それでは、以後の進行を西川座長にお願いしたいと思います。

○西川座長

それでは、議事を進めます。

本日の議題は農薬（フロメトキン）の食品健康影響評価についてです。

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

事務局より資料確認をお願いいたします。

○横山課長補佐

お手元に、議事次第、座席表、農薬専門調査会専門委員名簿のほか、

資料1 農薬専門調査会での審議状況一覧。

資料2 フロメトキン農薬評価書（案）。

資料3 論点整理ペーパー。

また、今日は机上配布資料1、フロメトキンの参考資料といたしまして、過去に食品安全委員会で審議された農薬のうち、卵巣重量の低下と体重の増加抑制があった剤を井上先生にピックアップしていただきまして、それについての情報をまとめたものを御用意させていただきました。

机上配布資料2ですが、イヌの嘔吐の発生状況についての資料となっております。

資料については以上でございます。不足等がございましたら、事務局までお申し付けいただければと思います。

○西川座長

続きまして、事務局から「食品安全委員会における調査審議方法等について（平成15年10月2日食品安全委員会決定）」に基づき必要となる、専門委員の調査審議等への参加に関する事項について報告を行ってください。

○横山課長補佐

それでは、本日の議事に関する専門委員等の調査審議等への参加に関する事項について、御報告いたします。

本日の議事について、専門委員の先生方から御提出いただいた確認書を確認しましたところ、平成15年10月2日委員会決定に規定する調査審議等に参加しないこととなる事由に該当する専門委員はいらっしゃいません。

以上です。

○西川座長

先生方、提出いただいた確認書について、相違はございませんでしょうか。

（「はい」と声あり）

○西川座長

相違ないものと認めます。

それでは、農薬（フロメトキン）の食品健康影響評価についてを始めたいと思います。

経緯も含め、事務局より説明をお願いいたします。

○小牟田専門職

それでは、御説明させていただきます。

フロメトキンはキノリン骨格を有する殺虫剤であり、ミトコンドリアの電子伝達系を阻害することにより殺虫作用を示すと考えられています。2015年1月に農薬取締法に基づく農薬登録申請（新規）、だいこん、はくさい等の要請に関しまして、厚生労働省から意見聴取がなされております。

本剤につきましては、平成25年11月19日に農薬専門調査会幹事会での決定事項に基づきまして、座長の御指示により、企業関係者を招致し、質疑応答等の時間を設けることとしております。質疑応答時間は16時ごろから開始する予定でございますので、議事の進行について、御理解、御協力のほど、よろしくお願いいたします。

評価書につきましては事前に送付してございまして、担当分野ごとに御確認いただいているところでございます。農薬評価書のたたき台につきましては、各専門委員の方々からさまざまな御意見を事前にいただいておりますので、これを見え消しにして作成しております。

それでは、資料2の3ページ、審議の経緯のところでございます。2015年1月8日に厚生労働大臣から残留基準値設定に係る食品健康影響評価について要請を受けたものでございます。同じく、1月20日に第545回食品安全委員会で要請事項説明がなされたものでございます。

6ページ、7.開発の経緯をお願いいたします。フロメトキンは日本化薬及びMeiji Seikaファルマにより共同開発されましたキノリン骨格を有する殺虫剤でございます。ミトコンドリアの電子伝達系を阻害することにより、殺虫作用を示すと考えられています。新規で農薬登録申請がなされております。

8ページ、10行目、1.動物体内運命試験でございます。

（1）吸収、①血中濃度推移といたしまして、血中薬物動態学的パラメータは表1に示されているとおりでございます。

22行目、②吸収率でございます。

24行目から、投与後48時間におけるフロメトキンの体内吸収率は、低用量投与群で少なくとも50.0%、高用量投与群で少なくとも29.6%と算出されてございます。

9ページ、玉井先生からコメントをいただいております。前ページの網かけ部分、吸収率の29.6%という値についてですけれども、こちらの値は評価書の12ページ18行目にございます表5の数値から計算すると29.6%となります。しかし、表5のもととなる抄録の数値から計算いたしますと29.5%となります。精度は29.5%のほうが高いし、抄録と対応す

る数値になります。どちらを採用するのでしょうかということでコメントをいただいております。事務局案といたしましては、評価書を見て、齟齬のないようにということで、現在は29.6%と記載しております。こちらについて御検討をいただければと思います。

9 ページの 3 行目、(2) 分布についてです。

6 行目から、残留放射濃度は表 2 に示されてございます。

7 行目、 T_{max} 付近において、主に肝臓、副腎、血漿等に高濃度の放射能が分布しております。消失は速やかであり、168時間後には肝臓を除く全組織で低用量投与群では0.08 $\mu\text{g/g}$ 未満、高用量投与群では0.6 $\mu\text{g/g}$ 未満となっております。こちらは事務局修文を少し入れてございます。

10ページ2行目、玉井先生からコメントをいただいております。組織中への残留(蓄積)性の評価方法といたしまして、ここでは、濃度(量)で示してあり、その数値の高いものが記載してあります。この数値から蓄積性を評価するのは難しいです。血漿中濃度と比較すると評価しやすいです。したがって、168時間後の記載についても、0.02あるいは0.2未満であっても、血漿中濃度は記載したらいいと思います。評価としては、血漿中濃度の低下に比べ、組織中濃度の低下が遅い場合は蓄積性を考えます。ということでコメントをいただいております。168時間後につきまして、血漿中濃度以上を全て追記するようにいたしました。

10ページの4行目、(3)代謝でございます。

11ページの1行目、尿、糞及び胆汁中代謝物は表3に示してございます。

2行目、尿中では未変化のプロメトキンは検出されておられません。代謝物M1、M2、M3、M4、M8、M9及びM10が検出されてございます。

5行目、糞中では未変化のプロメトキンが検出されてございます。尿中で検出された代謝物に加えまして、M6が検出されております。

7行目、胆汁中で未変化のプロメトキンは検出されておられません。

8行目、主要代謝物はM5のグルクロン酸抱合体でございます。

9行目、プロメトキンのラットにおける推定代謝経路は加水分解によるM1の生成、それに続くアルコール及びカルボン酸の酸化並びにグルクロン酸抱合であると考えられてございます。

17行目、(4)排泄をお願いいたします。

①尿及び糞中排泄でございます。尿及び糞中排泄率は表4に示してございます。

12ページ、いずれの投与群におきましても、投与放射能の排泄は速やかで、主に糞中に排泄されたとなっております。

9行目、②胆汁中排泄をお願いいたします。

12行目から、投与48時間における胆汁、尿及び糞中排泄率は表5に示してございます。いずれの投与群においても、吸収された放射能は主に胆汁排泄を介して糞中に速やかに排泄されたということで、現在、玉井先生から修文をいただいております。玉井先生の修

文に合わせまして、事務局のほうで吸収されない放射能も糞中に認められることを考慮いたしまして、吸収されたという一文を追記いたしました。

この修文につきまして、先ほど親委員の事前レクの際に、山添先生からコメントをいただきまして、主に胆汁排泄を介してと速やかに排泄されたということで「排泄」が2回続きますので、最後の「排泄された」の部分を「移行した」に変えてはどうかということでコメントをいただいております。

12ページ20行目、2. 植物体内運命試験でございます。

(1) トマトでございます。

13ページ、フロメトキンを300 g ai/haの濃度で2回散布処理し、最終散布7日後に果実を、最終散布14日後に果実及び葉を採取いたしまして、植物体内運命試験が実施されてございます。

トマト試料における残留放射能分布は表6、トマト試料中の代謝物は表7に示してございます。

いずれの試料におきましても、残留放射能の主要成分は未変化のフロメトキン及び代謝物M1でございました。

ここで10行目のヘミセルロースのところにつきまして、本多専門委員、與語専門委員から「セ」が抜けているということで御指摘いただきました。ありがとうございました。

20行目、表7の脚注のところですが、與語専門委員からNDの「N」が切れているということで御指摘いただきました。ありがとうございました。

26行目、(2) キャベツでございます。

14ページの5行目から、キャベツ試料における残留放射能分布は表8、キャベツ試料中の代謝物は表9に示してございます。いずれの試料におきましても、残留放射能の主要成分は未変化のフロメトキン及び代謝物M1でございました。

14ページの19行目、(3) オレンジでございます。

15ページの2行目から、オレンジ試料における残留放射能分布は表10、オレンジ試料中の代謝物は表11に示してございます。いずれの試料におきましても、残留放射能の主要成分は未変化のフロメトキン及び代謝物M1でございました。

17行目、植物のまとめの部分でございます。植物におけるフロメトキンの主要代謝経路は、メチルカーボネート側鎖の加水分解による開裂（代謝物M1の生成）、それに続く酸化（代謝物M2の生成）であると考えられてございます。さらに、トマト及びキャベツでは代謝物M4が、キャベツ及びオレンジでは代謝物M3が生成したが、いずれも代謝物M1を経由して酸化的代謝を受けた代謝物であると考えられてございます。

5行目の3. 土壌中運命試験でございます。

(1) 好氣的土壌中運命試験でございます。

11行目、好氣的土壌における放射能分布は表12に示してございます。

非滅菌及び滅菌土壌のいずれにおいても、フロメトキンは速やかに分解され、主要分解

物としてM1が検出されてございます。

15行目から、非滅菌好気的土壌におけるフロメトキンの推定半減期は2.3日、分解物M1の推定半減期は544日と算出されてございます。

16ページの22行目、(2) 土壌吸着試験でございます。各土壌における吸着平衡時の吸着係数は94～460、補正した値につきましては4,750～135,000でございました。

17ページの2行目、(3) 土壌吸脱着試験（分解物M1）でございます。

6行目、各土壌における吸着係数及び脱着係数は表13に示してございます。

15行目、4. 水中運命試験でございます。

16行目、(1) 加水分解試験でございます。

21行目から、各緩衝液中における分解物の経時変化は表14、緩衝液中におけるフロメトキンの推定半減期は表15に示してございます。フロメトキンは各緩衝液中で速やかに加水分解を受け、分解物としてM1が生成されてございます。フロメトキンの推定半減期は、pH 4.0、7.0、9.0で、それぞれ2.5、10.8、2.1となっております。

18ページの5行目から(2) 水中光分解試験でございます。各供試水中における分解物の経時変化は表16、各供試水中におけるフロメトキン及び分解物M1の推定半減期は表17に示されてございます。いずれの供試水中においてもフロメトキンは光照射により極めて急速に分解されてございます。

14行目、暗所対照区においてもフロメトキンは経時的に減少し、分解物M1が増加してございます。

19ページの4行目、表17の分解物M1のフェノキシ標識体の滅菌自然水のところの数値につきまして、本多専門委員、與語専門委員から0.09ですということで御指摘いただきました。そのとおりでしたので、訂正いたしました。ありがとうございました。

9行目、5. 土壌残留試験でございます。結果は表18に示されてございます。土壌残留試験の推定半減期では、それぞれ約3日程度となっております。

18行目、6. 作物残留試験でございます。結果は51ページの別紙3に示されてございます。

21行目から、フロメトキンの最大残留値は散布3日後に収穫しただいこん（葉部）の8.29 mg/kg、代謝物M1の最大残留値は散布14日後に収穫した茶（荒茶）の1.64 mg/kgでございました。

26行目、フロメトキンを暴露評価対象化合物とした際に食品中から摂取される推定摂取量が表19に示してございます。

○西川座長

ここで一旦切りましょう。ありがとうございます。

それでは、8ページの25行目の数値29.6%に対して、玉井先生から29.5%のほうがよいのではないかと御意見が出ております。事務局の説明では、やはり29.6%のほうが正しいのではないかと回答があったのですが、玉井先生、お願いします。

○玉井専門委員

これは正しいというよりも整合性があるほうが良いと思って、最初は計算間違いかと思ったのですが、そうではないというのがわかったので、全体としては29.6で結構だと思います。

○西川座長

ありがとうございます。

9 ページの分布に関する表 2 について、10 ページの玉井先生から、投与168時間後についても0.02あるいは0.2未満であっても、その記載をしたほうがよいというコメントが出ておりまして、そのコメントに従って、表中に追記したということです。玉井先生、よろしいでしょうか。

○玉井専門委員

これもたくさんあるのはいいと思うのですが、これで言いたかったことは、一番上の肝臓が0.117という数値があったとして、これは蓄積性があるかどうかは全く判断ができないので、通常、血漿中濃度と比較して、それが高いときには蓄積があるかもしれないということを考えるので、必ずしも血漿中濃度が高いものを全部書いたらいいという意味ではなかったのですけれども、このへんはお任せします。

○横山課長補佐

先生のコメントについては十分理解しておりますが、評価書の記載上、では、途中の臓器はどうだったのだとわからなくなならないように、整理論上、書かせていただきました。

○玉井専門委員

わかりました。

○西川座長

よろしいでしょうか。ありがとうございます。

12ページの排泄の②胆汁中排泄について、13～14行目にかけて修正がなされています。1 つは、投与ではなくて吸収されたという表現に修正してはという玉井先生の御意見を取り入れて、既に吸収されたという表現になっております。

一方、14行目に確かに胆汁排泄を介して糞中に速やかに排泄されたという記載は、排泄という言葉が繰り返されているので、後のほうの排泄を移行という言葉にしてはどうかという山添先生の御意見が出ていたかと思えます。

まず、玉井先生、最終的な文案について御意見をお願いいたします。

○玉井専門委員

吸収されたを加えるのは適当かと思えます。山添先生の御意見の点は、むしろ胆汁を介して糞中に排泄されたのほうがいいのか、と思って聞いていました。

○山添委員

どちらでもいいです。

○玉井専門委員

では、胆汁を介して糞中に排泄されたということで。

○西川座長

13行目の胆汁排泄の「排泄」は削除して、あとはそのままということにしたいと思います。ありがとうございました。

この点は後で小腸の腫瘍が出てくるということにも関連するかと思うのですが、まだ毒性に入る前の段階ですけれども、山添先生、何かコメント等がございましたら、お願いいたします。マウスの小腸に腫瘍が発生することとの関連があるかないかについて、もし御意見があれば、お願いしたいと思います。

○山添委員

たまたまですけれども、これはマウスの代謝のデータがないので、よくわからないのですけれども、抄録のIX-16を開けていただきますと、ラットの代謝物のデータがあります。表7、胆汁中の放射性代謝物の同定というのがあります。今、気がついたのですけれども、そのところでM5、GAというのがある、そのM5というのがどういう構造をしているのかがIX-17ページを開けていただくと、右の一番上にある構造で、N-水酸化体です。これが胆汁だけに出てくるということを記載されていて、投与量当たりで10%程度と結構出ています。ひょっとすると、肝で代謝をされて、抱合されて消化管のほうに行って、加水分解がバクテリアで切られて、N-水酸化体が遊離することと関係している可能性があるのかなと考えています。

○西川座長

ありがとうございます。

それでは、毒性のところ、参考として検討させていただきたいと思います。

それでは、植物代謝と環境中の試験については、ほとんどコメントはいただいております。若干の記載整備だけですが、與語先生、本多先生、特に御意見はございませんか。

○與語専門委員

特に問題はありません。

○西川座長

ありがとうございます。

続きまして、一般薬理試験から慢性毒性試験の前まで説明をお願いいたします。

○小牟田専門職

それでは、御説明いたします。

評価書の20ページの8行目、7. 一般薬理試験でございます。

結果は表20に示されてございます。主な所見としましては、一般状態のFOB試験、Wistarラットでは、50 mg/kg体重以上の雌雄で軟便または下痢が認められてございます。

21ページ、循環器系の試験では、Wistarラットにおきまして、50 mg/kg体重以上で血圧低下が認められてございます。中枢神経系・自律神経系の試験におきましては、Wistarラットにおきまして、50 mg/kg体重で瞳孔径減少が認められています。腎機能の試験におき

ましては、Wistarラットにおきまして、50 mg/kg体重以上で尿浸透圧の低下が認められて
ございます。

22ページ、8. 急性毒性試験でございます。結果は表21に示されてございます。経口投
与のWistarラットで50 mg/kg体重以上において肛門周囲部被毛の湿潤及び軟便が認めら
れてございます。LD₅₀は50～300の間とされてございます。

9行目、代謝物/分解物/原体混在物M1並びに原体混在物M11、M12及びM13のラットを
用いた急性経口毒性試験が実施されてございます。結果は表22に示されてございます。い
ずれにおきましても、LD₅₀は2,000超となっております。

23ページの3行目、9. 眼・皮膚に対する刺激性及び皮膚感作性試験でございます。

4行目、ウサギの結膜炎に対して刺激性が認められましたが、投与48時間後までに消失
してございます。長野先生からコメントをいただいております、「皮膚に対して刺激性
が認められなかった」ことを追記した方が良いと思いますということで追記いたしました。

7行目、モルモットを用いた皮膚感作性試験におきましては、強い皮膚感作性があると
判定されてございます。

12行目、10. 亜急性毒性試験でございます。代田先生から御意見をいただいております。
28日反復経口投与毒性試験も掲載して下さい。ラット、マウスともに卵巣への影響が
認められていますということで、用量設定試験のため抄録には記載されてございませんが、
10の(1)、(2)として追記いたしました。病理組織学的検査が実施されていないため、
参考資料として現在は記載してございます。記載の必要性も含めまして、どのような取り
扱いにするか御検討をいただきたく存じます。

24ページ、28日間亜急性毒性試験（ラット）で認められた毒性所見といたしまして、300
ppm以上の雌で下垂体、胸腺、脾臓、卵巣及び子宮絶対及び比重量減少が認められてござ
います。

4行目、(2) 28日間亜急性毒性試験（マウス）の試験におきまして、その下の表で250
ppm以上投与群の雌マウスで卵巣絶対及び比重量減少が認められてございます。

25ページの2行目、(3) 90日間亜急性毒性試験（ラット）でございます。混餌投与に
より試験が実施されてございます。毒性所見は表24に示されてございます。本試験におき
まして、240 ppm投与群の雄で体重増加抑制等が、同投与群の雌で体重増加抑制、卵巣萎
縮等が認められましたので、無毒性量は雌雄とも120 ppmであると考えられてございます。

26ページ、先ほどの表24中のビリルビンにつきまして、山手先生から御意見をいただい
ております。T.Bil（総ビリルビン）の表現が一般的ではないでしょうかということで、こ
ちらは確認しましたところ、報告書のほうには尿検査の項目ではビリルビン、血液生化学
的検査の項目では総ビリルビンと記載されてございましたので、尿中ビリルビンというこ
とで記載いたしました。

続きまして、井上先生から御意見をいただいております。①雌雄のカルシウム減少、
雌のカリウム増加は、軽微な変化であるため削除して良いと思いますということで、削除

いたしました。

また、②体重や摂餌量の低下の程度から、卵巢/子宮の高度な重量低下や萎縮が起こりうるかを確認するため、卵巢（比重量37%）、子宮（比重量35%）重量の低下及び卵巢/子宮の萎縮の原因が体重増加抑制（13週目85%）及び摂餌量の低下（1～13週平均75%）である（抄録Ⅷ-28頁）とした根拠を申請者に確認したいと思います。マウス28日、90日試験やラットの28日及び1、2年の試験についても同様ですということで御意見をいただいております。

これに関しまして、机上配布資料1に卵巢及び子宮の萎縮が認められた過去の剤をデータとしてまとめたものを御用意させていただきました。後ほど御確認いただければと存じます。

26ページの2行目、代田先生から御意見をいただいております。卵巢の組織所見は、卵胞発育抑制と排卵の停止を示唆する変化です。子宮及び下垂体の所見はエストロゲンを分泌する卵状卵胞が減少したことによる変化の可能性が考えられますということで御意見をいただいております。

4行目、（4）90日亜急性毒性試験（マウス）でございます。混餌投与による試験が実施されてございます。毒性所見は表26に示してございます。本試験におきまして、250 ppm投与群の雄で体重増加抑制等、同投与群の雌で体重増加抑制及び卵巢萎縮等が認められましたので、無毒性量は雌雄とも125ppmとなっております。

27ページ、井上先生から御意見をいただいております。RBC数やHt値には変化が無く、数パーセントの軽微な変化なので、削除しても良いと思いますということで、削除いたしました。

続きまして、代田先生からマウスでの黄体の欠除がみられていますということで御意見をいただいております。

6行目、（5）90日間亜急性毒性試験（イヌ）でございます。カプセル経口投与による試験が実施されてございます。毒性所見は表27に示されてございます。本試験におきまして、2.5 mg/kg体重/日以上投与群の雌雄で嘔吐が認められたので、無毒性量は雌雄とも1.25 mg/kg体重/日であると考えられてございます。表27の2.5 mg/kg体重/日以上投与群の雌雄で嘔吐が認められており、雄のほうは2例で投与1週以降、4週以上発現。雌のほうは3例で投与1週以降、4週以上発現ということになってございます。

以上で、亜急性まで終了いたします。

○西川座長

ありがとうございます。

それでは、20ページの一般薬理試験については、コメントはいただいております。その試験の幾つかは急性参照用量のエンドポイントになる可能性があるということを事務局に説明していただきました。よろしいでしょうか。

急性毒性試験については、22ページの9行目に記載整備があるのみで、特に御意見はい

ただいております。この急性毒性試験も急性参照用量の候補になるということですので、後ほど御検討いただければと思います。

23ページの刺激性・感作性に関する試験で、5～6行目にかけて、刺激性に関する結論は書いていないので、長野先生から、皮膚に対する刺激性は認められなかったという一文を追記するという御提案がありました。これはごもった御意見かと思います。

12行目からの亜急性毒性試験について、代田先生から、ラット、マウスの28日間試験は予備試験といいますか、用量設定試験ですが、それらの試験においても卵巣への影響が認められるということから、追記したほうがよいという御意見が出ておりまして、現段階では追加された形になっております。ただし、23行目の脚注にありますように、これらの試験は病理組織検査をしていないので、参考資料として追記することが事務局より説明されました。

まず、これらの試験を追加することについて、御意見をいただきたいと思いますが、よろしく願います。長野先生、いかがでしょうか。

○長野副座長

やはり卵巣への影響がありますので、書いておいていいと思います。参考資料とするかどうかは、病理検査がないので参考資料でよいと思います。

○西川座長

ありがとうございます。よろしいですね。これは重要なデータかと思います。

25ページに行きまして、これはラットの90日間試験ですが、26ページに山手先生、井上先生、代田先生からコメントが出ております。

まず、ビリルビンの表記につきましては、事務局から説明がありましたように、血液の場合は総ビリルビンという表記をするのですが、尿に関しては単にビリルビンという表記でこれまで記載してきたということですので、修正なしで行きたいということですが、山手先生、いかがでしょうか。

○山手専門委員

頭に尿比重、その後にビリルビンとついているので、特に尿中にはなくても確かにわかります。ほかの血液データかと思って勘違いしました。

○西川座長

事務局案は尿中を追加するということですね。

○山手専門委員

尿中をつけていただければ、誤解はないかと思います。ありがとうございます。

○西川座長

そういうことですね。ありがとうございます。

それから、井上先生からは、カルシウムの減少とカリウムの増加について、軽微だから削除したほうがよいという御意見ですが、これについては抄録の該当ページを踏まえて、説明していただけますか。

○井上専門委員

抄録Ⅷ-24ページにこの検査の血清生化学データが出ておりますけれども、カルシウムについては雌雄とも最高用量群で2%あるいは5%の減少、カリウムも8%の増加ということで、有意ではあるけれども、軽微であるということと、これに関連するほかの変化がないと思いましたが、削除してもよいのではないかと考えましたが、既にもう削除をされておりますが、先生方の御意見を聞いてからと思います。

○西川座長

有意差はあるけれども、その変化の程度が軽微であるので削除してはどうかという御意見ですが、これは高い用量での変化ですし、変化の理由はよくわからないけれども、あえて削除する必要はないと私は思いますが、長野先生、いかがでしょうか。

○長野副座長

有意差がありますので、残しておいてもいいと思います。特にミネラルは、変化は大体少ないのが普通なので、採用したほうが安全だと思います。

○西川座長

山手先生、いかがですか。

○山手専門委員

先ほど参考資料とした24ページの表ですけれども、もし削除するとなると、この参考資料でありながらもカルシウムの減少とか、カリウムの増加というのがありますので、そこらへんの毒性の整合性を考える上においては、今、長野先生が言われましたように、このカルシウムとかカリウムは非常に軽微な変化しかしませんので、私はこのくらいの変化はかなり動いているかなという印象を持っていますので、残しておいたほうがいいのかと思います。

○西川座長

ありがとうございます。

それでは、残すという意見が多いので、そのようにしたいと思います。

井上先生の②について、卵巣及び子宮の重量の低下が体重の増加抑制等に起因しているという申請者の見解を確認したいという観点から、机上配布資料1を事務局で作成していただきました。この机上配布資料に基づいて、井上先生から説明をお願いできますか。

○井上専門委員

この試験及びマウスの試験もそうなのですが、体重あるいは摂餌量の減少が見られていることが子宮と卵巣の萎縮の原因であると考察されているのですが、例えばラットの90日試験ですと体重が13週目の240 ppmでは15%の減少であるという状態で、卵巣の比重量については37%まで落ちているという結構高度な重量低下だと思っていて、これが本当に15%程度の体重増加抑制で起こるのかどうかというのを確認するために、今までの資料で同じラットの試験で同じような減少があったものについて、体重と卵巣重量あるいは萎縮の起こり方についてをまとめてもらいました。

ここにチョイスした剤は私が調べた限りなので一部の剤だけかもしれないですけども、体重の増加抑制が見られて、かつ卵巢の有意な重量低下あるいは萎縮が見られたものを数剤ピックアップしたものです。剤によりますが、例えばピリフルキナゾンのラット90日試験において、体重が10%の低下で、卵巢については40%の低下ということで、予想よりも大きい卵巢重量の低下かなと思っています。

例えばトルフェンピラドについては、累積増加量が59%というのはよくわからないのですが、その59%落ちているのに卵巢の比重量は80%だから20%しか低下が見られないということで、これくらい体重が落ちれば、卵巢重量がこれくらい落ちるという一定の傾向が見られなかったので、困っているところですけども、私の知っている制限給餌をしたラットの試験で80%くらい、つまり20%の体重低下でも卵巢の萎縮は起きていないという試験もあったりするので、ほかの先生方の御経験なども踏まえて、果たしてこの卵巢の萎縮が体重の低下によるものかどうかを考えたほうがいいと思っています。

○西川座長

ありがとうございます。

机上配布資料で検討した剤は結構まちまちなので、総括的な見解はなかなか難しいと思うのですが、体重増加抑制が必ずしも卵巢・子宮重量の減少に直結していないであろうというような考察はできそうな感じです。したがって、申請者が主張している卵巢・子宮の萎縮が、体重増加抑制だけでは説明できないというような気がしています。この点について御意見をお願いいたします。

山手先生、いかがでしょうか。

○山手専門委員

体重増加抑制、もちろんその程度はありますけれども、私の印象では体重増加抑制が起ければ、胸腺、脾臓あるいはそのほかの臓器、主要臓器、肝臓等にも萎縮あるいは体重比の減少も起きてくるのではないかと。逆に体重比の減少は起きないかもしれませんが、そういう意味では確かに胸腺の萎縮はあるのですけれども、そのほかの臓器への体重減少の影響はないということを考えれば、卵巢の重量減少、比重量の減少は単純に体重減少の抑制だけではとらえられないというような印象を持っています。この試験全体を通じてです。

○西川座長

ありがとうございます。

長野先生はいかがでしょう。

○長野副座長

この90日間のラットの試験ですと、体重が対照群に対して85%、卵巢が体重比で37%です。先ほどの机上配布資料ですと、この中のトルフェンピラドは体重が59%まで下がっていますが、体重比が80%です。その下のモリネートも体重が64%で体重比が77%ですから、その体重の低下だけでは今回の37%という卵巢の重量低下は言えないと私は思います。

○西川座長

大体皆さんの御意見は一致したかと思います。できれば、この後、申請者のほうにこの点を確認したいと思います。それと関連して、26ページの2行目、代田先生から、卵巢の組織所見は卵胞の発育抑制と排卵の停止を示唆する変化であるということをコメントしていただいておりますので、これを含めて確認したいと思います。

原始卵胞についての変化が表中にデータとして書かれていないので、そのあたりも確認すべきかと思うのですが、三森先生、いかがでしょうか。

○三森委員

26ページの2行目のボックスですが、代田先生のコメントの後ろのほうで、生殖発生毒性試験でもF₁世代で親の雌で明らかに原始卵胞の数が減少しているということがありますので、この卵巢の萎縮は体重増加抑制などではなく、この剤が卵巢毒性を誘発している。それによって生じた変化とみなさざるを得ないと思います。

評価書の25ページの表24ですが、雌の240 ppmを見ると、卵巢の萎縮のところは大型卵胞の減少・消失と新世代黄体消失だけということで、その前駆細胞である原始卵胞がどうなっているかについては書いていないです。ですから、CROがそこまで見ているのか、見えていないのか。そこは重要なポイントになると思います。今日申請者がいらっしゃるので、そのときに聞いてみたらと思います。

○西川座長

ありがとうございます。

生殖発生毒性のところ、中塚先生からも原始卵胞の減少についてはコメントをいただいておりますけれども、それについては後でまた議論をしたいと思いますので、よろしくお願いいたします。

次が、マウスの90日試験、26ページからです。これについては井上先生から、ヘモグロビン、MCHC等は軽微な変化なので削除したほうがよいという御意見ですが、これについても抄録を踏まえて説明していただけますか。

○井上専門委員

抄録Ⅷ-33ページにデータが載っていますが、これらの3項目は6%、4%、9%という、有意ではあるけれども、軽微な低下なので、こちら書いてありますように、赤血球数とかヘマトクリット値には変化がないので削除してもよいかなと考えましたが、これについても先生方の御意見を伺ってからと思います。

○西川座長

先ほどと同様なコメントですけれども、ほかの毒性担当の先生方から御意見をいただきたいと思います。山手先生。

○山手専門委員

これもほかの試験では動いているのですね。ヘモグロビン、ヘマトの減少とか、そこらへんの関連を考えると最高用量でもあるということなので、数%と言われながらも、7%、

9%くらいのものもあるので、私は残しておいたほうがいいかと思います。

○長野副座長

有意差がありますので、残したらどうでしょうか。

○西川座長

という御意見ですので、ありがとうございます。

27ページの4行目に、代田先生からマウスでの黄体の欠如がみられていますと。これを追加するということですか。これはまだ反映されていませんね。

○井上専門委員

これは評価書たたき台には書いていないのですけれども、抄録か報告書に、この試験の卵巢の萎縮については、黄体の欠如があったというような記載がありました。

○西川座長

それを表の中に記載したほうがよいというコメントなのでしょうか。事務局で説明していただけますか。

○横山課長補佐

申しわけございません。代田先生の御真意を現段階で確認できておりませんので、もう一度、抄録や報告書の書きぶりを確認いたしまして、部会審議後、代田先生に確認していただきたいと思います。

○西川座長

わかりました。そのようにお願いいたします。

あとは特にコメントをいただいておりますが、これまでのところの毒性関係では、卵巢萎縮のメカニズムに関することについて、申請者に確認したいということになります。

それでは、慢性毒性及び発がん性試験について説明をお願いいたします。

○小牟田専門職

それでは、御説明いたします。

評価書の28ページ、11. 慢性毒性試験及び発がん性試験でございます。

(1) 1年間慢性毒性試験(ラット)でございます。混餌投与による試験が実施されてございます。毒性所見は表29に示されてございます。

29ページ、山手先生から、先ほどと同様のビリルビンについて御意見をいただいておりますので、こちらも尿中に訂正いたしました。

2行目、井上先生から①といたしまして、カルシウム減少(180 ppmの雌)は持続的ではあるものの軽微な変化であるため、削除して良いと思いますということで御意見をいただきまして、削除いたしました。

②としまして、90 ppmの雌で44週以降に持続的な体重増加抑制が認められていますが(抄録Ⅷ-49頁)、軽微な減少であり、摂餌量の減少を伴わない(抄録Ⅷ-50頁)、血液検査(赤血球系、抄録Ⅷ-52頁)や臓器重量(抄録Ⅷ-56頁)にほぼ影響がないことから、毒性影響としなくてよいと考えましたということで、前のページの表29の90 ppm以上投与群の

雌の体重増加抑制を1段上に上げてございます。

29ページにお戻りいただきまして、長野先生から体重と摂餌量の測定は週1回であることから、急性参照用量の根拠にしない方がよいと思いますということで御意見をいただいております。

28ページにお戻りいただきまして、本試験において180 ppm投与群の雄で体重増加抑制、90ppm投与群の雌でT.Chol及びTG減少が認められましたので、無毒性量は雄で90 ppm、雌で30 ppmということで、井上先生のコメントをもとに修文いたしました。

29ページの5行目、(2) 1年間慢性毒性試験(イヌ)でございます。カプセル経口投与による試験が実施されてございます。本試験におきまして、2.5 mg/kg体重/日以上投与群の雌雄で嘔吐が認められましたので、無毒性量は雌雄とも1.25 mg/kg体重/日であると考えられてございます。

表30の2.5 mg/kg体重/日以上の雌雄におきまして、雄の嘔吐は投与1週以降、8週以上で発現してございます。雌の嘔吐は投与1週以降、8週以上で発現してございます。後ほどARfDのエンドポイントとして御検討いただければと思います。

30ページ、井上先生からのコメントといたしまして、体重増加抑制及び摂餌量減少が見られた雌1例に関して、体重と摂餌量の二次的影響と考える骨髓有核細胞数の低値及び胸骨骨髓の造血低下を記載する必要性について、他の先生方の御意見を伺いたいと思いますということで御意見を頂戴しております。

長野先生からのコメントといたしまして、CD版報告書24頁、飼料嘔吐の個体別データをみると、雄の1.25 mg/kgは1日目に3/4匹に嘔吐の発生があり、単回投与による影響の可能性が高いと思います。ただし、イヌは嘔吐の感受性が高いので、急性参照用量のエンドポイントとするかどうかは検討した方がよいと思いますということで御意見をいただいております。

こちらは1日目ということで御意見をいただいておりますが、報告書のほうを確認しましたところ、1日目ではなく投与1週目でございますので、机上配布資料2のほうにイヌの嘔吐の90日と1年のデータを記載しておりますので、後ほど急性参照用量の設定の際とあわせまして、御確認いただければと存じます。

机上配布資料2の90日間慢性毒性試験が90年間になっておりましたので、申しわけございません。日に訂正してください。

評価書の30ページの3行目、(3) 2年間発がん性試験(ラット)でございます。混餌投与による試験が実施されてございます。

各投与群で認められた毒性所見(非腫瘍性病変)は表32、卵巣腫瘍の発生頻度は表33に示してございます。

31ページの10行目、山手先生から御意見をいただいておりますが、前のページの網かけ部分の表現につきまして、ラットの90日と1年間試験で卵巣萎縮と下垂体の好塩基性細胞肥大がみられているので、そのこともこの考察部分に記載する必要がある。すなわち、

検体の影響として、投与早期から他の試験でも見られる所見であることを強調する必要がある。また、子宮の異常所見との関連も考察する必要があるということで御意見をいただいております。

それを受けまして、卵巢萎縮及び下垂体好塩基性細胞肥大は他の試験でも認められていること、子宮及び膣の変化に関する報告書の考察を追記いたしました。

30ページにお戻りいただければと思います。先ほど追記した部分とあわせまして、11行目からでございますが、検体投与に関連した腫瘍性病変として、180 ppm投与群の雌において卵巢腫瘍（顆粒膜細胞腫、セルトリ細胞腫及び混合型性索間質腫瘍）の発生頻度の増加が認められた。ラットを用いた90日間亜急性毒性試験及び1年間慢性毒性試験においても卵巢萎縮及び下垂体好塩基性細胞肥大が認められており、この卵巢の良性腫瘍増加の機序としては、持続的な卵巢の萎縮によって下垂体の代償性反応（好塩基性細胞肥大）が起これ、分泌された下垂体前葉ホルモンの作用で卵巢が刺激を受けたもの、すなわち検体投与の二次的影響によるものと考えられた。また、膣や子宮角の変化については、卵巢の良性腫瘍増加によるホルモンのインバランスによる（三次的）影響と考えられた。ということでまとめてございますので、後ほど御確認いただければと思います。

32ページの2行目、井上先生からのコメントといたしまして、前のページの表32につきまして、①180 ppm投与群の雄：有意差はありませんが、対照群に比し低値傾向があり、各分画の減少がみられているので、WBCについて記載した方がよいと思います。②180 ppm投与群の雌：卵巢および子宮重量の増加は、増殖性病変の増加を反映した変化だと考えられているので、記載しなくても良いと思います。③雌90 ppm群の体重は、56週以降は有意な減少を認めず（抄録Ⅷ-69頁）、摂餌量の減少（軽度）も6週及び44週でみられただけ（抄録Ⅷ-70頁）であり、体重増加抑制による他の影響が認められないことから、毒性変化としなくてよいと考えました。ということでございましたので、これにあわせまして、31ページの表及びその前のページの本文のほうを修正してございます。

31ページ、山手先生のコメントにお戻りください。2番目としまして、山手先生のほうから申請者に確認したい事項として御意見をいただいております。

①子宮の異常所見との関連性についての考察、②下垂体の免疫染色を施し、どのようなホルモンを分泌する細胞が肥大しているのか明らかにしたほうが「二次的影響」の根拠になる、③マウス90日試験でも卵巢萎縮がみられているのが、下垂体の変化がない理由、マウス発がん性試験では、卵巢萎縮と下垂体に変化がみられない理由、イヌでは卵巢と下垂体に変化がない理由について、どのように考えるか、④雄の生殖器や下垂体に変化がない理由をどのように考えるか、ということで、申請者に質問した事項がまとめられてございます。

32ページ、長野先生から申請者に確認したい事項といたしまして、卵巢の萎縮及び卵巢腫瘍増加の発生機序とその根拠について、申請者に質問した方がよいと考えますということで御意見をいただいております。

2行目、井上先生から申請者への質問といたしまして、ラットやマウスの卵巣/子宮の萎縮が体重や摂餌量の減少に起因すると考えた根拠を示すよう求めます。その際に、同試験機関で実施された別の試験での体重と摂餌量の変化と子宮/卵巣重量や萎縮の発生頻度について例示してもらってもよいと思いますということで質問事項をいただいております。

3行目、代田先生からの御意見といたしまして、卵巣腫瘍増加の機序に関する考察（網結果部分）についてですが、この考察は卵巣腫瘍の増加についてのみの考察で、その原因である卵巣傷害を考察していません。原始卵胞を傷害する化学物質の中に、ベンツビレンや4-VCHなどこのような腫瘍を発生させるものがあります。繁殖試験では100 ppmで原始卵胞の極端な減少が認められています。卵巣に対する影響には種差もあるようなので、最終毒性物質と卵巣組織での標的の特定は人への外挿を考える上でも必要ではないかと考えますということで御意見をいただいております。

5行目、(4) 18か月間発がん性試験（マウス）でございます。混餌投与による試験が実施されてございます。

33ページの4行目、各投与群で認められた毒性所見は表35、雄マウスにおける小腸腺癌の発生頻度は表36に示してございます。

34ページ、山手先生から申請者への質問事項といたしまして、小腸腺癌に関して、前腫瘍性の変化はないのか。なぜ、マウスのみにみられたのかということで御意見をいただいております。

井上先生から、雌雄90 ppm群の体重増加抑制は、多くのタイムポイントで有意に減少しているものの軽度であり、摂餌量の減少や他の毒性影響を伴わないことから、削除しても良いと思いますということで御意見をいただいておりますので、前のページの表35の雌雄の体重増加抑制につきまして、1段上の180 ppmに移動いたしまして、それに合わせて本文のほうも修正してございます。

以上で、慢性毒性は終了いたします。

○西川座長

ありがとうございます。

それでは、28ページから行きます。幾つか修正案が出ておりまして、29ページに各専門委員からのコメントが出ております。

1行目からのビリルビンについて、これはもう既に解決済みだと思います。

2行目の井上専門委員からのコメントで、カルシウムの減少について軽微な変化であるから削除してよいということですが、先ほどと同じように残すということでいいですか。ありがとうございます。

②が90 ppmの雌の群で見られた体重増加抑制について、幾つかの理由から毒性影響としないほうがよいのではないかという御意見ですが、とりあえず抄録を踏まえて説明をお願いできますか。

○井上専門委員

この群の体重については、Ⅷ-49ページに表がありますがけれども、雌の90 ppm群については16週目と44、48、52週目で有意な体重減少が見られますが、4%あるいは5%という軽微な変化で、かつ、最後のタイムポイントは持続的ですがけれども、散発的かなと思っています。

この群に関して、摂餌量については隣の50ページに書いてありますがけれども、この群の摂餌量には有意な変化は見られていない。例えば血液に関しては最高用量群のように体重が減っていると赤血球系の変化があったのですが、それもない。臓器重量の変化もほぼ見られないということから、一時的で軽度な体重増加抑制はとらなくてもいいのではないかと考えましたが、先生方の御意見を伺います。

○西川座長

ありがとうございます。

この雌の90 ppm群における体重増加抑制のデータを見ますと、確かに継続的なものではないということと、抑制の程度が軽度であるということ。摂餌量の減少とリンクしないというようなところから削除という御意見ですが、長野先生、御意見をお願いします。

○長野副座長

42週以降で有意差がありますので、採用していいと思います。摂餌量の変化はなくても毒性で下がることがありますので、理由にはならないと思います。

○西川座長

山手先生はいかがでしょう。

○山手専門委員

散発的と言われたのですがけれども、今、長野先生が言われましたように、投与の後半には連続して出ているというところは少し重要な所見かと思いますので、下に注釈もありますけれども、表29の注釈を残す形で体重増加抑制は残しておいたほうがいいかなと思います。

○西川座長

ということで、ちょっと微妙なところはあるのですが、皆さんの御意見はこのまま体重増加抑制を表29に残すということですので、そのようにしたいと思います。ありがとうございます。

3行目から長野先生のコメントで、体重と摂餌量の測定が週1回であるので、この試験における体重増加抑制は急性参照用量の根拠にしないほうがよいという御意見です。もったいな御意見だと思いますので、頭の隅に置きながら審議を進めたいと思います。ありがとうございます。

29ページの5行目から、イヌの試験について。

30ページに井上先生から、体重増加抑制等が見られた雌の1匹について、二次的な影響と考えられる骨髓の変化があるので、それを記載したほうがよいのではないかと御意見ですが、これも抄録を踏まえて、井上先生、説明していただきますか。

○井上専門委員

4 例中 1 例だけではあるのですけれども。

○西川座長

何ページですか。

○井上専門委員

抄録は63ページで、雌の最高用量群で63ページの文章中に5 mg/kg群の雌で1頭でというところから始まる文章ですけれども、骨髓有核細胞数の低値、それに関連すると思われる胸骨骨髓の造血低下という記載があって、これは体重や摂餌量の変化の二次的変化であろうと考えられているのですが、前回の剤のときに二次的変化も有効であれば、記載するというようなお話があったので、今回についても載せてはどうでしょうかという御提案です。

○西川座長

ありがとうございます。

それでは、他の専門委員の御意見を聞きたいと思います。長野先生、いかがでしょうか。

○長野副座長

1 例なので、採用しなくていいのではないのでしょうか。

○西川座長

そうですね。必ずしも体重増加抑制が骨髓の変化に関連しているかどうかまでは言えないような気がします。

山手先生、いかがでしょうか。

○山手専門委員

私はこの所見に気づかなかったのですけれども、井上先生が言われているのは、確かに申請者は考察によっては体重減少に伴うとありますが、ただ、この剤はほかの動物ではヘモグロビン、ヘマトクリットの減少とか貧血傾向が伺えます。そういう意味ではイヌの5 mgの1例であっても、体重は毒性とは関連しないという考え方で、私はこれは採用したほうがいいかなという印象を持っています。そこを含めて議論していただければと思います。

○西川座長

ただし、血液学的に貧血の兆候はないですね。そういう点を踏まえると、可能性はあるかもしれないけれども、あえて追加して記載する必要はないような気がします。

○山手専門委員

そういう議論をしていただければ、特に載せないということで結構かと思います。

○西川座長

というようなことにしたいと思います。ありがとうございます。

それでは、30ページの1行目に長野先生のコメントがあって、先ほど事務局から説明がありましたように、嘔吐というのは1日目ではなくて1週目の成績であるということですので、したがって、急性参照用量のエンドポイントにする必要はないということによろし

いでしょうか。

○長野副座長

そうです。

○西川座長

ありがとうございます。

30ページからのラットの発がん性試験について、これには結構大きなコメントが出ておりまして、まず、卵巣の腫瘍の発生が増加していることについて、山手先生、長野先生、井上先生も関連するのですけれども、皆さんからそのメカニズムについて、特に卵巣の萎縮との関連について確認したいというようなコメントが出ておりますので、申請者に直接確認したいと思います。

あとの点としては、山手先生、31ページの10行目からですが、卵巣の萎縮と下垂体の好塩基性細胞肥大との関連について、強調したほうがよいということで、30ページの11～17行目の中に記載が盛り込まれていると思います。

まず、30ページの11～17行目の記載ぶりについて、山手先生、御意見をお願いします。

○山手専門委員

卵巣の萎縮というのは、このラットの発がん性試験に限らず、ほかの試験でもあるということを示し加えたほうが、この卵巣への毒性が読みやすいのかなと。この剤の特性として読みやすいのかなということで、13～14行のアンダーラインのところを加えていただいたということですね。これに関しては、私はこの形がいいかなと思います。

ただ、17～19行目の子宮の変化についても卵巣との関連を、ということですが、これは後で申請者の方が来られるので、卵巣の萎縮と子宮との関連について、やはり影響があるというお考えがあるのでしたら、これでいいと思うのですけれども、農薬抄録を見る限りでは、検体投与の影響ということの変化はありますが、卵巣腫瘍のことは書いていないので、ここの部分についてはペンディングというか、残す必要はないのかなと思っています。

○西川座長

ありがとうございます。

17～19行目のまた、膣と子宮角の変化については、それを卵巣腫瘍と関連づけていることについて、これでいいかどうかということですね。できれば書かないほうがよいという御意見ですね。わかりました。

ただいまの点について、長野先生、いかがですか。

○長野副座長

この卵巣腫瘍の発生の原因となる卵巣の萎縮、そちらのほうが重要なので、申請者からの意見を聞いて、その上で考え直したほうがいいと思います。

○西川座長

わかりました。卵巣萎縮のメカニズムに関する見解を聞いた上で、この文章をこのまま

残すか、あるいは削除するか、修正するかを決めたいと思います。

31ページの山手先生の2.の②で、下垂体の免疫染色をして、ホルモン分泌する細胞が何か明らかにしたほうが、二次的影響の根拠としてよいのではないかという御意見ですが、これについては山手先生、いかがですか。

○山手専門委員

申請者のほうに聞きたいなというだけで、ひょっとするとデータを持っておられるのではないかという、それだけのことです。

○西川座長

ありがとうございます。

そうしますと、③のマウスで卵巢萎縮があっても下垂体の変化がないということと、マウスの発がん性試験で卵巢萎縮と下垂体の変化がない。それから、イヌでも卵巢と下垂体に変化がない。これらについても確認すると。

○山手専門委員

これは動物種差も存在するのかということも含めて。

○西川座長

雄の生殖器や下垂体の変化がないという理由についても、あわせて申請者に確認することですね。ありがとうございます。

32ページの井上先生のコメントの①について、白血球の減少を追加したほうがよいということで、これも抄録を踏まえて説明をお願いします。

○井上専門委員

抄録はⅧ-72ページの上の表になります。雄の180 ppm群で好中球などの各分画が有意に減少しているということでたたき台に記載があるのですが、この分画だけではなくて、白血球数も低値傾向にあったと思いますので、白血球の減少傾向及び各分画の減少というように両方書いたほうがよいと思ってコメントをしました。

○西川座長

白血球については傾向しかなかったということで、分画とはいえ、好中球が減少しているということから、おおむね予想はできることだと思うのですが、何度も振ってすみません。長野先生、いかがですか。

○長野副座長

白血球系の変化は今までの試験では出ていないです。そういう意味で、多分偶然の変化のように思います。有意差の出ている好中球だけを一応書いておいたらどうでしょう。

○西川座長

山手先生、いかがですか。

○山手専門委員

このⅧ-72ページですが、再検定で有意差なしというのはどういうことなのか。全体を読めば、何かその理由があるのかもしれませんが、分画を見るだけでもある程度所見

が読みとれるので、もし有意差がないのであれば、これはラットの試験なので書かなくてもいいかなと思います。

○西川座長

皆さんの御意見は新たに追加する必要がないということです、そのようにしたいと思います。ありがとうございます。

32ページの井上先生の②のコメント、卵巣及び子宮重量の増加は増殖性病変の増加を反映しているので、あえて記載しなくてもよいのではないかとありますが、必ずしもそうとは言えないですね。増殖性病変があっても重量の増加が伴わない場合もありますので、別のパラメータという観点から、やはり記載すべきと思いますが、いかがですか。

長野先生、どうぞ。

○長野副座長

確かに所見として、卵巣の萎縮がありながら重量が増えるというのは、確かにおかしい内容ですね。そういう意味で、どちらにしてもいいのかなと思っています。

○西川座長

むしろ増加しているということが、意味があると思います。ほかの試験との整合性を持たせる必要はない気がします。

山手先生、いかがですか。

○山手専門委員

これは難しいところがあると思います。卵巣に腫瘍がありましたので、それを反映して増加したという。ただ、卵巣の腫瘍が全個体にあったわけではないので、それを総じて増加ということが毒性所見であるのならば、逆に削る理由が、腫瘍以外のことも考えられるということを考えれば、削る理由がなくなるので、残しておいたほうがいいのかという気がいたします。

○西川座長

そういうようなことで、大勢は残したほうがよいということです、そのようにしたいと思います。

次に③体重増加抑制について、雌の90 ppm群で56週以降、有意な減少であるけれども、これは結論的に毒性としなくてもよいのではないかと御意見ですが、これも抄録を踏まえて説明をお願いします。

○井上専門委員

体重についてはⅧ-69ページに載っていますけれども、雌の90 ppmの有意に体重が減少したのは一番遅くても52週までで、それ以降は有意な変化は認められていません。私の考察では、摂餌量の減少が見られないし、というようなことも書いたのですが、さっきの長野先生のコメントにあったように、餌のことは関係ないということがあったにしても、試験前半の一時的な軽度な体重増加抑制は、この場合はとらなくてもよいのではないかと考えています。

○西川座長

ただし、52週まで90 ppmの群でも増加抑制が認められるということで、通常の慢性毒性試験の期間において有意な体重増加抑制があったということだと思うのですが、したがって、あえて90 ppm群の雌の体重増加抑制を削除する必要はないかと思うのですが、御意見をお願いします。

長野先生、いかがですか。

○長野副座長

やはり52週までは継続的に有意な低下がありますので、その体重増加抑制は90 ppmまで記載しておいたほうがいいと思います。ただし、餌のほうですけれども、摂餌量については本当に散発的な変化なので、これは井上先生のおっしゃるとおり、削除をしたほうがいいと思います。

○西川座長

ありがとうございます。

体重増加抑制は残すけれども、摂餌量の減少は削除という御意見です。

山手先生、それでよろしいでしょうか。

○山手専門委員

結構です。

○横山課長補佐

雌の餌は180 ppmに移動でよろしいですか。

○西川座長

上に移動するということですね。ありがとうございます。

あとは特にこの2年間のラットの発がん性試験で積み残しはなかったと思うのですが、事務局、それでよろしかったでしょうか。

三森先生、どうぞ。

○三森委員

1点よろしいですか。先ほどの原始卵胞のことですが、ラットの2年間発がん性試験では卵巣の萎縮という形でしか所見をとっていないような感じです。原始卵胞がなくなってしまうと、当然、胞状卵胞はないわけですから、エストロジェンは産生されてこないわけです。ネガティブフィードバックで下垂体からFSHが分泌されるというストーリーで卵巣腫瘍が誘発されたと認識できるのですが、この報告書では180 ppmで卵巣萎縮がありますけれども、その下の90 ppmで原始卵胞の数を数えているのか、いないのか。もし原始卵胞の数が90 ppmでも減っているのであれば、これは毒性ととらざるを得ないと思います。これを申請者に聞くことはできないでしょうか。

○西川座長

ぜひ確認したいと思います。卵巣の所見のない90 ppm群での確認ですね。原始卵胞がどうだったかということについては確認したいと思います。ありがとうございます。

32ページの5行目から、マウスの発がん性試験があつて、これについても幾つかのコメントが出ております。

34ページの山手先生のコメントは、小腸に腺癌が発生しているのですが、前腫瘍性の変化があつたか、なかったか。なぜマウスのみに見られたのか。これは前腫瘍性病変だと思うのですけれども、ということを確認したいということです。これはぜひ確認したいと思います。

井上先生からは、これも体重増加抑制について有意な減少があるものの、程度は軽度であつて、他の影響を伴っていないので削除してよいと。先ほどと同じようなパターンですけれども、これもとりあえず抄録を踏まえて説明をしていただけますか。

○井上専門委員

体重の変化については、Ⅷ-94～95に載っています。90 ppm群については投与初期から継続的に、一部は散発的な部分もありますけれども、有意な体重増加抑制が見られていますが、いずれも10%前後の軽度な変化であるということと、摂餌量の96ページを見ると、こちらでも雄だと90 ppm群は1週目のみ、雌だと4週目のみで軽度で有意な減少が見られただけだったので、今までと同様にこの群の体重と餌の変化は消してもよいのではないかと考えていますが、ほかの先生の御意見をお願いします。

○西川座長

摂餌量とは必ずしもリンクしなくてもよいということは先ほど合意していただいたとおりですけれども、結論的に表35の90 ppm投与群、雌雄での体重増加抑制を削除していいかどうか。削除して上の180 ppmに移していいかどうかということについて御意見をしたいと思います。

長野先生、お願いします。

○長野副座長

資料ですとⅧ-94～95ページに表が出ておりますが、雌のほうは90%前後まで落ちておりますので、これは明らかに体重増加抑制があります。雄のほうも途中だけですけれども、長期間にわたって90%をやや超えるところで抑制がありますので、これも採用しておいたほうがよいと思います。

○西川座長

雌雄とも残すということですが、山手先生はいかがでしょう。

○山手専門委員

私も逆にこれをとらないという理由は、なかなか説明がつかないのではないかと思います。10%近くの体重減少は毒性としてとらえたほうがいいかなと思います。

○西川座長

ありがとうございます。

そういうことにしたいと思いますので、よろしくお願いします。

以上で慢性毒性・発がん性までの議論は終了したかと思えますけれども、積み残しはな

いですね。

それでは、生殖発生毒性試験について、説明をお願いいたします。

○小牟田専門職

評価書の34ページの4行目、12. 生殖発生毒性試験でございます。

(1) 2世代繁殖試験(ラット)でございます。混餌投与による試験が実施されてございます。各投与群で認められた毒性所見は表38に示してございます。

21行目から、中塚先生から御意見をいただいております。最終報告書および農薬抄録の記載されている文章そのものですが、「F₁雌では原始卵胞数減少が認められ、」という書き方は誤解を招くと思います。原始卵胞数の減少はP世代の雌でも認められており、当該試験では、F₁雌についてのみ数を計測したに過ぎません。この文章がなくても、直前の考察は可能であるということで、本文中の15～21行目を削除しておりますが、この中に原始卵胞数減少の記載もございますので、先ほどの御意見等もあわせまして、記載ぶりについて御確認いただければと存じます。

35ページ、本試験において親動物では100 ppm投与群のF₁雄及び50 ppm投与群のF₁雌で体重増加抑制が認められ、児動物では50 ppm以上投与群のF₂児動物で胸腺絶対及び比重量減少が認められたので、無毒性量は親動物の雄で50 ppm、雌で25 ppm、児動物で25 ppmであると考えられてございます。100 ppm投与群で妊娠期間の短縮等が認められたので、繁殖能に対する無毒性量は50 ppmとされてございます。中塚先生から、本文中に修正をいただいております。

13行目、中塚先生から御意見を頂戴してございます。①といたしまして、表中の原始卵胞数減少につきましては、削除したほうがよいと思いますということで御意見をいただいております。

②といたしまして、表中の児動物の体重増加抑制につきましては、体重増加抑制ではなくて、低体重のほうがよいと思いますということで、報告書及び抄録のほうも体重増加抑制という記載はしていませんということで御意見をいただいておりますので、低体重と修正させていただきました。

36ページ、(2) 発生毒性試験(ラット)でございます。Wistar Hannoverラットの妊娠6～19日に強制経口投与し、試験が実施されてございます。毒性所見は表39に示されてございます。本試験におきまして、7.5 mg/kg体重/日投与群の簿動物で死亡等、胎児で低体重等が認められたので、無毒性量は母動物及び胎児とも5.0 mg/kg体重/日であると考えられてございます。催奇形性は認められなかったとされてございます。

12行目、【事務局より】といたしまして、7.5 mg/kg体重/日投与群において、投与期間を通して体重増加抑制が認められ、体重増加量では妊娠6～9日に有意差がみられましたが、妊娠9日の体重では有意差が認められなかったため、ARfDのエンドポイントとはしませんでしたということにつきまして、中塚先生から御意見をいただいております。

7.5 mg/kg体重/日投与群では、対照群に比べ、妊娠6～9日の体重増加が70%抑制され

ています。統計学的有意差も認められています。一方、妊娠9日の体重値に有意差がなかった（対照群平均値の240 gに比べ、234 g）とのことですが、投与開始日である妊娠6日の体重が対照群の方が軽かったことが原因と考えられます。したがって、ARfDのエンドポイントになりえると考えますということで御意見を頂戴しております。

代田先生からの御意見につきましても、エンドポイントとしてよいと考えますということで頂戴しております。

14行目、(3) 発生毒性試験（ウサギ）でございます。日本白色種ウサギの妊娠6～27日に強制経口投与し、試験が実施されてございます。毒性所見は表40に示されてございます。本試験におきまして、1.2 mg/kg体重/日以上投与群の母動物で死亡が認められましたが、胎児にはいずれの投与群でも毒性所見は認められなかったもので、無毒性量は母動物で0.8 mg/kg体重/日、児動物で本試験の最高用量2 mg/kg体重/日であると考えられてございます。催奇形性は認められておりません。

9行目、【事務局より】といたしまして、2 mg/kg体重/日投与群の母動物において、妊娠6～9日に有意差はないものの体重減少があったため、ARfDのエンドポイントとしましたということにつきまして、中塚先生から、前回のトリアファモンの専門会議では、有意差がない体重増加抑制はARfDのエンドポイントとはしないという結論になりました。今回は、体重増加抑制ではなく体重減少ですので、よりシビアに評価したのかもしれませんが、バラツキの大きいウサギでの体重減少であること、対照群でも同時期は体重が減少していること（対照群：-1 g、低用量群：-1 g、中用量群：+16 g、高用量群：-34 g）、しかも有意差がないことから、毒性所見とすることに抵抗があります。-34 gという数字は大きそうですが、平均で3.5 kgのウサギですので、1%以下の減少です。前回と同じ判断基準に基づいて、ARfDのエンドポイントとすべきではないと思いますということで御意見をいただいております。

代田先生からも、ラットの方をエンドポイントとするべきだと考えますということで御意見をいただいております。

長野先生から御意見をいただいております。発生毒性試験（ラット）と発生毒性試験（ウサギ）の親動物の体重の測定日は初回投与日である6日の次は9日であり、単回投与による影響とするための信頼性が弱いと思います。これまでの評価書において、このような体重の測定頻度の場合でも急性参照用量の設定根拠にしていたかどうか確認をお願いしますということで、こちらは事務局のほうで確認しましたところ、フェノチオカルブでは1週ごとの体重測定でARfDの設定根拠の試験としておりまして、ジフェノコナゾールでは投与3日後の測定でエンドポイントとして表のほうに記載してございました。御紹介させていただきます。

以上で、発生毒性まで終了です。

○西川座長

ありがとうございます。

34ページのラットの繁殖試験からです。表38にまとめられていますが、35ページの13行目から中塚先生のコメントがあって、表38のF₁の雌における原始卵胞の減少は削除したほうがよいという御意見です。

中塚先生、補足をお願いします。

○中塚専門委員

残してもいいのですけれども、残すなら方法を書いてください。F₁だけ測ったということですね。それであれば、残しておいて結構です。そうでないと、F₀にないのがF₁に出ていると見てしまうので。

○西川座長

それについては申請者に確認したいと思います。

35ページの13行目の②のコメントですが、体重増加抑制について、これは低体重のほうが適切かと思いますので、そのように修正したいと思います。ありがとうございました。

36ページのラットの発生毒性試験について、7.5 mg/kg体重/日の投与群の体重増加抑制を急性参照用量のエンドポイントにしなかったけれども、それでよいかという伺いが出ていますが、中塚先生、代田先生からは、エンドポイントにしてもよいという御意見が出ております。したがって、そのような取り扱いをしたいと思うのですが、中塚先生、補足説明をお願いできますか。

○中塚専門委員

書いてあるとおりで、特にないのですけれども、代田先生も賛成していただいてよかったです。

○西川座長

では、そのような取り扱いをしたいと思います。

36ページからのウサギの発生毒性試験について、37ページに事務局から、これも最高用量の2 mg/kg体重/日投与群の体重減少を急性参照用量のエンドポイントとしたけれども、それでよいかということについて、結論的に言いますと、中塚先生、長野先生も恐らくそうだと思いますが、代田先生から、ウサギの試験での体重減少は急性参照用量のエンドポイントとしては不適切であるという御意見が出ておりますので、結論としてはそのようにしたいと思うのですが、中塚先生から結構詳細なコメントをいただいておりますので、何か補足がありましたら、お願いします。

○中塚専門委員

本当に生データを見ていただくとばらつきがすごく大きいので、そのせいで有意差がないので、これは変化としてとるべきではないと。

○西川座長

ありがとうございます。

長野先生、いかがですか。

○長野副座長

私のほうは、最初の測定が9日なので、急性参照用量のエンドポイントとしていいかどうか、事務局に確認したところです。今までの剤でもエンドポイントにしているということなので、承知しました。

○西川座長

ありがとうございます。

続きまして、遺伝毒性試験について説明をお願いいたします。

○小牟田専門職

それでは、評価書の37ページの11行目、13. 遺伝毒性試験でございます。フロメトキンの細菌を用いた復帰突然変異試験、チャイニーズハムスター肺由来細胞を用いた染色体異常試験並びにマウスを用いた小核試験及びコメット試験が実施されてございます。結果は表41に示されてございます。全て陰性であったことから、フロメトキンに遺伝毒性はないものと考えられてございます。

38ページの6行目、森田先生から御意見をいただいております。表中の処理濃度・処理量につきまして、用量が包含されているため、1回目、2回目を記す必要がないとの判断あるいはルールでしたら、無視してくださいということで御意見をいただいておりますが、特にルール等はございませんので、1回目、2回目を併記したほうがわかりやすいということで併記いたしました。

②といたしまして、申請者への質問事項としてコメットを肝臓、十二指腸、回腸で実施しています。推察することはできますが、なぜそれらの臓器を用いたのか、その選択理由は何かということで申請者へ質問したい事項が寄せられております。

佐々木先生から、遺伝毒性の項目について、コメットアッセイも含めすべて陰性で、特段のコメントはありませんということで御意見を頂戴してございます。

8行目、代謝物/分解物/原体混在物M1並びに原体混在物M11、M12及びM13の細菌を用いた復帰突然変異試験が実施されてございます。試験結果は表42に示されているとおり、全て陰性でございました。こちらの表も先ほどの森田先生からの御意見を頂戴いたしまして、修正してございます。

以上で、遺伝毒性は終了いたします。

○西川座長

ありがとうございます。

全体として細かい追記があるのみで、全体的な結論としては特に御意見をいただいていたなかったと理解しています。

38ページの6行目からの森田先生のコメントで、処理濃度及び処理量について、表41及び42に追記がなされたということです。これについては適切に修正されていますでしょうか。

○森田専門委員

適切に追加されております。もう一つ、私のほうでの追記忘れがあったのですが、

*in vivo*のコメット試験の処理濃度・投与量のところに21時間間隔で2回強制経口投与とあるのですが、その後にカンマをして、最終投与後3時間を入れてもらえればと思います。サンプリングタイムは非常に重要なインフォメーションですので、よろしくお願いいたします。

○西川座長

ありがとうございます。

表41の一番下の処理濃度・投与量のところで、括弧の中の最後のほうに追記ということですが、よろしいですね。

森田先生の②のコメントは、発がん性試験で小腸に腫瘍が発生したということで、十二指腸、回腸はいいと思うのですが、肝臓については選択理由を確認する必要があるということでしょうか。

○森田専門委員

恐らく肝臓は特に所見は実験動物では認められていないのですけれども、一般的にこういう試験では見ているからというところだとは思いますが、実際になぜ肝臓を選択したのかということです。あと、所見の認められた小腸は採用していないので、その理由も含めてという意味合いです。

○西川座長

回腸は小腸の一部ですね。

○森田専門委員

小腸全体。

○西川座長

広く言えば十二指腸も小腸と考えますね。多分、肝臓というのは、通常コメットアッセイで選択される臓器ではないのですか。

○森田専門委員

もちろん一般的に一番評価がされているので、試験がちゃんとやられているということも踏まえて、恐らく見ているかとは思いますが、例えばポジティブコントロールもそれを置いてあると思うのですが、実際にケミカルの剤の所見としては、さほど見る必要はないのではないかなと。

○西川座長

ですよね。これは既に質問を申請者に出していると思いますので、回答いただけるものと思います。ありがとうございます。

佐々木先生から、全て陰性で特段のコメントはないということですが、何か特にありますか。

○佐々木専門委員

1つ教えていただければと思うのですが、一般に小腸と言うと、十二指腸、空腸、回腸ですね。この場合は空腸をやっていないのですが、どうでしょうか。私はよくわから

なかったのですけれども。

○西川座長

申請者の見解を代弁するわけではないですけれども、空腸と回腸はつながった臓器であって、特に組織構造上もそれほど違いはないです。

○佐々木専門委員

片方をやれば別に問題ないと。

○西川座長

どちらかを選んでやればいいのではないかと勝手に解釈しています。

○佐々木専門委員

わかりました。私はコメントを送ってから思ったのですけれども、せっかくコメントアッセイまでやったのですね。むしろコメントアッセイは遺伝毒性というよりは、この次の発がんメカニズム試験の一環としてやっていると思います。ですから、せっかくやっているの、という言い方も変なのですが、このところに小腸腺癌は遺伝毒性メカニズムではない可能性が高いとか、どこかに一言入れておいてはいかがでしょうか。

○西川座長

三森先生、どうぞ。

○三森委員

佐々木先生にお伺いしたいのですが、マウスで発がん標的が十二指腸と回腸ですね。コメントでは2回投与で陰性ですが、これは先ほど山添先生がおっしゃったように、代謝物がキノリン骨格を持っている。キノリンですので、当然、粘膜刺激性があるし、遺伝毒性もあります。例えば反復投与をより長くした場合は、陽性となるということは考えられますか。

○佐々木専門委員

私のわずかな経験ですけれども、逆です。むしろフィーディングでやった場合のほうが出にくくなります。

○三森委員

強制経口で反復で例えば1週間くらい投与してから見るということは、実施する必要はないですか。

○佐々木専門委員

それはないと思います。やるのであれば、せっかくという言い方は変なのですけれども、これは発がん試験がフィーディングですね。ですから、フィーディングで、次の項目のメカニズム検討試験のところで消されてしまっているのですけれども、刺激性の持続というのに引っかかって、今、三森先生が言われたように、もしかしたら刺激性の持続が。

○三森委員

これは相当刺激性が強いです。

○佐々木専門委員

あるのかなと思って、それだったら、フィーディングでやったほうがいいのかという気がします。フィーディングでボジに出るかなという気はしたのですが、昔のデータを引っくり返してみたのですが、やはりキノリン系でもフィーディングのほうが出なかったです。

○三森委員

そうすると、2回投与で陰性ということで担保できますね。

○佐々木専門委員

私は十分だと思います。

○三森委員

わかりました。

○佐々木専門委員

100%と言われるとあれですけども。

○西川座長

ありがとうございます。

どうぞ。

○森田専門委員

あと1点追加ですけども、先ほどのキノリン関係の代謝物ということで、山添先生からのサジェスチョンで、代謝物というか不純物と混在物の試験でAmes試験をM1とM11とM12とM13についてされているのですが、N-水酸化体であるM5についてやっていない。しかも、その物質はTARが5%を超えているということなのですが、それを実施していない理由は何かということをお申請者に質問したいと思います。

○西川座長

M5のAmes試験を実施していない理由ですね。事務局、今、何か説明はできますか。なければ、申請者に確認したいと思います。ありがとうございます。

続きまして、その他の試験について、説明をお願いいたします。

○小牟田専門職

評価書の39ページの5行目、14. その他の試験、(1) 発がんメカニズム検討試験でございます。

9行目から、マウスにおける28日間亜急性毒性試験で得られた雄の小腸の固定標本を用いて、病理組織学的検査並びに免疫組織学的検査による細胞増殖活性及びアポトーシス発現について検討されてございます。90日間亜急性毒性試験で病理組織学的に評価された対照群及び250 ppm投与群の雄の小腸についても同様の試験が実施されてございます。

40ページの6行目、雄マウスの小腸における病理組織学的所見は表43、雄マウスの小腸粘膜上皮における細胞増殖活性率は表44に示されてございます。

9行目、28日間亜急性毒性試験の250 ppm投与群では、全例の小腸に陰窩上皮及び絨毛上皮及び慢性過形成が認められ、十二指腸、空腸及び回腸の絨毛基部上皮において、統計

学的に有意な細胞増殖活性の増加が認められています。90日間亜急性毒性試験の250 ppm投与群では、空腸及び回腸における細胞増殖活性が統計学的に有意に増加しています。

41ページ、山手先生から御意見をいただいております。①前ページの網かけ部分の小腸に対する刺激性の持続とは、何がどのように刺激するのか不明ということでございましたので、事務局のほうで17行目、以上より以降の部分を削除いたしました。先ほどの佐々木先生の御意見も踏まえて、記載ぶりについて御検討いただければと思います。

②山手先生から申請者への質問事項といたしまして、ラットやイヌでは小腸上皮の増殖活性は生じていないのかということで御意見をいただいております。

2行目、長野先生からの御意見といたしまして、①小腸粘膜上皮の過形成は、28日間試験の250 ppm投与群では発生しているが、90日間試験の250 ppm投与群ではみられていない。28日投与で発生した小腸粘膜上皮の過形成は、90日投与では元に戻ったと解釈して良いのかということで、申請者に御質問したいということで御意見をいただいております。

②小腸粘膜上皮の細胞増殖亢進および小腸腫瘍増加の発生機序とその根拠についても御質問したいということで御意見をいただいております。

以上です。

○西川座長

ありがとうございます。

マウスの小腸腫瘍の発生メカニズムを探るために細胞増殖活性とアポトーシスに関する試験を実施したということで、細胞増殖活性は十二指腸、空腸、回腸で増加し、28日間試験においては当該臓器に過形成が見られたということです。

41ページ、山手先生からのコメントで、40ページの17～18行目に記載のある小腸に対する刺激性の持続について、その刺激性とは何かということを確認したいということで、事務局はそれを受けて、当該の文章を削除したということですが、これは何の刺激か確認をしたほうがよいと思いますが、山手先生、補足はございますか。

○山手専門委員

削除しなくてもいいのかなと思うのですが、要するにこの刺激の目的がよくわからないということです。被験物質そのものの結晶物質とか、あるいは代謝物の刺激なのか。それ以外に刺激する物質が何かあるのか。それがわからなかったのと、持続というのは細胞増殖の細胞周期を持続的に刺激するのか。そこらへんが曖昧すぎて文章が頭に入ってこなかったという理由です。

○西川座長

ありがとうございます。

単純に削除ではなくて、刺激が何であるかを考察していただいた上で、少し修文をしたほうがよいというような御意見かと思います。それから、マウス以外、ラットやイヌで同様の小腸上皮の増殖亢進があったか、なかったかということを確認したいということです。

ね。

長野先生からも小腸腫瘍の発生について、90日の試験で過形成が見られていないので、28日試験で見られた小腸の過形成が回復したのかどうか。そのあたりを確認したいということと、増殖亢進と小腸腫瘍の発生増加のメカニズムについて確認したいということです。

○長野副座長

はい。

○西川座長

ありがとうございます。

その他試験については以上ですが、全体を通して何かございますか。

ないようでしたら、予定どおり、申請者の方に入っていただくということにしたいと思います。よろしいですか。

○横山課長補佐

それでは、あの時計で4時5分くらいを目標に準備します。

大きく質問事項としましては、卵巣腫瘍の発生と小腸腺癌の発生に大きく分かれていて、遺伝毒性の御質問は小腸の腫瘍のほうに入るのかなと思うので、そのような形で少し大きいくくりで、私のほうから口火を切らせていただきます。

申請者のほうはある程度、回答を準備しているかと思しますので、質問を受けて、先生方から追加の御質問をお願いできればと思います。

申請者は今日の評価書は持っておりませんので、基本的に抄録の内容を踏まえて御質問をいただければと思います。代謝物は抄録も評価書も記号が共通でしたので、基本的には代謝物M5とか、おっしゃっていただいて構わないと思うのですけれども、そのようにお願いできればと思います。

○西川座長

よろしくお願いします。

(休 憩)

○横山課長補佐

本日は企業関係者の方として、Meiji Seikaファルマ株式会社及び日本化薬株式会社の方に御出席をいただいております。

それでは、質疑応答を始めていただければと思います。始めさせていただいてよろしいでしょうか。

○西川座長

どうぞお願いします。

○横山課長補佐

それでは、3つ質問させていただきます。

1つ目は、子宮と卵巣の萎縮と卵巣腫瘍の増加の発生機序とその根拠について御説明いただければと思います。その際に、本剤の卵巣傷害に関する点と、ラットの試験で卵巣の病理の変化として大型卵胞の減少などが認められていると思いますけれども、あわせて原始卵胞の状況について確認されているかどうかという点も含めて御説明いただければと思います。

○企業関係者

では最初に、こちらで想定しておりますメカニズムについて説明させていただきます。もう既に資料としてお手元にお配りしているかと思いますが、上のほうにあります卵胞細胞消失から卵巣腫瘍発生の機序という模式図がありまして、これは**Toxicologic Pathology**の2004年の出典になります。これを見ていただくとわかりやすいかと思います。

卵巣腫瘍の発生に関しましては、まず、卵巣の萎縮があったと。左側のものです。それによって卵胞が減少いたします。下垂体に対してフィードバックがかかります。エストロジェンが減りましたと。そうしますと下垂体のほうでフィードバックがかかりまして、**FSH**と**LH**の分泌増加が起こります。それがすなわち下垂体の好塩基細胞の肥大、これは去勢細胞と一般に呼ばれていますけれども、それが起こりまして、そこから卵巣腫瘍が発生したと。卵巣腫瘍ができますと、下に書いてありますように、そこからエストロジェンが産生されます。それによって子宮に対する拡張とか、子宮内膜過形成、膈上皮角化亢進といったような変化が起きているというふうにメカニズムとしては考えております。子宮と卵巣の所見については、このようなメカニズムで考えております。

○西川座長

それでは、各専門委員を中心に御意見をいただきたいと思います。私からですけれども、その卵巣萎縮からスタートして、ネガティブフィードバックの機構からいろいろな病変、卵巣腫瘍を含めて発生するということはよく理解できるのですが、そもそも卵巣萎縮の原因、事務局から説明がありましたように、原始卵胞への影響があったか、なかったか。そのあたりについてはいかがでしょうか。

○企業関係者

原始卵胞につきましては、実際に90日間試験の病理組織所見にもありますように、大型卵胞の減少・消失や新世代黄体の消失などは認められておりますが、そのほかに原始卵胞に関しては明らかな所見が見られていないということから、この時点では原始卵胞が減少しているというような証拠は見られていません。

○西川座長

その目で確認されて、原始卵胞への影響はなかったということですか。そういうお答えですね。

○企業関係者

少し訂正させていただきます。卵巣萎縮という所見で病理所見は、ケーススタディでは

っております。その中に若干ですけれども、原始卵胞の中でoocyteのないような細胞や若干pyknosisが見られる細胞が見られたので、それは個別にとらずに卵巣の萎縮ととっているということで、試験責任者と確認させていただいています。

○西川座長

ありがとうございます。

御意見をお願いします。三森先生、どうぞ。

○三森委員

生殖発生毒性試験のほうでは、F₁の親に対して原始卵胞の数が減少しているという記載をされているわけですね。生殖発生毒性の118頁ですか。表がありますね。120でしょうか。親動物のほうでは測定していなかったようですが、明らかに原始卵胞の数が減っています。100 ppmで生じているわけですので、先ほどから話が出ている90日亜急性毒性試験のラットでは、もっと用量が高いわけですので、原始卵胞の減少はあって当たり前と私は理解をしていたのですが、何ら記載がないということは、検査されて所見としてとっていないのか。あるいは認められなかったのか。今のお話では認められておりませんということですが、齟齬が出てくるのではないかと思います。かたや生殖発生では生じていて、90日では生じていないという、点についてはどう説明されるのでしょうか。

○企業関係者

御指摘のように繁殖試験におきましては、F₁の雌の100 ppmにおいて原始卵胞の減少が認められます。それは詳細な連続切片を用いた観察でございます。御承知のとおりの方法でございます。ただし、90日試験の場合は滑面を1枚ないし2枚とっておりまして、その際に見られた原始卵胞は特別注視をしていなかったということだけでして、実際には精査すれば、そのような同一の変化が起こっていたのかもわかりません。それを含めて本所見では卵巣の萎縮ととっていたということです。もっと詳しく見れば、おっしゃられることが出ていたかも知れません。

○三森委員

そうしますと、この剤に関しては、原始卵胞が標的と理解してよろしいでしょうか。

○企業関係者

そのように考えていただいて結構だと思います。

○三森委員

そうすると、メカニズムが変わってくると思います。

○企業関係者

メカニズムについては、先ほど説明したものと同様と理解していただいていると思うのですけれども、最初に卵巣の萎縮及び原始卵胞の減少がありまして、それによってエストロゲンが減少して、下垂体の反応が出てきたと。それでLHやICSHが出ていくことによってストローマを刺激して、ストローマ由来の腫瘍が出てきたのではないかと考えています。

○三森委員

胞状卵胞でgranulosa cellが崩壊してしまうためにエストロゲン産生ができないわけですね。そこから生じた変化がCapenらのToxicologic Pathologyのスキームに記載されているメカニズムと合致すると思いますが、抄録には原始卵胞のことは一切書いてありませんので、そのところはやはり明確にさせていただいたほうがよいと思います。

あと1点よろしいでしょうか。

○西川座長

どうぞ。

○三森委員

今のToxicologic Pathologyのスキームを見せていただいて、下垂体のところでネガティブフィードバックがかかって、下垂体の好塩基性細胞が肥大したとなっておりますが、これがFSH産生細胞ないしLH産生細胞であるという証明はされているのでしょうか。

○企業関係者

それは証明されておられません。しかし、これは先ほど説明させていただきましたように、Basophilic cell由来でございますので、β細胞だと思います。そうするとLHではないかと推察が行われまして、一般的な去勢細胞の変化としてはFSH、LHの増加ということを示唆しているのではないかと考えています。

○三森委員

それはスペキュレーションで、好塩基性細胞であれば、TSH細胞もあるわけですので、同定していない限りは推測という域は脱していないと思います。

もう一つ、子宮の変化ですが、卵巣腫瘍が誘発されてエストロゲンが産生されたので、このような子宮の変化が生じたと考察されているようですが、誘発された卵巣腫瘍が機能型のエストロゲン産生腫瘍なのか、それも恐らく確認をされていないのではないかと思います。これも推察の域を脱していないと理解してよろしいでしょうか。

○企業関係者

おっしゃられるように、TSHの分布も上がっておりますが、一般的に言ってLHもTSHも同様に増加しているものと考えております。それは証拠がございませんので、おっしゃるようにスペキュレーションの範囲であろうと思います。また、卵巣腫瘍に関しましては、混合型の卵巣腫瘍でございまして、その中にはグラニオーサ細胞の腫瘍も認められることから、可能性ですが、エストロゲンの分泌があるということと、あるいは間質系でのICSHの刺激でテストステロンが上がったとしても局所的なアロマターゼの刺激によってエストロゲンが出る可能性があるかと推測させていただいています。

○西川座長

よろしいでしょうか。

○三森委員

やはり証明が必要だと思います。エストロゲン産生系の腫瘍であるかないかが明確でな

い限りは推察の域は脱していないと思います。

○西川座長

ありがとうございます。

ほかにごありますか。山手先生、どうぞ。

○山手専門委員

今の卵巢腫瘍に関連して、これは今回ラットを中心に卵巢に腫瘍が出たということですが、マウスの発がん性試験では卵巢下垂体に劇的な変化がないのですが、腫瘍性の変化がない。これをどのように考えたらいいかということと、一方、イヌでは卵巢と下垂体ともに変化がないと。これは1年間の試験だけでも、そこらへんをどのようにお考えなのか、御意見をお伺いしたいです。

○企業関係者

お答えします。マウスに関しましては、卵巢の萎縮が認められておりますけれども、程度としてはラットほどではないと考えております。卵巢の萎縮の中に黄体の減少や消失はありますけれども、卵胞の発育に関しては明らかな異常は認められなかったということ。あとは下垂体の重量で、90日の試験では重量変化もございませんでしたし、下垂体の病理所見においても明らかな変化がなかったということで、マウスに関しては程度が軽かったのであると考えております。イヌに関しては、実際のところ、理由はわかりません。種差によるものであろうということくらいしか説明はできないのが現状でございます。

○山手専門委員

わかりました。

○西川座長

よろしいでしょうか。

ほかにもどうぞ。長野先生。

○長野副座長

この卵巢の萎縮の原因ですけれども、90日間試験に関しては考察の中で、卵巢の萎縮は大型卵胞の減少あるいは消失、新世代黄体の消失になっており、摂餌量の低下及び体重増加抑制による卵巢機能の低下を反映しているとも考えられたということが書いてあるのですが、今日いただいた資料の表1を見ますと、先ほどのシェーマの下に表が出ておりまして、R1とR2がありますね。

これを見ますと、これは13週間試験ですが、最高投与群の体重がR1で89.6%、R2で88.5%、今回の試験の体重増加抑制によく似ているのですが、これでは卵巢も子宮も低下していないと思いますが、今回の試験での卵巢萎縮の原因として、やはり餌の量あるいは体重に本当にその原因を持っていったいいのでしょうか。

○企業関係者

この件につきましては、御覧のように、こちらでも背景データを調べてもらったのですが、試験としては、こういうような状況の試験しか見つからなかったというのが正直なと

ころでございます。とはいえ、今まで昔からやられておりますラットの絶食の試験とか、いろいろ見てみましたが、確かに体重の減少とともに卵巢萎縮も起こりますけれども、そんなに強く卵巢の萎縮が起こっているものは確かに認められておりません。

ただ、高用量では非常に強い摂餌忌避が起きておりますので、摂餌量の低下から体重増加抑制が来て、それによって卵巢の萎縮は全部ではないにしても、原因の一つになっているものと考えております。

あと一点、マウスにつきましては、実は古い文献なのではありますが、90日齢のマウスを5日間絶食しまして、体重70%くらいになったというものを卵巢の重量を測りましたら、半分くらいになっていたというような報告もありますので、絶食というのは摂餌量の減少だけで説明がイコールにはならないかとは思いますが、そのような減少も認められますので、理由としてはある意味、位置づけとしては考えられるのかなと思います。

○長野副座長

体重の抑制とか餌の量が少ないと、卵胞の成長には影響があるかもしれませんが、先ほどの話のように原始卵胞に影響があった場合には、体重との関連というのは考えづらいと思います。

○企業関係者

こちらで現在のところ考えられるのは、体重減少に伴って、生殖系でありますから、次世代よりも自分の個体維持ということが働くとするれば、強くはないにしても、ある程度の卵巢萎縮は起こり得るかなと考えております。

○西川座長

体重の増加抑制とか摂餌量の低下が卵巢萎縮に影響していることに加えて、恐らく何か要因があるということですね。

井上先生、どうぞ。

○井上専門委員

先ほどラットの90日試験では原始卵胞の核がpyknoticになっていたとか、直接傷害を示すような所見があったというお話だったのですが、もう一度確認ですが、マウスのほうでは原始卵胞なり一次卵胞なりの変化は、確かに報告書では黄体の減少とか消失しか書いていなかったのですが、小型の卵胞について、きちんと所見がとれていたかを確認させてください。

○企業関係者

ラットの90日スタディについては御説明させていただきましたように、原始卵胞のpyknoticな変化も多少見られておりますが、マウスについては再度見直しても、試験責任者から、原始卵胞の変化に見当たるようなものは切片から見られなかったということでございます。

○西川座長

よろしいでしょうか。

ほかにございますか。もしないようでしたら、ほか大きな質問があったと思います。事務局からお願いします。

○横山課長補佐

それでは、3つと申し上げましたが、あとの2つは主にマウスの小腸腺癌の発生頻度の増加に関するものなので、まとめて伺わせていただきます。

まず、小腸腺癌に関してですけれども、小腸粘膜上皮の細胞増殖亢進及び小腸腫瘍増加の発生機序とその根拠について御説明いただきたいのですが、その際に以下の点を含めて御説明をお願いします。

前腫瘍性の変化が観察されなかったのかどうか。本腫瘍がマウスにのみ認められた理由。ラットやイヌでは小腸上皮の増殖活性は認められないのかという点。もう一つが、安全性の考察の2ページに、この腫瘍発生は小腸に対する刺激性の持続による細胞増殖亢進に起因するといった御説明がありましたが、この刺激性というのが何による、どのようなものを想定しているのかという点について御説明いただければと思います。

これに関して遺伝毒性についての御質問ですけれども、コメットアッセイを肝臓、十二指腸、回腸で実施されていますが、これらの臓器を選択された理由を御説明ください。また、原体混在物の試験、Amesの試験が何本か実施されていますが、この調査会の議論の中で、その小腸の腫瘍の発生の原因の一つとして、もしかしたら代謝物M5、N-水酸化体の関与も少し考えられるのではないかという議論がありましたが、代謝物M5についてAmes試験が実施されていないかどうか、お示しいただければと思います。

以上、お願いいたします。

○企業関係者

では、順番にお答えさせていただきます。細かくなりますが、最初の1点、マウスの発がん性試験で前腫瘍性病変が観察されたか否かに関しましては、マウス発がん性試験で前腫瘍病変は観察されておりません。本腫瘍がマウスにのみ見られた理由はお尋ねいただいていますけれども、実際のところはわかりませんというのがお答えになります。マウスとラットでは毒性的な変化も異なると考えられますので、小腸の発がんについても、種差というお答えを選ばざるを得ない状況でございます。

小腸の増殖活性の検討に関して、ラットやイヌで行っているかという御質問ですけれども、今回ラットとイヌではマウスで用いましたようなPCNAやTUNELを実施したような評価は実施しておりませんので、増殖活性の有無はわからないというのが答えとなります。HE染色の一般的な病理組織検査で増殖所見が見られていないというところで、PCNAやTUNELは実施しておりませんでした。

その説明ですけれども、小腸に対する刺激性の持続による細胞増殖亢進に起因すると実は記載しておりますけれども、この刺激性というのはイータントというイリテーションのような刺激性とはまた違うものを想定しておりましたので、誤解を受けやすい記載であったと思っております。そこの部分は刺激と書き換えたいと思っております。すなわち、

この腫瘍発生は小腸に対する刺激の持続による細胞増殖亢進に起因すると御理解いただければと思います。

あとはコメントアッセイに関しまして、肝臓、十二指腸、回腸で実施している件につきまして、OECDのガイドラインでは、組織臓器としては一般的に肝臓が、あとは直接作用を見る臓器として胃と十二指腸が記載されております。あまりコメントアッセイというのも毎回やるような試験ではございませんので、妥当性の確認をするという意味合いも含めまして、背景データが豊富な臓器として肝臓を選択いたしました。実際の評価をするための標的臓器として十二指腸及び回腸を選択したというのが理由であります。陽性対照として、メタスルホン酸エチル、EMSを用いております。

○企業関係者

代謝物M5のグルクロン酸抱合体についてですけれども、これはバランス試験、低用量、高用量、さらに性差、尿糞ですね。グルクロン酸抱合のM5のフリーが検出されなかったものですから、Ames試験は実施しておりません。

○西川座長

ただいまの御回答に対して何かございましたら、お願いいたします。

山手先生、どうぞ。

○山手専門委員

質問させていただいた中の一つに、小腸に対する刺激性の持続という言葉は刺激という表現に変えるというようなことをおっしゃていましたけれども、実は一番わからなかったのは、何が刺激しているのか。被験物質そのものなのか、代謝物なのか、あるいは被験物質がまとまった状態での食物なのかとか。そこは何か御検討されているか。あるいは何を想定して、何が刺激しているのかというのをお聞きしたい。

もう一つ、細胞周期を刺激するというのは、もちろん遺伝子レベルでの細胞増殖がかかるものもあれば、そうではなくて、細胞活性にかかわるような、いろいろなファクターがありますね。サイトカインのようなもの。そういうものも含めて非常に漠然とした記述だったので、それでお聞きしたのですけれども、その点は何かわかる範囲で御回答いただければと思います。

○企業関係者

正しい回答にはならないかもしれませんが、このマウスの90日スタディ等におきまして、あるいは発がん性の状態でも、小腸、十二指腸や回腸におきまして、炎症性細胞の浸潤は特に認められておりませんでしたので、先ほど申しましたように、刺激性という言葉は妥当ではないだろうと解釈いたしております。また、サイトカインについても同様に、そのようなリンパ球の浸潤等々は認められるものでもなかったもので、先ほど代謝物についても何種類か出ましたが、こちらで検討した結果でも主要代謝物がそのまま刺激となり得るかどうかについては、これも余り明白ではございませんでした。

○山手専門委員

ありがとうございました。

○西川座長

ほかによろしいですか。どうぞ。

○長野副座長

所見なのですが、小腸の過形成について、28日間試験では出ていますが、90日間試験ではとられていないということで、これは小腸とその過形成は消えてしまって、その後に2年投与していると腫瘍が急に出てくるということなののでしょうか。

○企業関係者

それもこちらの推測にしかすぎないのかもしれませんが、90日試験で28日試験のような増生は見られておりませんが、PCNAで確認したところを両方とも活性は高くなっています。PCNAは陽性が強くなっておりました。ということは、90日試験においても28日試験においても粘膜上皮の細胞活性は上がり、cell cycleは早くなっているということが想定されます。それがなぜ片方は増生で、片方はそういう所見が見られなかったかについては、原因ははっきり言ってわかりませんが、状況としては常にcell cycle、細胞増殖活性が上がっている状態であったということは免疫染色から言えると考えております。

○西川座長

よろしいでしょうか。ほかにぜひ確認しておきたいことがあれば、お願いいたします。

三森先生、どうぞ。

○三森委員

小腸の過形成病変のメカニズムがわからないのですが、親化合物が代謝される骨格を見ると、キノリン骨格を持っているということです。このキノリン自身は強い刺激性があると認識しているのですが、代謝物がいたずらしているという可能性はないのでしょうか。

○企業関係者

御指摘のように、キノリン体が骨格として表れております。当初それを一つ一つ文献等を当たってはみておりましたが、それを直接示すような証拠はなかったのが現状でございます。

○三森委員

そうすると、初めに過形成が生じて、投与期間が長くなればなるほど、過形成の病変は消失して細胞増殖活性だけが残っているということが生じているわけですね。ということは、被験物質を投与することによって何らかの刺激が小腸、十二指腸あるいは回腸粘膜にいつも刺激があったと認識されてくるのですが、それが何なのかについてはわからないのでしょうか。

○企業関係者

おっしゃられるように、これは限局性の上皮adenocarcinomaでしたので、びまん性のようなものを探してみてもはいますけれども、それさえもないですし、それ以外のadenomaも見つかっておりませんでした。その期間は御承知のように、マウス発がん性は18カ月で、何

ら証拠はないのですけれども、その間を埋めるような証拠が現在まで見つかっておりませんので、今ある事実だけをつなげて、お話しさせていただいているのが事実でございます。

○西川座長

よろしいでしょうか。ほかに何かございますか。

もしないようでしたら、どうもありがとうございました。これで企業関係者とのディスカッションを終了します。

(企業関係者退室)

○西川座長

それでは、審議を再開してよろしいでしょうか。

いろいろな質問に対してお答えをさせていただいたのですが、その回答でこの剤の最終評価をしてよいかどうかについて御意見をお伺いしたいと思います。不十分であれば、どういうデータが欠けているか、そういう点について御意見をいただきたいと思います。

○井上専門委員

ラットとマウスの卵巣の萎縮がとても気になる場所ですけれども、確かに申請者がおっしゃるように、萎縮の原因の一部は体重増加抑制あるいは摂餌量の減少が絡んでいる可能性はあると思うのですけれども、さっきラットのほうでは原始卵胞にpyknoticなものがあつたとかいうことがあつたので、やはり卵巣への直接影響の可能性があるとしますので、可能であれば、そのへんの検索が必要なのではないかと。

ただ、90日試験の今ある標本を用いて検索するのは、もしかしたら限界があるかもしれないので、先ほど申請者が言っていたように一切面しか見られないので、正確な原始卵胞の影響は測れない可能性があるのも、そのへんは何をすればいいかというのは相談しなければいけないと思います。

○西川座長

原始卵胞への影響があるということになった場合に、この剤が評価に耐え得るかどうかについて御意見をいただきたいと思いますが、井上先生、どうですか。

○井上専門委員

卵巣への直接影響を見るということは大事なのですが、今のところは最高用量だけに見られているので、どこかで線を引けることはあると思います。ただ、申請者の話の前に三森先生が、どの試験かは忘れてしまったのですが、真ん中の用量で卵巣の所見は見られていないけれども、原始卵胞の変化があつたがどうかを確認すべきというようなお話もあつたので、そのへんについては確認をしたほうがいいように思います。

○西川座長

どの試験でしたか。

○三森委員

2年間の併合試験、ラットです。

○横山課長補佐

評価書の31ページです。

○西川座長

90 ppm群での原始卵胞の影響を確認するということですね。それはもう既に終わった試験で見ることができるものでしょうか。

○三森委員

連続切片が必要です。ですから、GLPが適用されている卵巢のブロックから連続切片を作成するとなくなってしまうので、そこが難しいということです。非常に困っています。これは90 ppmで異常がありませんということがわかるだけで一応閾値は引けるのではないかと思います。現状の切片で可能な限り見ていただいて、それで異常がないということが90 ppmの雌で確認できれば、ADI設定という形に持っていけるかもしれません。

○西川座長

それでは、できるだけ努力をお願いして、完全に連続切片での検索でないにしても、できる限り枚数を見ていただいて、影響があるかどうかを確認していただくということになりますね。可能であれば、そのようなお願いをしたいと思います。

どうぞ。

○山手専門委員

今の申請者のコメントを聞いて、30ページの17～19行目の事務局から提示していただいた文章ですけれども、ここはあくまでもスペキュレーションがかなり強いところなので、「また」から19行目の「考えられた」は削除しておいたほうがいいのかと思います。

もう一点、メカニズム試験での40ページの17～18行、これは申請者がもう一度文章を見直すと言われていましたけれども、これもお話を聞いていると刺激性というものが非常に曖昧でよくわからないというのが正直なところだと思うので、これも私は削除をしておいたほうがいいのかと思いますけれども、いかがでしょうか。

○西川座長

ありがとうございます。

2つありまして、まず、30ページの17～19行目、子宮等の変化が卵巢腫瘍によって引き起こされているというような記載についてはよくわからないので、削除をしたほうがよいということですね。

○山手専門委員

所見にとどめておくということですね。

○西川座長

ですから、これは削除という方向でよいのかと思いますけれども、いかがでしょうか。

もう一つ、40ページの17～18行目、小腸の細胞増殖亢進について、刺激性によるということで、何の刺激かについてはわからないということから、ここは削除という御意見です。

よろしいでしょうか。

ありがとうございます。では、そのように修正したいと思います。

今、2年間のラットの発がん性試験における中間用量での原始卵胞への影響の確認はあるのですが、そのほかに何かデータとして追加して確認すべきものがあれば、お願いいたします。

どうぞ。

○井上専門委員

今、先生が2年間の90 ppmだけみたいな感じでおっしゃっていたのですが、できれば28日と90日もやったほうがいいのではないかと思います。しかも、その萎縮という言葉でまとめるのではなくて、一切面でもいいから、見られた卵胞の数なり影響、変化を挙げていただくのがいいと思います。

○西川座長

2年間の試験のみでなくて、28日及び90日についても同様に可能な限り、原始卵胞への影響について見たほうがいいという御意見ですが、いかがでしょうか。

○横山課長補佐

恐れ入ります。28日は事務局が見た限り、用量設定試験で病理がなかったと思うので、これはスライドがないのですが。

○西川座長

多分ブロックもない可能性がありますね。やるとしたら90日でしょうけれども。

○長野副座長

今、原始卵胞の数が減ったというデータとしては、2世代のF₁だけです。F₀のほうはどうかというのが問題かと思うのですが、F₀も標本はとれないのでしょうか。

○中塚専門委員

先ほどの説明を聞くと、F₀についても恐らく1枚の切片だけを見ているので、数は数えていないと思います。ただ、私は病理が専門ではないですが、もちろん連続切片でないと絶対数は無理だと思いますが、例えば対照群と投与群で原始卵胞が同定できるわけですね。その割合とか、1枚のスライドで結構ですから、数を数えていただいて減っているかどうかというのはいけるのではないかと思います。一つ、繁殖毒性のF₀の卵胞の減少ですが、原始卵胞と書いてあります。ですから、私はどちらかというと、1枚のスライドにしても原始卵胞は減少しているのだというのは、F₀でも言っていたと思います。

うる覚えなので確認をいただきたいのですが、レポートの表ではなくて、本文で、原始卵胞の減少と書いてあります。どういうわけかサマリーが卵胞にまとめられているのですが、それは原始卵胞も卵胞ですからいいと思うのですが、恐らくファイナルレポートのテキストでは、F₀も原始卵胞の減少と書いています。数は数えていないけれども、恐らくF₀でも絶対にあったはずと私は理解しています。

○西川座長

抄録における記載はともかく、これも同様にF₀における原始卵胞への影響を見ていただくということで、十分な検索は当然無理だと思うのですが、可能な限り、その目で見えていただくというのは大事かと思います。

○長野副座長

あと一ついいですか。原始卵胞自体、かなり測定が難しいような気がするのですが、例えば原始卵胞が減った場合には、卵巢の重量はどう変化するのでしょうか。卵巢の重量の変化がなければ、原始卵胞への変化はないという見方ができるかどうかですね。できるならば、今のデータからでも評価ができると思います。

○三森委員

成熟卵胞や黄体が小さくなりますので、原始卵胞がない限りは排卵しませんので、副次的にグラフ卵胞や、黄体は減少してくると思います。

○長野副座長

ということは、もしも重量的に変わらなければ、その黄体等の数はあるということですね。したがって、原始卵胞への影響はないという判断もできるのかもしれないと思いますが、そのへんの確認をすることはできますでしょうか。

○三森委員

中塚先生がおっしゃったように、1カットの切片で見えることは見えるわけですので、絶対数を数えるのでなければ、コントロールも同じ条件で見るわけですので、どのくらいの形で残っているのか。それで原始卵胞の動きを見ることができると思います。病理専門家でしたら、そこはわかると思います。

○西川座長

大ざっぱな確認はできるというようなことで、最低限そこはお願いしたいと思います。

あとは下垂体とかで免疫組織化学が必要かどうかということについては、いかがでしょうか。

○山手専門委員

もし可能でしたら。

○三森委員

実施してもらいたいですね。FSH産生細胞であるという証明をしてもらいたいです。

○西川座長

それは多分ブロックがあれば難しくないことですので、それはぜひお願いしたいと思います。

あとはよろしかったですか。

○長野副座長

今、原始卵胞に注目していますが、原始卵胞の数に変化がなかった場合、私は今回のものは最初の90日間試験の結果から見ると、卵胞が成長する段階で傷害を受けているような印象を受けていたのですが、その検査とか試験の仕方は何か方法はあるのでしょうか。

○井上専門委員

私自身は専門家ではないのですけれども、普通だったら恐らく各段階の卵胞があると思うので、原始卵胞だけを見てください、ではなくて、各段階のものを見てもらえれば、どこが滞っているとかがわかるのかもしれないです。

私もこれは素人考えなのですが、例えば卵胞の成長を促すためのホルモンのほうの問題かもしれないということだと思うので、何の材料を使えばいいかはわからないのですが、血清中のホルモンとか何かということもありかもしれません。ただ、自信はありません。

○西川座長

ありがとうございます。

御意見はほぼ出尽くしたような感じがあるのですが、さらに何かございましたら、お願いします。

○山添委員

1つは、さっき聞くのを忘れたのですけれども、これがホルモン受容体に対するリガンドアフィニティがあるかないか。多分基礎的にも調べていると思うので、確認だけでも、あるかないかだけ。エストロジェンの受容体に結合していれば、さっき井上先生がおっしゃったようなことが来るので、やっているか、やっていないか。新たにしろというわけではないのですけれども、それだけ確認をしておくのも一つの方法かと思います。

もう一ついいですか。小腸の関係のところ、今日はM5という代謝物でN-水酸化体のことをお示ししたのですが、なぜ気にしていたかということ、過去に小腸に腫瘍ができたのはほとんどマウスだけで、投与の実験で過酸化水素とホルペットの2つです。いずれにもラットには出ないでマウスだけ出ている。このものが出てくるとすれば、もしもグルクロン酸抱合体が胆汁から排泄されると小腸のところで腸内細菌なりpHの変化で切れて、そのところでN-水酸化体になって活性酸素を生じて、その粘膜の刺激を持続的に行っている。そういうことが可能だということで少し気にして、先ほどお話をしたということになります。

ですから、もしできれば、Amesの試験でその原体はあると思いますので、グルクロン酸ではないほうのものが、もしそのデータがあるのかどうかも、ついでに確認をしておくといいのかなと思います。

○西川座長

ありがとうございます。

データがあるかどうかの確認ですから、特によろしいかと思います。

○横山課長補佐

データがあるかないかの確認は、エストロジェンのリガンドアフィニティについて確認しているかどうかと。

○山添委員

多分この原体を含めて、それから、M1くらいのものについて、ホルモン受容体との親和

性は通常は調べてするはずなので。

○横山課長補佐

あるかどうかの確認をします。

○西川座長

よろしくお願いします。

○横山課長補佐

フォローできていなくて申しわけございません。原始卵胞の状態についての確認は、90日亜急性と2年併合試験（ラット）と2世代繁殖試験で確認してもらうのですけれども、これは雌の全群でしょうか。2世代繁殖試験はF₀ですが、例えばさっき話題になった90 ppmだけを見ればいいのか、これは申請者のほうで適切に評価できれば、どのような方法でもよいということでしょうか。それとも何か注意事項があれば、もし可能であれば、私に変な指示をしないように、少し教えていただければと思います。

○西川座長

厳密には全例をやれるのがいいのでしょうけれども、そこまでやる必要があるかどうかですね。難しいですね。できれば申請者に判断していただくのが。

○山手専門委員

原始卵胞の評価を検討してくださいということ。

○横山課長補佐

目的を伝えて、確認方法について。

○西川座長

そのようにしないと、多分全例をやれというのも大変なことだと思いますし。

○堀部課長補佐

先生、関連で例えば90 ppm群の代表例だけで、90 ppmが今ターゲットになっていると思うのですけれども、代表する何枚かなのか、90 ppmの全ての動物のものなのか。特に2年のものは50匹いますので、セレクションが可能なかどうかのも一つポイントにはなるうかと思うのですが、そこも申請者に考えていただくということによろしいですか。

○西川座長

そうと思いますが、どうぞ。

○井上専門委員

2年の試験については、傾向がわかれば一部でもいいかもしれませんけれども、やはりお任せコースで。

○長野副座長

今、用量の問題ですけれども、もしも変化があった場合には、当然、下の用量でどうかという議論が必ず出てきますので、下のほうの用量もやったほうがいいと思います。

○西川座長

とりあえず90 ppmをやって、もし影響がありそうだったら、下も見るということですね。

○横山課長補佐

それと下垂体の免疫染色ですけれども、これもお任せコースですか。

○西川座長

免疫組織化学ですから、代表例だけでよいかと思います。それでよいですね。全例は必要ないと思います。

○長野副座長

卵巣の検査ですが、原始卵胞の数もですが、同時にほかの成長段階のところを含めた検査をしておいたほうがよいと思います。

○三森委員

卵胞が、*granulosa cell*が1層から始まってグラーフ卵胞まで発育していきますね。そのところも含めて、見ておいてもらったほうがよいですね。それに異常がないのであれば、それで私たちも安心できるのですが、*n*の数は難しいですね。でも、2年間のものでも、*n*は10例は必要です。1群当たり10匹くらいは無作為に選んでもらい、調べてもらったほうがよいと思います。

○西川座長

あとはよろしかったでしょうか。ないようでしたら、幾つか注文が出ましたので、本日この剤を最終評価することはできません。本日の結論ですが、追加資料の要求といいますか、確認事項が出てきましたので、事務局で整理した上で確認したいと思います。それでよろしいですか。

○横山課長補佐

はい。

○西川座長

今後の進め方について、事務局から御説明をお願いいたします。

○横山課長補佐

1点だけ、今日の評価書で御確認をお願いしなかった点がありましたので、申しわけございません。48ページの代謝物の化学名についてですけれども、本多先生、與語先生から、ハイフンの代わりにイコールを使っているのがおかしいということで修正いたしましたので、日本語名についてはスペースのところがわかるように記号を入れるのですが、英名はさすがにおかしいので、すみませんが修正させていただきました。

○西川座長

ありがとうございます。

本多先生の御指摘のとおり修正されていると思います。

○横山課長補佐

ありがとうございます。

そうしましたら、今後の進め方ですけれども、今日確認すべき事項をいただきましたので、その内容について、このような切り方でよいかという文案をつくらせていただきまし

て、先生方にメールでお送りさせていただきますので、御確認をお願いいたします。

今日の段階までで評価書案を御修正いただいた点などを反映したものもあわせてお送りさせていただきますので、御確認をお願いできればと思います。

以上です。

○西川座長

それでは、そのようにお願いいたします。

その他、事務局から何かございますでしょうか。

○横山課長補佐

開催日程について、お知らせいたします。

本部会については、次回は3月19日木曜日、幹事会につきましては3月12日木曜日の開催を予定しております。どうぞよろしくお願いいたします。

以上です。

○西川座長

もしほかになければ、本日の会議を終了させていただきます。ありがとうございました。