

平成 27 年 9 月 9 日

食品安全委員会
委員長 佐藤 洋 殿

動物用医薬品専門調査会
座長 山手 丈至

動物用医薬品に係る食品健康影響評価に関する審議結果について

平成 25 年 3 月 12 日付け厚生労働省発食安 0312 第 18 号をもって厚生労働省から食品安全委員会に意見を求められたフルアズロンに係る食品健康影響評価について、当専門調査会において審議を行った結果は別添のとおりですので報告します。

動物用医薬品評価書

フルアズロン

2015年9月

食品安全委員会動物用医薬品専門調査会

目次

	頁
○審議の経緯	3
○食品安全委員会委員名簿	3
○食品安全委員会動物用医薬品専門調査会専門委員名簿	3
○要約	4
I. 評価対象動物用医薬品の概要	5
1. 用途	5
2. 有効成分の一般名	5
3. 化学名	5
4. 分子式	5
5. 分子量	5
6. 構造式	5
7. 使用目的及び使用状況	5
II. 安全性に係る知見の概要	7
1. 薬物動態試験	7
(1) 薬物動態試験（ラット）	7
(2) 薬物動態試験（牛）	8
(3) 代謝試験（ラット）	9
(4) 代謝試験（牛）	10
2. 残留試験	11
(1) 残留試験（牛、ポアオン投与）	11
(2) 残留試験（牛、皮下投与）	13
(3) 残留試験（妊娠牛）	14
3. 遺伝毒性試験	15
4. 急性毒性試験	15
(1) 急性毒性試験（ラット）	15
5. 亜急性毒性試験	16
(1) 3週間亜急性毒性試験（ラット、経皮投与）〈参考資料〉	16
(2) 28日間亜急性毒性試験（ラット、経口投与）〈参考資料〉	16
(3) 13週間亜急性毒性試験（ラット、混餌投与）	17
(4) 1か月間亜急性毒性試験（イヌ、混餌投与）〈参考資料〉	18
(5) 3か月間亜急性毒性試験（イヌ、混餌投与）〈参考資料〉	18
6. 慢性毒性及び発がん性試験	19
(1) 1年間慢性毒性試験（イヌ、混餌投与）	19
(2) 2年間慢性毒性/発がん性併合試験試験（ラット、混餌投与）	19
(3) 2年間発がん性試験（マウス、混餌投与）	20

7. 生殖発生毒性試験	22
(1) 繁殖試験に先立つ用量設定試験 (ラット) <参考資料>	22
(2) 2世代繁殖試験 (ラット)	22
(3) 発生毒性試験 (ラット)	23
(4) 発生毒性試験 (ウサギ)	23
8. その他の知見	24
(1) 急性眼刺激性試験 (ウサギ)	24
(2) 急性皮膚刺激性試験 (ウサギ)	24
(3) 急性皮膚刺激性試験 (モルモット)	24
(4) 安全性試験	24
(5) 抗真菌作用	25
(6) フルアズロンの分解産物<参考資料>	25
III. 食品健康影響評価	26
1. 国際機関等の評価	26
(1) JECFA の評価	26
(2) EMEA の評価	26
2. 食品健康影響評価について	26
・表 13 JECFA 及び EMEA における各種試験の無毒性量等の比較	28
・別紙 1: 代謝物/分解物略称	30
・別紙 2: 検査値等略称	31
・参照	32

<審議の経緯>

- 2005年 11月 29日 暫定基準告示（参照1）
2013年 3月 12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0312第18号）、関係資料の接受
2013年 3月 18日 第467回食品安全委員会（要請事項説明）
2015年 1月 15日 第175回動物用医薬品専門調査会
2015年 8月 4日 第572回食品安全委員会（報告）
2015年 8月 5日 から9月3日まで 国民からの意見・情報の募集
2015年 9月 9日 動物用医薬品専門調査会座長から食品安全委員会委員長へ報告

<食品安全委員会委員名簿>

(2015年6月30日まで)	(2015年7月1日から)
熊谷 進（委員長）	佐藤 洋（委員長）
佐藤 洋（委員長代理）	山添 康（委員長代理）
山添 康（委員長代理）	熊谷 進
三森 国敏（委員長代理）	吉田 緑
石井 克枝	石井 克枝
上安平 洌子	堀口 逸子
村田 容常	村田 容常

<食品安全委員会動物用医薬品専門調査会専門委員名簿>

(2013年10月1日から)		
山手 丈至（座長）	須永 藤子	山崎 浩史
小川 久美子（座長代理）	辻 尚利	吉田 和生
青木 博史	寺岡 宏樹	吉田 敏則
青山 博昭	能美 健彦	渡邊 敏明
石川 さと子	舞田 正志	
石川 整	松尾 三郎	
川治 聡子	宮田 昌明	

要 約

ダニ駆除剤である「フルアズロン」(CAS No. 86811-58-7) について、JECFA の評価書等を用いて食品健康影響評価を実施した。

評価に用いた試験成績等は、薬物動態・代謝(ラット及び牛)、残留(牛)、急性毒性(ラット)、亜急性毒性(ラット及びイヌ)、慢性毒性・発がん性(マウス、ラット及びイヌ)、生殖発生毒性(ラット及びウサギ)、遺伝毒性、その他の毒性試験等の試験成績である。

フルアズロンは、*in vitro* における遺伝毒性試験で全て陰性であったこと及び構造が類似しているジフルベンズロンに遺伝毒性はないことから、生体にとって問題となる遺伝毒性は示さないと考えた。また、マウスを用いた発がん性試験及びラットを用いた慢性毒性/発がん性併合試験において、発がん性は認められなかった。したがって、フルアズロンは遺伝毒性発がん物質ではなく、一日摂取許容量(ADI)を設定することが可能であると判断した。

フルアズロンの各種毒性試験の結果から最も低い用量で認められた影響は、マウスを用いた 2 年間発がん性試験における雌の子宮の炎症性ポリープの増加であり、無毒性量(NOEL)は 40 ppm (4.3 mg/kg 体重/日に相当)であった。ラットを用いた 13 週間亜急性毒性試験において、肝臓の絶対及び相対重量の増加並びにグリコーゲン沈着が全ての投与群の雄にみられ、NOELは得られず、最小毒性量(LOEL)は 100 ppm (6.4 mg/kg 体重/日に相当)であった。しかし、これらの所見は、より長期の 2 年間慢性毒性/発がん性試験ではみられていないことから、毒性学的に重要ではなく、得られた LOELは NOEL に近いものと判断した。

以上のことから、マウスを用いた 2 年間発がん性試験の NOEL (4.3 mg/kg 体重/日)に安全係数として 100 (種差 10 及び個体差 10) を適用し、ADI を 0.043 mg/kg 体重/日と設定した。

I. 評価対象動物用医薬品の概要

1. 用途

ダニ駆除剤

2. 有効成分の一般名

和名：フルアズロン

英名：Fluazuron

3. 化学名

IUPAC

英名：3-[3-(3-chloro-5-trifluoromethyl-2-pyridinyloxy)-4-chlorophenyl]-1-(2,6-difluorobenzoyl) urea

CAS (No. 86811-58-7)

英名：N[[[4-chloro-3-[[3-chloro-5-(trifluoromethyl)-2-pyridinyl]oxy]phenyl]amino]carbonyl]-2,6-difluorobenzamide (参照 2)

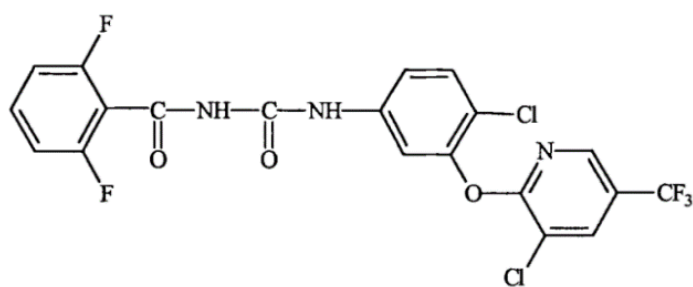
4. 分子式

$C_{20}H_{10}Cl_2F_5N_3O_3$

5. 分子量

506.21

6. 構造式



(参照 3)

7. 使用目的及び使用状況

フルアズロンは、ベンゾイルフェニル尿素系誘導体で、キチンの形成阻害剤に属する昆虫成長制御剤である。フルアズロンは、吸血、脱皮及び孵化中のダニのキチン形成を特異的に阻害することにより、ダニを駆除する。

海外では、肉用牛のダニ (*Boophilus microplus*) の防除のため、牛に1回当たり 1.5～2.5 mg/kg 体重をポアオン¹として局所的に滴下し、必要であれば3～6か月後に再使用する。(参照 3～6) 日本においては、動物用医薬品及びヒト用医薬品としての承認は

¹ pour-on : 殺虫剤を全身に散布せず、少量を動物の背にかける技術。(参照 7)

ない。

なお、ポジティブリスト制度導入に伴う残留基準値²が設定されている。(参照 1)

² 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 1)

II. 安全性に係る知見の概要

本評価書では、JECFA 及び EMEA の評価書等を基にフルアズロンの毒性に関する主な知見を整理した。(参照 3~9)

薬物動態試験及び代謝試験は、4-クロロフェニル基の炭素を ^{14}C で標識したもの（以下「[Chlor-phenyl-(U)- ^{14}C]標識フルアズロン」という。）を用いて実施された。

各種毒性試験は、純度 98%以上のフルアズロン原体を、その他多くの試験では 99.2%のものを用いて実施された。(参照 4)

代謝物/分解物略称及び検査値等略称を別紙 1 及び 2 に示した。

1. 薬物動態試験

(1) 薬物動態試験（ラット）

① 代謝・分布・排泄

SPF ラット (Tif-RAIf 系、雌雄各 3 匹) に [Chlor-phenyl-(U)- ^{14}C] 標識フルアズロン (媒体: *N*-メチルピロリドン及び PEG 200 溶液) を、胃瘻チューブにより 1 週間投与 (0.5 mg/kg 体重/日) し、薬物動態試験が実施された。尿及び糞を投与期間中及び投与後 1 週間毎日採取し、最終投与 24 時間並びに 2、4、8 及び 12 週間後に脂肪 (皮下、腎臓及び腹部)、血液、脳、腎臓、骨格筋、肝臓及びカーカス³を採取して、総放射活性を液体シンチレーション計測 (LSC) により測定した。

投与期間中及び最終投与後 1 週間の尿及び糞中の放射活性排泄率を表 1 に示した。最終投与後 24 時間で投与量の約 60%が消化管から吸収された。最終投与後 1 週間に投与量の 62%が排泄されたが、そのうち 59%は糞中に排泄され、3%だけが尿を介して排泄された。吸収の範囲及び経路並びに排泄の割合に、性差はみられなかった。

投与 24 時間後において、放射活性濃度は脂肪 (12~18 $\mu\text{g eq/g}$) で最も高く、他の組織では著しく低かった (肝臓: 1.3 $\mu\text{g eq/g}$ 、腎臓: 0.84 $\mu\text{g eq/g}$ 、肺: 0.53 $\mu\text{g eq/g}$ 、筋肉: 0.39 $\mu\text{g eq/g}$ 、脳: 0.20 $\mu\text{g eq/g}$)。全時点において同様の分布がみられた。最終投与 12 週間後までに、放射活性濃度は、脂肪中で 0.15~0.26 $\mu\text{g eq/g}$ 、他の組織中で 0.03 $\mu\text{g eq/g}$ 未満まで減少した。

雌雄ともに全ての組織における $T_{1/2}$ は約 13 日で、一次速度式に従い放射活性濃度は減少した。脂肪: 血液の比率は、実験期間を通して比較的一定 (201 \pm 28) であった。

(参照 3~6)

表 1 ラットにおける ^{14}C 標識フルアズロンの投与期間中及び最終投与後 1 週間の尿及び糞中の放射活性排泄率 (%)

排泄経路	投与期間中		最終投与後 1 週間	
	雄	雌	雄	雌
尿	1.6	2.1	1.1	1.5
糞	37.2	38.1	21.5	20.8

³ カーカス: 臓器を取り除いた残渣のことをいう (以下同じ)。

② 吸収率

薬物動態試験 [1. (1)] において、投与開始後 14 日間の尿中排泄率が投与量の 3%以上であり、糞中排泄率は投与量の 59%であった。代謝試験 [1. (3)] において、糞中におけるフルアズロンの排泄率は投与量の 26%であることから、投与後 14 日間における体内吸収率は、100%からフルアズロンの糞中排泄率を減じて、少なくとも 74%と考えられた。

(2) 薬物動態試験 (牛)

① ポアオン投与

肉用牛 (交雑種、雄 3 頭/群) の肩～臀部間の脊椎の両側に [Chlor-phenyl-(U)-¹⁴C] 標識フルアズロン (市販ポアオン製剤⁴と同様の組成として) を単回ポアオン投与 (フルアズロンとして 1.5 mg/kg 体重) し、薬物動態試験が実施された。血液、尿及び糞を試験の終了時に採取し、投与 2、4、6 及び 16 週間後の脂肪 (腹部及び背部の皮下、腎臓並びに大網)、血液、脳、腎臓、筋肉 (後四半部、前四半部及び大腰)、肝臓、胆汁及び投与部位の皮膚を採取して、総放射活性を LSC により測定した。

尿中及び糞中排泄率から、投与量の少なくとも 60%が吸収された。しかし、経皮又は投与部位を舐めたことによる経口経路のいずれかで放射活性を摂取したのかは明らかではなく、全身血流中に吸収された量に関しても不明である。

フルアズロンはゆっくり吸収され、組織に分布した。血漿中の放射活性は、投与 16 時間後に初めて観察された。投与後 9～35 日間の平均血漿中濃度は 0.035～0.041 µg eq/mL で定常状態が観察された。その後、血漿中濃度は、平均約 73 日の T_{1/2} で減衰し、投与 16 週後の平均値は 0.007 µg eq/mL であった。

主な排泄経路は糞中であつた (最初の 4 週間では投与量の 40%、その後 16 週間までに 62%に徐々に増加した)。一方で、尿中排泄はあまり重要ではなかつた (16 週間において投与量の 1%)。胆汁排泄を示すいくつかの徴候があつた。

ほとんどの組織において、放射活性濃度は投与 2 週間後に最高値を示し、腎臓脂肪 (4.8 µg eq/g)、大網脂肪 (4.3 µg eq/g)、皮下脂肪 (腹部 : 3.9 µg eq/g、背部 : 2.8 µg eq/g) 及び皮膚 (3 µg eq/g) では高く、肝臓 (0.5 µg eq/g)、腎臓 (0.4 µg eq/g)、筋肉 (0.1 µg eq/g) 及び脳 (0.08 µg eq/g) では低かつた。これらの濃度は、投与 16 週間後までに脂肪中で 0.5～0.6 µg eq/g、肝臓及び腎臓中で 0.05～0.06 µg eq/g 並びに筋肉及び脳中で 0.01～0.02 µg eq/g に減少した。組織によって T_{1/2} は 4.5～5.5 週とまちまちであつたが、皮膚中の T_{1/2} は 1.5 週であつた。(参照 4～6)

② 皮下投与

去勢牛 (ヘレフォード種、3 頭/群) の左肩後方に、[Chlor-phenyl-(U)-¹⁴C] 標識フルアズロン (媒体 : PEG200 ジラウリン酸、クレモフォル EL、クエン酸及び N-メチル-2-ピロリドン) を単回皮下投与 (1.5 mg/kg 体重) し、薬物動態試験が実施された。血液、尿及び糞を、投与後数回採取し、投与 2 日並びに 2、6 及び 16 週間後の脂肪 (皮下、腎

⁴ Acatak® : 海外で市販されるフルアズロン製剤で、フルアズロン濃度は 25 g/L である。(参照 8)

臓及び大網)、血液、脳、腎臓、筋肉(後四半部及び前四半部)、肝臓、胆汁及び投与部位の皮膚を採取して、総放射活性をLSCにより測定した。

放射活性は投与部位からゆっくりと吸収され、投与48時間後に最高値(0.1 µg eq/mL)に達した。血漿中濃度は平均約78日の $T_{1/2}$ で消失した。投与16週間後の平均血漿中濃度は0.01 µg/mLであった。

主な排泄経路は糞(16週後に投与量の23%)中であり、腎臓からの排泄(16週後に投与量の1%)はあまり重要ではなかった。胆汁排泄の徴候があった。

皮下脂肪以外の全ての組織では、放射活性濃度は投与48時間後に最高値を示し、腎臓脂肪(4.6 µg eq/g)及び大網脂肪(3.3 µg eq/g)では高く、肝臓(0.8 µg eq/g)、腎臓(0.5 µg eq/g)、脳(0.2 µg eq/g)及び筋肉(0.1 µg eq/g)では低かった。皮下脂肪では投与2週間後に最高値を示し、その濃度は2.7 µg eq/gであった。これらの濃度は投与2週間及び6週間後の全ての組織において同程度で、16週間後には脂肪中で0.9~1 µg eq/g、肝臓及び腎臓中で0.1 µg eq/gまで減少した。投与部位中濃度は、投与48時間後に投与量の52%(643 µg eq/g)、6週間後に26%(396 µg eq/g)、16週間後に5%(52 µg eq/g)であった。(参照3~6)

(3) 代謝試験(ラット)

ラットを用いた薬物動態試験[1.(1)]において、全組織、糞及び尿中の代謝物が薄層クロマトグラフィー(TLC)により同定された。脂肪及び糞中の代謝物については高速液体クロマトグラフィー並びに質量分析及び核磁気共鳴により解析された。

組織中の化合物はフルアズロンのみであった。糞中の代謝物は、6種類の代謝画分に分かれ、代謝物C(投与量の3.2%)及び代謝物A(5.8%)が同定された。しかし、フルアズロン(投与量の26%)が最も多かった。尿中では、8種類の代謝画分となり、代謝物C(投与量の0.6%)及び代謝物A(0.45%)が含まれたが、フルアズロンは検出されなかった。

糞中の代謝物パターンから、投与量の3分の1がフルアズロンのまま検出され、投与量の約3分の2が代謝された。したがって、フルアズロンはゆっくりではあるが、しかし、かなりの程度まで代謝されることが示された。

ラットにおける代謝経路を図1に示した。フルアズロンの代謝は尿素部分を分解しながら進み、続いてフェニル環の6位が水酸化され、代謝物Cが形成される。部分的にグリシンと抱合し、主要分解物の代謝物Dから代謝物Eが生成した。(参照4~6)

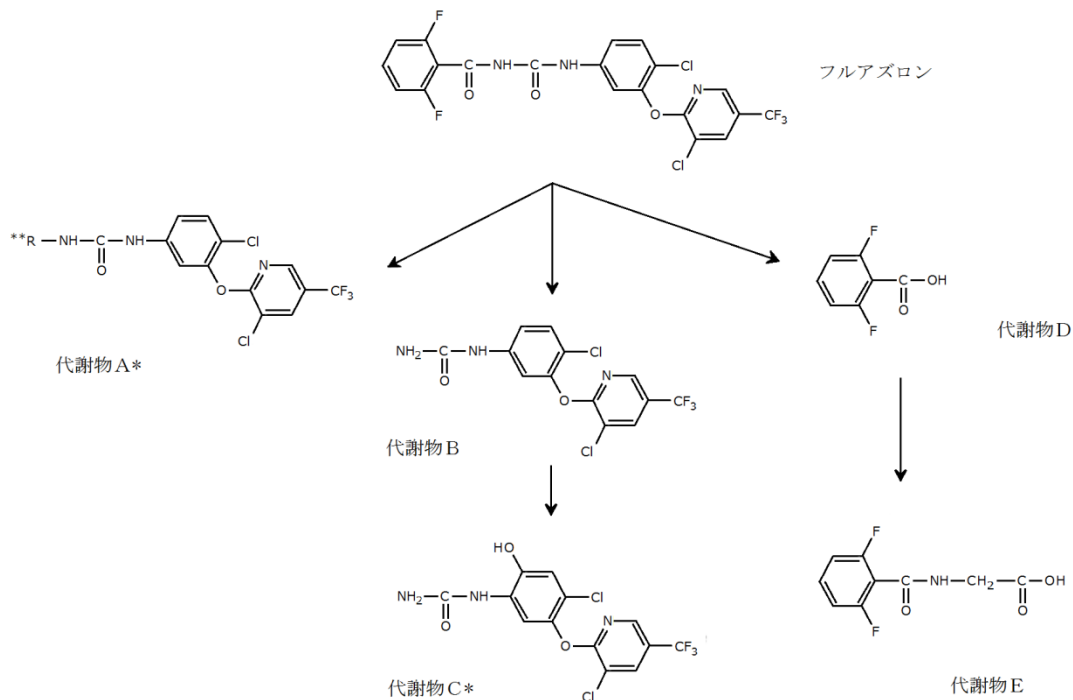


図 1 ラットにおけるフルアズロンの代謝経路
 *糞中より単離され同定された；尿中にも微量存在する
 **R、未同定残基

(4) 代謝試験 (牛)

① ポアオン投与

牛 (品種、性別及び頭数不明) に[Chlor-phenyl-(U)-¹⁴C]標識フルアズロンをポアオン投与 (1.5 mg/kg 体重) し、組織、糞及び胆汁中の代謝物が TLC により、また脂肪中の代謝物が質量分析により同定された。

ポアオン投与後、フルアズロンは広範に代謝されず、全時点のほとんど全ての組織で検出された放射標識化合物はフルアズロンのみで、一般に総残留放射活性の 90%超を占めていた。その他の代謝物は、16 週間後の筋肉 (総残留放射活性の 3%) 及び皮膚 (24%) で、低濃度で検出されたのみであった。

2 種類の代謝画分が糞中に認められた。主要成分はフルアズロン (総残留放射活性の約 92%) であり、他方はより極性の高い代謝物で、糞中総残留放射活性の 3%を占めた。

胆汁では、主要化合物はフルアズロン (総残留放射活性の 76%) であったが、他の 24% はクロマトグラフィーの原点に残っていた。(参照 3、4)

② 皮下投与

去勢牛 (品種及び頭数不明) に[Chlor-phenyl-(U)-¹⁴C]標識フルアズロンを皮下投与 (1.5 mg/kg 体重) し、組織中及び排泄物中の代謝物が TLC により同定された。

全時点の全ての組織で、フルアズロンは総残留放射活性の 90%以上を占め、検出できる唯一の画分であった。

糞中では、8 種類の代謝画分が検出された。主要成分はフルアズロン (総残留放射活

性の約 70%) であり、他の未同定の画分は極性が高い性質を有していた。尿中にはフルアズロンより極性の高い未同定代謝物のみが含まれていた。16 週間の投与期間中、投与量の約 24%は糞及び尿中に排泄され、うち 16%はフルアズロン、8%は分解物であった。

したがって、フルアズロンは牛ではラットと比べて代謝されにくいと考えられた。(参照 4)

牛に放射標識フルアズロンを局所的に投与した場合、経皮若しくは投与局所を舐めることによる経口経路、又はその両方によりフルアズロンはゆっくりと吸収された。

組織中及び糞中の総残留量の 90%以上をフルアズロンが占めており、フルアズロンはほとんど代謝されなかった。

最初の時点 (投与後 2 週) では、フルアズロンが肝臓中の総残留放射活性の 90%を占め、同様に腎臓では 99%、筋肉では 97%、及び脂肪では 100%であった。局所投与時と皮下投与時を比較すると、糞中に排泄された代謝物パターンは、皮下投与後の方がいくらか複雑な形態であった (フルアズロンの約 3 分の 1 が、極性の高い代謝物に代謝された)。ラットにおけるフルアズロンの体内運命は牛と類似していたが、ラットは牛よりも広範にフルアズロンを代謝していた。(参照 5、6)

2. 残留試験

(1) 残留試験 (牛、ポアオン投与)

牛 (品種不明、雄 3 頭/時点) に [Chlor-phenyl-(U)-¹⁴C] 標識フルアズロンを単回ポアオン投与 (1.5 mg/kg 体重) し、投与 2、4、6 及び 16 週間後の組織中総残留濃度が測定された。

組織中の総残留濃度を表 2 に示した。(参照 9)

表 2 牛における ¹⁴C 標識フルアズロン単回ポアオン投与後の平均組織中総残留濃度 (µg/g)

組織	投与後日数 (週)			
	2	4	6	16
肝臓	0.481	0.388	0.275	0.059
腎臓	0.388	0.451	0.188	0.053
筋肉	0.101	0.079	0.073	0.014 ^a
脂肪 ^b	4.561	4.069	2.715	0.573
腹部脂肪	3.879	3.674	2.457	0.525
背部脂肪	2.788	2.183	1.458	0.484
投与部位 (皮膚)	3.010	7.030	6.394	0.024
胆汁	0.250			
糞	1.58 ^c			

a : 背景値を超え 30 d.p.m 未満のデータから算出されたものを含む。

b : 腎臓脂肪及び大網脂肪から構成される。

c : 投与後 312~336 時間の糞についての測定結果

牛 (品種及び性別不明、3 頭/時点) にフルアズロンを単回又は連続ポアオン投与 (2 又

は 3 mg/kg 体重) し、組織中のフルアズロン濃度が高速液体クロマトグラフィー/紫外吸光検出器により測定された。

組織中のフルアズロン濃度を表 3 に示した。これらの試験から、フルアズロンは組織中に蓄積されないと考えられた。組織中濃度は投与量の増加に伴い上昇した。(参照 3、5、6)

表 3 牛におけるフルアズロンポアオン投与後の組織中フルアズロン濃度 (µg/g)

投与量及び投与方法	組織	投与後日数 (週)			
		4	6	8	16
2 mg/kg 体重 単回投与	肝臓	0.10	0.08	0.04	0.02
	腎臓	0.07	LOD	<0.03	LOD
	筋肉	0.07	0.04	0.03	<0.03
	脂肪 (腎臓)	2.1	0.9	0.8	0.4
	脂肪 (皮下)	2.4	0.9	0.9	0.5
2 mg/kg 体重 9 週間隔、 2 回投与*	肝臓		0.09	0.07	0.10
	腎臓		<0.04	<0.03	LOD
	筋肉		0.04	<0.03	0.05
	脂肪 (腎臓)		1.10	0.83	0.90
	脂肪 (皮下)		1.10	0.89	0.97
3 mg/kg 体重 単回投与	肝臓	0.12	0.14	0.06	0.03
	腎臓	0.05	0.07	0.04	LOD
	筋肉	0.08	0.06	0.04	LOD
	脂肪 (腎臓)	2.4	2.2	1.2	0.6
	脂肪 (皮下)	2.4	2.3	1.3	0.6
3 mg/kg 体重 9 週間隔、 2 回投与*	肝臓		0.09	0.07	0.09
	腎臓		0.04	0.03	<0.04
	筋肉		<0.04	0.03	0.06
	脂肪 (腎臓)		1.18	0.94	1.13
	脂肪 (皮下)		1.06	0.93	1.29

* : 第 2 回投与後における残留濃度

n=3

LOD : 肝臓、腎臓及び筋肉では 0.02 µg/g、脂肪では 0.01 µg/g

牛 (品種及び性別不明、6 頭/群) の肩から臀部までの背線に沿って、フルアズロンを 12 週間隔で 3 回ポアオン投与 (2 又は 4 mg/kg 体重) し、各投与 6 週間後における皮下脂肪中のフルアズロン濃度が測定された。

皮下脂肪中のフルアズロン濃度を表 4 に示した。この試験では、計画的な投薬による蓄積は示されなかった。(参照 3、5、6)

表 4 牛におけるフルアズロン各回ポアオン投与 6 週間後の皮下脂肪中のフルアズロン濃度 (µg/g)

投与量 (mg/kg 体重)	第 1 回投与	第 2 回投与	第 3 回投与
2	1.8	1.8	1.6
4	3.0	2.4	2.1

様々な品種の牛の肩から腰部までの背骨に沿って、2本の帯状に、フルアズロンを単回又は反復ポアオン投与し、尿及び糞中並びに血漿及び脂肪中濃度が測定された。

血漿及び脂肪中のフルアズロン濃度を表5に示した。血漿及び脂肪中の残留に対する比の範囲は比較的一貫していた。

去勢牛に1.5 mg/kg 体重をポアオン投与したときのフルアズロンの排泄は胆汁及び糞中に23%であったが、代謝物は尿を介して1%が排泄された。糞中の総残留量の96%以上は、抽出可能であった。抽出物中の総放射活性の主要分画(62~81%)は、フルアズロンとして同定された。

フルアズロン及び(又は)その代謝物は、脂肪に高親和性を持っていた。投与部位に化合物の持続的な残留箇所が認められた。(参照3)

表5 牛におけるフルアズロン単回又は連続ポアオン投与後の血漿及び脂肪中のフルアズロン濃度 (ng/mL 又はµg/g)

品種及び体重	投与経路	動物数	投与量 (mg/kg 体重/日)	残留濃度		採材日
				血漿 (ng/mL)	脂肪 (µg/g)	
ヘレフォード種 未経産雌、体重 150~200 kg	ポアオン投 与、背中2か 所、単回投与	4 (血漿)	1.5	9±4	1.2	投与 84 日 後
		1 (脂肪)	2.5	10±3	1.6	
ヘレフォード種 未経産雌、体重 271~277 kg	ポアオン投 与、16週間 隔、2回投与	4	1.5	12±5	2.5±0.9	初回投与 42日後
ブラーム種 去勢雄、体重 280 kg	ポアオン投 与、24時間間 隔、2回投与	4	1.5	13±5	1.4±0.4	初回投与 42日後
ホルスタイン種 未経産雌、体重 200 kg	ポアオン投 与、単回投与	2	1.25	6±2	1.2	投与 42 日 後
ヘレフォード種 未経産雌、体重 217 kg	ポアオン投 与、単回投与	3	1.25	<2±0.5	0.73±0.14	投与 42 日 後

フルアズロンをポアオン投与された牛から授乳した子牛にフルアズロンの移行及び蓄積がみられた。(参照3)

(2) 残留試験 (牛、皮下投与)

去勢牛(品種不明、3頭/時点)に¹⁴C 標識フルアズロン(標識位置不明)が単回皮下投与(1.5 mg/kg 体重)され、投与2日並びに2、6及び16週間後の組織中総残留濃度が測定された。

組織中総残留濃度を表6に示した。脂肪中濃度は一貫して肝臓及び腎臓中濃度より約10倍以上高かった。脂肪は常に最も高い残留を示した。(参照3)

表 6 牛における ^{14}C 標識フルアズロン単回皮下投与後の
組織中総残留濃度 ($\mu\text{g eq/g}$)

組織	投与後期間			
	2 日	2 週間	6 週間	16 週間
肝臓	0.640~0.903	0.238~0.353	0.230~0.326	0.090~0.140
腎臓	0.269~0.585	0.098~0.214	0.114~0.206	0.071~0.171
筋肉	0.094~0.210	0.027~0.121	0.032~0.082	0.010~0.035
脂肪	0.37~6.89	1.43~4.63	1.76~3.20	0.51~1.17

牛（品種、性別及び頭数不明）にフルアズロンを単回局所投与（2 mg/kg 体重）し、投与 4 週間後の組織中のフルアズロン濃度が測定された。

フルアズロン濃度は、脂肪（2.4 $\mu\text{g/g}$ ）で最も高く、肝臓（0.10 $\mu\text{g/g}$ ）、腎臓（0.07 $\mu\text{g/g}$ ）及び筋肉（0.07 $\mu\text{g/g}$ ）では低く認められた。脂肪中濃度は、投与 16 週間後で 0.5 $\mu\text{g/g}$ まで徐々に低下した。この残留のパターン及び消失は、他の単回投与試験によって確かめられている。概して、脂肪中濃度は、他の組織中より約 10 倍高かった。投与部位の皮下脂肪及び他の部位（皮下、腎臓又は大網）の脂肪中濃度に差はみられなかった。（参照 5、6）

放射標識された残留物の大部分は、抽出力の弱い溶媒で抽出可能であった。牛では、全時点の全ての組織で、フルアズロンが総残留放射活性の 90%以上を占めた。（参照 3）

（3）残留試験（妊娠牛）

妊娠牛（品種及び頭数不明）にフルアズロンを 12 週間隔で 3 回ポアオン投与（2 又は 4 mg/kg 体重）し、初回投与 6 週間後に生まれた子牛から、それぞれの親牛の第 2 回、第 3 回投与 6 週間後の時期に、皮下脂肪生検標本を採取した。投与の 2 及び 3 年目に、子牛に前年度親牛が受けた同じ投与量及び投与間隔で、直接ポアオン投与し、再び各回投与 6 週間後に、脂肪生検標本を採取した。これらを用いて脂肪中のフルアズロン濃度が測定された。

脂肪中のフルアズロンの最高値は、投与した年の春にみられた。年 3 回投与の 3 年目の終わりにおいて、脂肪中にフルアズロン残留物の蓄積はみられなかった。2 及び 4 mg/kg 体重の投与量で処理したとき、生後 12 週の子牛の脂肪中の初期残留物の最高値はそれぞれ 4.2 及び 6.8 $\mu\text{g/g}$ であり、投与 3 年後の牛（約 2.5 歳）の最高値はそれぞれ 1.6 及び 2.3 $\mu\text{g/g}$ であった。（参照 3）

牛（品種、性別及び頭数不明）にフルアズロンを 12 週間隔で 3 回局所投与（4 mg/kg 体重）し、脂肪生検標本中のフルアズロン濃度が調べられた。

投与 6 週間後における脂肪中のフルアズロン濃度は、2.1~3 $\mu\text{g/g}$ であった。血漿及び脂肪中の濃度は、第 2 回投与後にはより少なくなり、第 3 回投与後には更に少なくなった。

フルアズロンは、牛の乳汁を介して子牛へと移行し、最終的に血漿及び脂肪中の濃度は、母牛より子牛の方が高くなった。12 週間隔の複数回投与により残留物の蓄積を引き起こすことはなかった。春に行った投与後の残留濃度は高い傾向がみられたが、これは冬毛のグルーミングのためであると考えられた。(参照 5、6)

3. 遺伝毒性試験

フルアズロンの *in vitro* 及び *in vivo* における遺伝毒性試験結果を表 7 及び 8 にまとめた。(参照 4~6、10)

表 7 *in vitro* 試験

検査項目	試験対象	用量	結果
復帰突然変異試験	<i>Salmonella typhimurium</i> TA98、TA100、TA1535、 TA1537	1.14~278 µg/mL ^a (±S9)	陰性
遺伝子突然変異試験	チャイニーズハムスターV79 細胞	12.5~500 ng/mL (+S9) 0.625~25 µg/mL (-S9)	陰性
染色体異常試験	ヒトリンパ球	14.1~225 µg/mL (+S9) 7.5~120.0 µg/mL (-S9)	陰性
DNA 修復試験	ラット肝細胞	0.4~300 µg/mL	陰性
	ヒト線維芽細胞	0.2~50 µg/mL	陰性

a: 遺伝毒性なし。しかしながら、S9 存在下、最高濃度で沈殿が生じた。

表 8 *in vivo* 試験

検査項目	試験対象	用量	結果
核異常試験	チャイニーズハムスター骨髄 細胞	1.25~5.0 g/kg 体重/日 ^a	陰性 ^b

a: 連続した 2 日間に強制投与されたその日毎の投与量。シクロフォスファミドを陽性対照として用いた。

b: 著者は 5.0 g/kg 体重を投与可能な最高用量と考えて試験を実施したが、細胞毒性が認められなかったため、実際に骨髄が暴露されていたかは明らかではない。

in vitro では、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細胞を用いた遺伝子突然変異試験、ヒトリンパ球を用いた染色体異常試験、ラット肝細胞及びヒト線維芽細胞を用いた DNA 修復試験で陰性であった。

in vivo では、チャイニーズハムスターの骨髄を用いた核異常試験で陰性の結果が得られているが、細胞毒性がみられなかったため、結論は得られなかった。

しかし、*in vitro* の試験で全て陰性であったこと及び構造が類似しているジフルベンズロンに遺伝毒性はないこと(参照 11) から、フルアズロンは生体にとって問題となる遺伝毒性は示さないと考えられた。

4. 急性毒性試験

(1) 急性毒性試験 (ラット)

ラットにおけるフルアズロンの急性毒性の結果を表 9 に示した。(参照 4~6、10)

表 9 ラットにおけるフルアズロンの急性毒性

動物種	性別及び動物数	投与経路	LD ₅₀ (mg/kg 体重)
ラット	雌雄 (系統及び動物数不明)	経口 (0.5%CMC 及び 0.1% ポリソルベート含有水溶液)	>5,000
	(系統、性別及び匹数不明)	経皮	>2,000
	(系統、性別及び匹数不明)	吸入	LC ₅₀ (mg/m ³) >5,994

* : LC₅₀ (mg/m³)

観察された中毒症状は、鎮静作用、呼吸困難、眼球突出、立毛及び異常な体位であった。被験動物は6～11日以内に回復した。(参照4)

5. 亜急性毒性試験

(1) 3週間亜急性毒性試験(ラット、経皮投与) <参考資料⁵>

SPF ラット (Tif:RAIf 系、雌雄各 5 匹/群) を用いたフルアズロン原体の 3 週間経皮投与 (0、10、100 又は 1,000 mg/kg 体重/日、媒体: 蒸留水) による亜急性毒性試験が実施された。投与は、被験動物の剃毛した皮膚にフルアズロンを浸したガーゼ・パッチにより一日 6 時間、週 5 日で行われた。

唯一観察された所見は、100 mg/kg 体重/日投与群の雄における、僅かではあるが、明らかなプロトロンビン時間 (PT) の延長であった。(参照 4)

(2) 28日間亜急性毒性試験(ラット、経口投与) <参考資料⁶>

SPF ラット (Tif:RAIf 系、雌雄各 10 匹/群) を用いたフルアズロン原体の 28 日間強制経口投与 (0、10、100 又は 2,000⁷ mg/kg 体重/日、媒体: 0.5%CMC 及び 0.1%Tween 80 含有蒸留水) による亜急性毒性試験が実施された。毒性症状がみられなかったため、投与開始 10 日以降に投与量を増量したが、最終投与量はそれぞれ 0、3.2～5.6、35～60 及び 1,660～1,920 mg/kg 体重/日であった。

死亡率、臨床症状、眼科検査、体重、摂餌量及び飲水量、剖検又は病理組織学的検査では、投与に関連した影響はみられなかった。

血液生化学検査では、統計的に有意な変化がみられたが、用量相関性がない又は生物学的妥当性がないため、投与に関連したものとは考えられなかった。100 mg/kg 体重/日

⁵ 経皮投与であることから参考資料とした。

⁶ 本試験では、試験期間中に投与量が増量されていることから、参考資料とした。

⁷ JECFA の Food Additives Series No. 39 の 2.2.2 では、最高用量が 1,000 mg/kg 体重/日と記載されているが、同資料の 3. Comments、JECFA の Technical Report Series No. 879 及び EMEA の Summary Report では 2,000 mg/kg 体重/日と記載されていることから、本評価書では 2,000 mg/kg 体重/日と記載した。

以上投与群の全ての雄において、僅かではあるが、統計的に有意で、用量相関的な PT の延長、血小板数 (PLT) の減少が認められた。

臓器重量については、全ての投与動物で肝臓重量が増加しており、100 mg/kg 体重/日以上投与群では統計的に有意であった。100 mg/kg 体重/日以上投与群の雄では胸腺重量が減少し、2,000 mg/kg 体重/日投与群でのみ統計的に有意であった。これらの重量変化には病理組織学的所見はみられなかった。(参照 4~6)

最大無作用量 (NOEL) は 3.2~5.6 mg/kg 体重/日と考えられたが、10 及び 100 mg/kg 体重/日投与群において投与量が意図された用量に達していないことから、本試験の妥当性は限定的である。(参照 4)

JECFA は、PT の延長、肝臓重量の増加、PLT の減少及び胸腺重量の低下が 100 mg/kg 体重/日以上投与群の雄でみられ、13 週間亜急性毒性試験 [5. (3)] においても雄は雌よりも感受性が高かったとしている。(参照 4)

EMEA は、NOEL を 10 mg/kg 体重/日 (3.2 mg/kg 体重/日に相当) と設定した。(参照 5、6)

(3) 13 週間亜急性毒性試験 (ラット、混餌投与)

SPF ラット (Tif:RAIf 系、雌雄各 20 匹/群) を用いたフルアズロン原体の 13 週間混餌投与 [混餌濃度は 0、100、600、3,500 又は 20,000 ppm (雄で 0、6.4、39、220 及び 1,300 mg/kg 体重/日、雌で 0、6.6、41、240 及び 1,400 mg/kg 体重/日に相当)] による亜急性毒性試験が実施された。本試験の毒性所見を表 10 に示した。

死亡率、臨床症状、眼科検査又は剖検では、投与に関連した影響は認められなかった。

体重及び摂餌量は、投与群の雄で対照群と比べて僅かに低下したが、飼料効率に影響はみられなかった。

血液生化学検査では、投与群の雌雄ともに統計的に有意な変化がみられたが、一貫性のある変化がない (用量依存性がない又は生物学的妥当性がない) ため、投与に関連したものとは考えられなかった。全ての投与群の雄において、PT の軽度の延長 (用量相関性があり、3,500 ppm 以上投与群で統計学的に有意) 及びリンパ球数の増加 (用量相関性があり、20,000 ppm 投与群で統計学的に有意) が認められた。

切片が無作為に作製されていないといった質の劣る試験設計だったが、全ての投与群の雄、少なくとも 100 ppm 投与群で肝臓の絶対及び相対重量並びにグリコーゲン沈着が有意に増加していた。心臓 (雄)、腎臓、卵巣及び副腎 (雌) の絶対及び相対重量の変化は病理組織学的所見を伴っていなかった。3,500 ppm 以上投与群の雌雄において、軽度~中等度の肝細胞肥大がみられ、3,500 ppm 以上投与群の雄では甲状腺濾胞上皮細胞の肥大及び脳下垂体細胞肥大の発生頻度及び強度の僅かな増加が認められた。

著者らは、600 ppm の雄で肝臓重量の影響がみられているが、NOEL は 600 ppm (39~41 mg/kg 体重/日に相当) であるとしている。(参照 4)

JECFA は、600 ppm 以上投与群の雄に肝臓の絶対及び相対重量の増加、3,500 ppm 以上投与群の雌に肝細胞肥大がみられ、肝臓への影響を基に NOEL を 100 ppm (6.4 mg/kg 体重/日に相当) と設定した。また、同様の所見がラットを用いた慢性毒性/発がん性併合試験 [6. (3)] では観察されなかったことに留意すべきであるとしている。(参照

4)

EMEA は、NOEL を 100 ppm (6.4 mg/kg 体重/日に相当) と設定した。(参照 5、6)
 食品安全委員会動物用医薬品専門調査会は、本試験において、全ての投与群の雄に肝臓の絶対及び相対重量の増加、3,500 ppm 以上投与群の雌雄に肝細胞肥大がみられたことから、雄では無毒性量 (NOAEL) を設定できず、最小毒性量 (LOAEL) を 100 ppm (6.4 mg/kg 体重/日に相当) と設定し、雌では NOAEL を 600 ppm (41 mg/kg 体重/日に相当) と設定した。

表 10 ラットの 13 週間亜急性毒性試験における毒性所見

投与量	雄	雌
20,000 ppm	・リンパ球数の増加	
3,500 ppm 以上	・PT の延長 ・軽度～中等度の肝細胞肥大 ・甲状腺濾胞細胞肥大及び下垂体細胞肥大の発生頻度及び強度の僅かな増加	・軽度～中等度の肝細胞肥大
600 ppm 以上		600 ppm 以下
100 ppm 以上	・肝臓の絶対及び相対重量の増加 ・グリコーゲン沈着の増加	毒性所見なし

(4) 1 か月間亜急性毒性試験 (イヌ、混餌投与) <参考資料⁸>

イヌ (ビーグル種、雌雄各 2 匹/群) を用いたフルアズロン原体の 1 か月間混餌投与 [混餌濃度は 200 又は 50,000 ppm (摂取量として 8.5 又は 2,200 mg/kg 体重/日に相当)] による亜急性毒性試験が実施された。

死亡例はみられなかった。臨床症状、摂餌量、体重増加量、検眼鏡的、血液学的、臨床的及び尿中パラメーター並びに肉眼的及び病理組織学的所見に、投与に関連したと考えられる変化はみられなかった。(参照 4)

(5) 3 か月間亜急性毒性試験 (イヌ、混餌投与) <参考資料⁹>

イヌ (ビーグル種、雌雄各 4～6 匹/群) を用いたフルアズロン原体の 3 か月間混餌投与 (混餌濃度は 0、500、5,000 又は 50,000 ppm) による亜急性毒性試験が実施された。

各群のうち何匹かが試験中に感染症 (おそらくレプトスピラ症) の症状を示した。

感染症に起因しない所見は、5,000 ppm 以上投与群の雌における主幹動脈の変性、炎症又は肥大性変化であった。しかし、この所見は、1 年間慢性毒性試験 [6. (1)] の 13 週目における中間検査では確認されなかった。(参照 4)

⁸ 用量設定試験であること、用いた動物数が少なく、対照群が設定されていないことから参考資料とした。

⁹ 本試験では感染症がみられたことから、参考資料とした。

6. 慢性毒性及び発がん性試験

(1) 1年間慢性毒性試験（イヌ、混餌投与）

イヌ（ビーグル種、雌雄各6匹/群）を用いたフルアズロン原体の1年間混餌投与〔混餌濃度は0、200、3,000又は50,000 ppm（雄で0、7.5、110又は1,900 mg/kg 体重/日、雌で0、7.1、120又は2,000 mg/kg 体重/日に相当）〕による慢性毒性試験が実施された。衛星群（雌雄各2匹）を設定し、投与開始13週で中間検査（死亡率、臨床症状、体重、摂餌量、検眼鏡検査、血液学的、血液化学的及び尿検査、臓器重量並びに剖検及び病理組織学的検査を含む。）を実施した。本試験の毒性所見を表11に示した。

死亡例はみられなかった。投与の影響は、主に50,000 ppm 投与群の雄2例（1例は13週で、もう1例は52週で安楽死処置）にみられ、摂餌量の低下、一過性の体重減少並びに13週以降におけるALP、AST及びALTの上昇であった。病理組織学的検査では、50,000 ppm 投与群の雄に肝臓に軽度な慢性炎症を伴う微細な多巣性出血がみられた。

3,000 ppm 投与群の雄の13週以降及び50,000 ppm 投与群の雌の39週以降にALP活性の軽度の上昇も認められた。50,000 ppm 投与群の雌ではリン濃度が僅かに低下した。（参照4～6）

JECFAは、3,000 ppm 投与群の雄に、摂餌量の減少、一過性の体重減少、ALP、AST及びALTの上昇並びに肝臓の軽度な慢性炎症を伴う微細な多巣性出血がみられ、3,000 ppm 投与群の雄及び50,000 ppm 投与群の雌にALPの軽度の上昇がみられたことから、NOELを200 ppm（7.5 mg/kg 体重/日に相当）と設定した。（参照4）

EMEAは、NOELを200 ppm（7.5 mg/kg 体重/日に相当）と設定した。（参照5、6）

食品安全委員会動物用医薬品専門調査会は、本試験において、50,000 ppm 投与群の雄において、ALP、AST及びALTの上昇並びに肝臓における病理所見がみられ、ALP上昇は3,000 ppm 投与群の雄及び50,000 ppm 投与群の雌においてもみられたことから、NOAELを雄で200 ppm（7.5 mg/kg 体重/日に相当）、雌で3,000 ppm（120 mg/kg 体重/日に相当）と設定した。

表 11 イヌの1年間慢性毒性試験における毒性所見

投与量	雄	雌
50,000 ppm	・摂餌量の低下、一過性の体重減少、 ・ALP、AST及びALTの上昇、肝臓の慢性炎症を伴う微細な多巣性出血	・ALP 上昇、リン濃度低下
3,000 ppm 以上	・ALP 上昇	3,000 ppm 以下
200 ppm	毒性所見なし	毒性所見なし

(2) 2年間慢性毒性/発がん性併合試験（ラット、混餌投与）

SPFラット（Tif:RAIF系、雌雄各80匹/群）を用いたフルアズロン原体の2年間混餌投与〔混餌濃度は0、50、500、10,000又は20,000 ppm（雄で0、1.9、18、380又は780 mg/kg 体重/日、雌で0、2.1、21、440又は920 mg/kg 体重/日に相当）〕による慢性

毒性/発がん性併合試験が実施された。各群雄雌各 10 匹を 1 年後の中間検査に用いた。臨床症状、死亡率、体重、摂餌量、検眼鏡検査、血液学的（雌雄各 20 匹/群）、血液化学的（雌雄各 10 匹/群）及び尿検査（雌雄各 10 匹/群）並びに臓器重量を観察し、詳細な剖検及び病理組織学的検査を実施した。

生存率（対照群 56～67%、投与群 54～73%）については、投与による影響はみられなかった。20,000 ppm 投与群において最終検査時にはみられなかったが中間検査時に軽微な影響が認められ、影響は雌では形態学的変化を伴わない肝臓及び腎臓の相対重量の有意な低下、雄では軽微な肝細胞肥大であった。また、同投与群の雌では投与 2 年目に体重増加量が低下したが、統計学的な有意差はみられなかった。これらの所見は毒性学的に重要でないものと考えられた。

腫瘍の発生率の増加はみられなかった。

500 ppm 以上投与群の雌雄におけるフルアズロンの濃度は血液中で 1.3～2.3 µg/mL、脂肪中で 290～440 µg/g であったことから、体内のフルアズロンの総量は 500 ppm の投与で最大に達するようにみえた。50 ppm 投与群では定常状態には到達しなかった。血液：脂肪の比率は、全群においてほぼ 1：200 であった。（参照 4～6）

本試験では 13 週間亜急性毒性試験 [5. (3)] でみられた肝臓への毒性影響が中間及び最終検査でもみられなかった。JECFA は、マウスを用いた発がん性試験 [6. (3)] 及び本試験において、体内のフルアズロンの総量は、比較的低濃度 [マウス及びラットでそれぞれ約 400 及び 500 ppm（それぞれ 43 及び 18 mg/kg 体重/日に相当）] で最大に達するようにみえ、それより高い投与量では血液及び脂肪中のフルアズロン濃度が増加しなかったと報告している。理由は明確になっていない。また、短期投与試験では、血液及び脂肪中の濃度が測定されていないため、同様の影響が生じているかはわからないとしている。（参照 4）

EMEA は、本試験の NOEL を 20,000 ppm (730 mg/kg 体重/日に相当¹⁰) と設定し、フルアズロンに発がん性はないとしている。（参照 5、6）

本試験は公比が 2.5～20 倍ととても大きくなっているが、食品安全委員会動物用医薬品専門調査会は、本試験において、20,000 ppm 投与群でみられた影響は毒性学的に重要ではないと考えられたため、NOAEL を最高用量である 20,000 ppm（雄で 780 mg/kg 体重/日、雌で 920 mg/kg 体重/日に相当）と設定した。発がん性はみられなかった。

（3）2 年間発がん性試験（マウス、混餌投与）

SPF マウス（Tif:MAGf 系、雌雄各 60 匹/群）を用いたフルアズロン原体の 2 年間混餌投与 [混餌濃度は 0、40、400、4,000 又は 9,000 ppm（雄で 0、4.5、45、450 又は 990 mg/kg 体重/日、雌で 0、4.3、43、430 又は 970 mg/kg 体重/日に相当）] による発がん性試験が実施された。臨床症状、死亡率、体重、摂餌量及び飲水量、血液化学的变化（雌雄各 10 匹/群）並びに臓器重量について観察し、詳細な剖検及び病理組織学的検査を実施した。本試験の毒性所見を表 12 に示した。

生存率（対照群 40～45%、投与群 43～58%）、臨床症状、体重及び摂餌量に投与によ

¹⁰ EMEA 評価書のとおり記載した。

る影響はみられなかった。飲水量は、9,000 ppm 投与群の雌、試験 2 年目の 400 及び 4,000 ppm 投与群の雌で一貫して増加したが、40 ppm 投与群の雌及び全ての投与群の雄では対照群と同程度であった。

血液学的検査、臓器重量及び剖検では投与に関連した変化を示さなかった。

投与に関連した非腫瘍性病変として、4,000 ppm 以上投与群の雌雄において、水晶体の線維被膜の軽度の壊死及び石灰沈着を特徴とする白内障の発生率の増加、4,000 ppm 以上投与群の雄で前立腺組織のびまん性過形成の発生率の増加傾向がみられた。更に、用量相関性がない子宮の変化（400 ppm 以上投与群で炎症性ポリープの発生率の増加、4,000 ppm 以上投与群で内腔の拡張の増加、9,000 ppm 投与群で血栓症を伴う血腫及び血管拡張の増加）がみられた。

腫瘍の発生率は増加しなかったが、9,000 ppm 投与群の何例かのいくつかの臓器において悪性リンパ腫を伴う全身性浸潤の発生率の僅かな増加が認められた。動物 1 匹当たりのリンパ腫の総数及びリンパ腫を有する動物の総数は、対照群との間に有意な差はみられなかった。（参照 4）

本試験において、4,000 及び 9,000 ppm 投与群におけるフルアズロン濃度は血液中で 4.9~8.7 µg/mL、脂肪中で 880~970 µg/g であったが、400 ppm 投与群においても僅かに低だけであったことから、体内のフルアズロンの総量は約 400 ppm の投与で最大に達するようにみえた。40 ppm 投与群では定常状態には到達しなかった。血液：脂肪の比率は、全群においておよそ 1：200 であった。（参照 4~6）

JECFA は、本試験及びラットを用いた慢性毒性/発がん性併合試験[6. (2)]において、体内のフルアズロンの総量は、比較的 low 濃度 [マウス及びラットでそれぞれ約 400 及び 500 ppm（それぞれ 43 及び 18 mg/kg 体重/日に相当）] で最大に達するようにみえ、それより高い投与量では血液及び脂肪中のフルアズロン濃度は増加しなかったと報告している。理由は明確になっていない。また、短期投与試験では、血液及び脂肪中の濃度が測定されていないため、同様の影響が生じているかはわからないとしている。子宮における病理組織学的変化を基に NOEL を 40 ppm（4.3 mg/kg 体重/日に相当）と設定した。（参照 6）

EMEA は、本試験の NOEL を 40 ppm（4.3 mg/kg 体重/日に相当）と設定し、フルアズロンに発がん性はないとしている。（参照 5、6）

食品安全委員会動物用医薬品専門調査会は、本試験において、4,000 ppm 以上投与群の雄で白内障の発生率の増加等、400 ppm 以上投与群で子宮の炎症性ポリープの発生率の増加等がみられたことから、NOAEL を雄で 400 ppm（45 mg/kg 体重/日に相当）、雌で 40 ppm（4.3 mg/kg 体重/日に相当）と設定した。発がん性はみられなかった。

表 12 マウスの 2 年間発がん性試験における毒性所見（非腫瘍性病変）

投与量	雄	雌
9,000 ppm		・子宮の血栓症を伴う血腫及び血管拡張の増加

4,000 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・白内障の発生率の増加 ・前立腺組織のびまん性過形成の増加 	<ul style="list-style-type: none"> ・白内障の発生率の増加 ・子宮の内腔拡張の増加
--------------	--	--

400 ppm 以上	400 ppm 以下 毒性所見なし	<ul style="list-style-type: none"> ・飲水量の増加 ・子宮の炎症性ポリープの増加
40 ppm		毒性所見なし

7. 生殖発生毒性試験

(1) 繁殖試験に先立つ用量設定試験（ラット）〈参考資料¹¹⁾〉

ラット（Ico:OFA SD 系、雄 7 匹及び雌 14 匹/群）を用いたフルアズロン原体の混餌投与（混餌濃度は 0、200、1,000、7,000 又は 20,000 ppm）による 2 世代繁殖試験に先立って、用量設定試験が実施された。雄には交配前 2 週間及び交配期間中に投与し、その後安楽死処置した。雌には交配 2 週間前から分娩後 21 日まで投与し、その後雌及びその児と一緒に安楽死処置した。

試験中に雌雄いずれにおいても死亡又は投与に関連した臨床症状はみられなかった。F₀動物の摂餌量、体重増加量、交配前期間及び妊娠持続期間に、投与による影響はみられなかった。また、授精、生殖能力、受精率、胚の死亡吸収率、死産、哺育行動、F₁の生存児数、それらの身体発育又は新生児期若しくは出生後の死亡率に影響はみられなかった。

F₁の出生時の平均体重は影響を受けなかったが、7,000 ppm 以上投与群において成長率の僅かな遅延が哺乳期間の終了頃にみられた。

剖検では投与に関連した影響は認められなかった。（参照 4）

(2) 2 世代繁殖試験（ラット）

ラット（Ico:OFASD 系、雌雄各 30 匹/群）を用いたフルアズロン原体の混餌投与（混餌濃度は 0、100、1,500 又は 20,000 ppm ; 0 又は 5~1,000 mg/kg 体重/日に相当）による 2 世代繁殖試験が実施された。投与は交配前からその後連続 2 世代の妊娠及び授乳期間にわたり、少なくとも 100 日間行われた。F_{1a}動物を選択して、次世代を得るとともに、離乳後に親動物（P 及び F₁）を剖検した。次世代繁殖に選ばれなかった F_{1a}並びに F_{1b}、F_{2a} 及び F_{2b}は哺乳 21 日後に検査された。

親動物で唯一認められた影響は摂餌量及び体重のみであり、生殖機能について影響はみられなかった。20,000 ppm 投与群の F₁雌では、最初の妊娠期間の体重が僅かに低下し、1,500 ppm 以上投与群では 2 回の哺乳期間の最後に摂餌量が僅かに低下する傾向を示した。

20,000 ppm 投与群の両世代の新生児の生存率は、最初の交配後に僅かに低下したが、その後の交配からの同腹児は影響を受けなかった。出生 4 日から離乳までの児の生存率

¹¹⁾ 用量設定試験であることから参考資料とした。

ほどの世代においても影響を受けなかった。全ての同腹児の出生時の体重は対照群と同等であった。しかし、20,000 ppm 投与群における体重増加量は、全ての世代 (F_{1a}、F_{1b}、F_{2a} 及び F_{2b}) で低下し、1,500 ppm 投与群では F_{1a}、F_{2a} 及び F_{2b} 世代で低下していた。(参照 4~6)

JECFA 及び EMEA は、本試験の NOEL を 100 ppm (5 mg/kg 体重/日に相当) と設定した。(参照 4~6)

食品安全委員会動物用医薬品専門調査会は、本試験において、フルアズロンは親動物に一般毒性的影響を及ぼさなかったことから、親動物に対する NOAEL を最高用量の 20,000 ppm (1,000 mg/kg 体重/日に相当) と設定した。また、1,500 ppm 以上投与群に児動物の僅かな成長遅延 (体重増加量の低下) がみられたことから、児動物に対する NOAEL を 100 ppm (5 mg/kg 体重/日に相当) と設定した。

(3) 発生毒性試験 (ラット)

交尾を確認した SPF ラット (Tif:RAIf 系、雌 24 匹/群) にフルアズロン原体を強制経口投与 (0、10、100 又は 1,000 mg/kg 体重/日、媒体 : 0.1%ポリソルベート溶液) し、発生毒性試験が実施された。投与を妊娠 6~15 日に行い、妊娠 21 日に母動物及び胎児を検査した。

100 mg/kg 体重/日投与群の母動物 1 例は全胎児を流産した。投与に関連した影響は母動物では観察されなかった。また、着床数、生存児数、胚の死亡吸収率、胎児重量及び同腹児重量に投与による影響は認められなかった。(参照 4~6)

JECFA 及び EMEA は、フルアズロンは 1,000 mg/kg 体重/日まで投与しても母体毒性はなく、胚毒性、胎児毒性及び催奇形性を示さなかったとしている。(参照 4~6)

食品安全委員会動物用医薬品専門調査会は、本試験において、母動物並びに胚及び胎児への影響はみられなかったことから、NOAEL を最高用量である 1,000 mg/kg 体重/日と設定した。催奇形性は認められなかった。

(4) 発生毒性試験 (ウサギ)

交尾を確認したウサギ (チンチラ種、雌 20 匹/群) にフルアズロン原体を経口投与 (0、10、100 又は 1,000 mg/kg 体重/日、媒体 : 3 w/w % トウモロコシデンプン水溶液) し、発生毒性試験が実施された。投与を妊娠 7~19 日に行い、妊娠 29 日に母動物及び胎児を検査した。

1,000 mg/kg 体重/日投与群の雌 1 匹が不完全な挿管により死亡し、別の 1 匹には全胚吸収が認められた。着床後胚死亡率は、早期胚死亡吸収率が僅かに高くなったことにより、全ての投与群で僅かに増加した。しかし、背景データの範囲内であることから、投与に関係したものではないと考えられた。生存胎児数及び腹ごとの同腹児合計体重は投与の影響を受けなかった。全ての投与群で胎児体重が僅かに増加したため、各群における平均胎児体重の増加は統計的に有意であったが、腹ごとの同腹児合計体重に有意な差は認められなかった。他の影響は観察されなかった。(参照 4~6)

JECFA 及び EMEA は、フルアズロンは 1,000 mg/kg 体重/日まで投与しても母体毒性はなく、胚毒性、胎児毒性及び催奇形性を示さなかったとしている。(参照 4~6)

食品安全委員会動物用医薬品専門調査会は、本試験において、母動物並びに胚及び胎児への影響はみられなかったことから、NOAELを最高用量である1,000 mg/kg 体重/日と設定した。催奇形性は認められなかった。

8. その他の知見

(1) 急性眼刺激性試験（ウサギ）

ウサギ（NZW種、雄3匹）にフルアズロン原体0.1 mLを点眼（56 mg）し、眼刺激性が調べられた。

投与後24時間までに動物は少し赤色に変化し、角膜及び結膜に浮腫を生じた。虹彩の炎症は認められなかった。（参照4）

(2) 急性皮膚刺激性試験（ウサギ）

ウサギ（NZW種、雄3匹）にフルアズロン原体0.5 gを半密閉塗布し、皮膚刺激性が調べられた。

皮膚反応は認められなかった。（参照4）

(3) 急性皮膚刺激性試験（モルモット）

モルモット（パーブライトホワイト種、雌雄各10匹）にフルアズロン原体を20%のプロピレングリコールを用いて皮内投与又はワセリンを用いて表皮に塗布（投与量不明）し、最適化試験が実施された。

皮膚感作は認められなかった。（参照4）

(4) 安全性試験

牛（ヘレフォード種、雌雄各3頭/群）の首から臀部にかけての背中に沿って、市販フルアズロン製剤を0回（対照群）、単回、3回又は5回ポアオン投与（2 mg/kg 体重）し、安全性試験が実施された。被験動物を投与後8週間観察し、副作用を観察した。

動物に刺激や不快感をもたらさない毛皮の痂皮（硬い層）形成以外に、全ての投与量で影響はみられなかった。体重、摂餌量、体温、血液学的又は血液生化学的パラメーターに薬剤に関連する変化はみられなかった。（参照4）

市販ポアオン製剤を規定の用法・用量に従って使用した場合、牛の毛皮に痂皮（硬い層）が生じたが、動物は投与による刺激に対する臨床症状を示さなかった。病理組織学的検査では皮膚に小さな病理学的変化が認められたのみで、これは皮の品質には影響しない。（参照4）

市販フルアズロン製剤を単回皮下投与（1 mg/kg 体重）された牛又は2回皮下投与（2.5 mg/kg 体重を投与後、5 mg/kg 体重を投与）されたイヌにおいて、投与部位に副作用及び局所反応はみられなかった。（参照4）

(5) 抗真菌作用

ベンジルフェニル尿素誘導体が抗真菌活性を示すとの報告がいくつかある。作用機序として、真菌細胞壁のキチンの合成阻害に関係している可能性がある。これらの抗真菌作用以外に、フルアズロンには有効な抗菌活性があるとは考えられていない。(参照 5、6)

(6) フルアズロンの分解産物<参考資料¹²⁾>

牛肉中に存在するフルアズロンについて、加熱調理（通常のオーブン加熱、煮る、炒める又はレンジ調理）による分解産物の生成が検討された。1.5 mg/kg 体重の用量でフルアズロンを皮下投与（推奨された投与方法ではない）した去勢牛由来の筋肉及び脂肪試料を用いて分析した結果、フルアズロンは筋肉試料では部分的に、脂肪試料では完全に分解し、[3-(3-chloro-5-trifluoro-methyl-2-pyridinyloxy)-4-chlorophenyl]-1-amine に変換された。

この分解産物は、*S. typhimurium* の TA98、TA100、TA1535 及び TA1537 株又は *Escherichia coli* の WP2 *uvrA* 株を用いた復帰突然変異試験において変異原性を示さなかった。(参照 4)

¹²⁾ 加熱調理による分解産物についての遺伝毒性試験であることから参考資料とした。

III. 食品健康影響評価

1. 国際機関等の評価

(1) JECFA の評価

JECFA は、1997 年にフルアズロンの評価結果を公表している。JECFA は、マウスを用いた 2 年間慢性毒性/発がん性併合試験における子宮の病理組織学的変化に関する NOEL 4.3 mg/kg 体重/日及び安全係数 100 に基づいて、一日摂取許容量 (ADI) を 0～40 µg/kg 体重と設定した。(参照 4)

(2) EMEA の評価

EMEA は、2005 年及び 2006 年にフルアズロンの評価結果を公表している。EMEA は、各種毒性試験で最も低い NOEL であるマウスを用いた 2 年間試験の子宮の病理組織学的変化に基づく 4.3 mg/kg 体重/日に安全係数 100 を用いて、ADI を 0.043 mg/kg 体重と設定した。(参照 5、6)

2. 食品健康影響評価について

フルアズロンは、*in vitro* における遺伝毒性試験で全て陰性であったこと及び構造が類似しているジフルベンズロンに遺伝毒性はないことから、生体にとって問題となる遺伝毒性は示さないと考えられた。また、マウスを用いた発がん性試験及びラットを用いた慢性毒性/発がん性併合試験において、発がん性は認められなかった。したがって、フルアズロ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であると判断された。

フルアズロンの各種毒性試験の結果から最も低い用量で認められた影響は、マウスを用いた 2 年間発がん性試験における雌の子宮の炎症性ポリープの増加であり、NOAEL は 40 ppm (4.3 mg/kg 体重/日に相当) であった。ラットを用いた 13 週間亜急性毒性試験において、肝臓の絶対及び相対重量の増加並びにグリコーゲン沈着が全ての投与群の雄にみられ、NOAEL は得られず、LOAEL は 100 ppm (6.4 mg/kg 体重/日に相当) であった。しかし、これらの所見は、より長期の 2 年間慢性毒性/発がん性試験ではみられていないことから、毒性学的に重要ではなく、得られた LOAEL は NOAEL に近いものと判断された。

これらのことから、フルアズロンの ADI の設定に当たっては、マウスを用いた 2 年間発がん性試験の NOAEL (4.3 mg/kg 体重/日) に安全係数として 100 (種差 10 及び個体差 10) を適用し、0.043 mg/kg 体重/日とすることが適切であると考えられた。

以上より、フルアズロンの食品健康影響評価については、ADI として次の値を採用することが適当と考えられる。

フルアズロン 0.043 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。

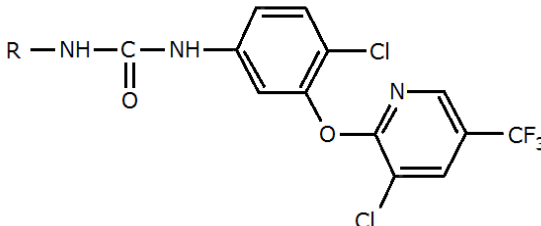
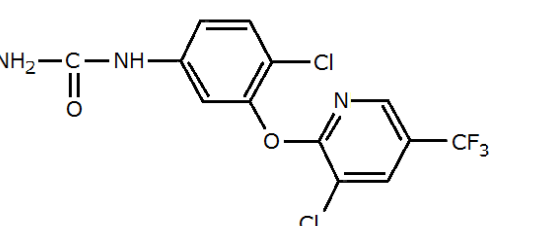
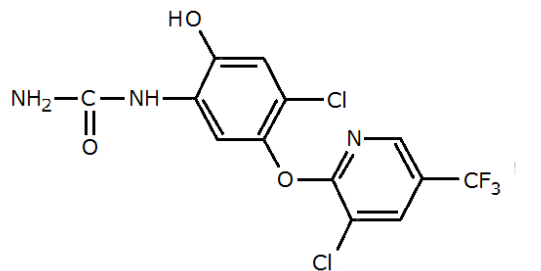
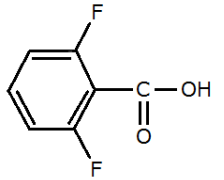
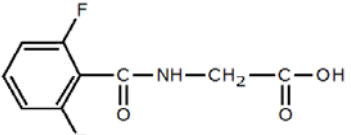
表 13 JECFA 及び EMEA における各種試験の無毒性量等の比較

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	2 年間発がん性	0、40、400、4,000、9,000 ppm (雄：0、4.5、45、450、990、雌：0、4.3、43、430、970 に相当)、混餌投与	4.3 (40 ppm) (NOEL) 雌：飲水量の増加、子宮の病理変化 (炎症性ポリープ) 発がん性なし	4.3 (40 ppm) (NOEL) 雌：飲水量の増加、至急の炎症性ポリープ 発がん性なし
ラット	3 週間亜急性毒性	0、10、100、1,000、 経皮投与 (6 時間/日、週 5 日)	— 雄：僅かだが明らかな PT の延長	
	28 日間亜急性毒性	0、10、100、2,000 (最終投与量 0、3.2~5.6、35~60、1,660~1,920)、 強制経口投与	— 100 以上：PT の延長 (雄)、肝臓重量の増加、PLT 及び胸腺重量の低下	3.2~5.6 (10) (NOEL) 雄：PT の延長、肝臓重量の増加、PLT 及び胸腺重量の低下
	13 週間亜急性毒性	0、100、600、3,500、 20,000 ppm (雄：0、6.4、39、220、1,300、雌：0、6.6、41、240、1,400 に相当)、混餌投与	6.4 (100 ppm) (NOEL) 雄：肝臓の絶対及び相対重量の増加	6.4 (100 ppm) (NOEL) 雄：肝臓の絶対及び相対重量の増加
	2 年間慢性毒性/発がん性併合	0、50、500、10,000、 20,000 ppm (雄：0、1.9、18、380、780、雌：0、2.1、21、440、920 に相当)、混餌投与	— 毒性学上有意な影響なし 発がん性なし	雄 730 (20,000 ppm) ¹³
	多世代繁殖毒性	0、1,000、7,000、20,000 ppm、混餌投与	— 7,000 ppm：成長率の僅かな遅延 (授乳期間)	
	2 世代繁殖毒性	0、100、1,500、20,000 ppm (0、5~1,000 に相当)、混餌投与	5 (100 ppm) (NOEL) 児動物の成長の僅かな遅延	5 (100 ppm) (NOEL) 児動物の成長の僅かな遅延
	発生毒性	0、10、100、1,000、 強制経口投与	1,000 母体毒性、胚/胎児毒性なし 催奇形性なし	1,000 母体毒性、胚/胎児毒性なし 催奇形性なし
ウサギ	発生毒性	0、10、100、1,000、 経口投与	1,000 母体毒性、胚/胎児毒性なし 催奇形性なし	1,000 母体毒性、胚/胎児毒性なし 催奇形性なし
イヌ	1 か月間亜急性毒性	200、50,000 ppm (8.5、2,200 に相当)、 混餌投与	— 投与に関連したと考えられる変化はなし	

¹³ EMEA 評価書のとおり記載した。

3 か月間 亜急性毒 性	0、500、5,000、50,000 ppm、混餌投与	— 5,000 ppm 雄：主幹動脈 の変性、炎症、肥大	
1 年間慢 性毒性	0、200、3,000、50,000 ppm (雄：0、7.5、110、1,900、 雌：0、7.1、120、2,000 に 相当)、 混餌投与	7.5 (200 ppm) (NOEL) 雄：ALP の僅かな増加	7.5 (200 ppm) (NOEL) 雄：ALP の僅かな増加
ADI 設定根拠		NOEL : 4.3 SF : 100	NOEL : 4.3 SF : 100
ADI 設定根拠資料		マウスを用いた2年間発 がん性試験	マウスを用いた2年間発 がん性試験
ADI		0.04	0.043

<別紙 1 : 代謝物/分解物略称>

略称	化学名
代謝物 A	
代謝物 B	<p>3-[3-(3-クロロ-5-トリフルオロメチル-2-ピリジニルオキシ)-4-クロロ-6-ヒドロキシフェニル]ウレア</p> 
代謝物 C	<p>3-[3-(3-クロロ-5-トリフルオロメチル-2-ピリジニルオキシ)-4-クロロ-6-ヒドロキシフェニル]ウレア</p> 
代謝物 D	<p>2,6-ジフルオロ安息香酸</p> 
代謝物 E	<p>2,6-ジフルオロ馬尿酸</p> 

<別紙2：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)]
CMC	カルボキシメチルセルロース
EMEA	欧州医薬品審査庁
JECFA	FAO/WHO 合同食品添加物専門会議
LC ₅₀	半数致死濃度
LD ₅₀	半数致死量
LOAEL	最小毒性量
LSC	液体シンチレーション計測
NOAEL	無毒性量
NOEL	最大無作用量
PEG	ポリエチレングリコール
PLT	血小板数
PT	プロトロンビン時間
T _{1/2}	(消失) 半減期
TLC	薄層クロマトグラフィー

<参照>

1. 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（平成 17 年 11 月 29 日付、厚生労働省告示第 499 号）
2. SchiFinder®
3. JECFA: Fluazuron. Residues of some veterinary drugs in foods and animals, 41-10. 1997.
4. JECFA: Fluazuron. Toxicological evaluation of certain veterinary drug residues in food. WHO Food Additives Series, No. 39, 1997.
5. EMEA: Committee for Medicinal Products for Veterinary Use, FLUAZURON, Summary Report, 2005.
6. EMEA: Committee for Medicinal Products for Veterinary Use, FLUAZURON, Summary Report (2), 2006.
7. ブラッド獣医学辞典, 文永堂出版, 1998 年
8. Novartis Animal Health Home Page
9. ノバルティスアニマルヘルス株式会社：フルアズロン食品健康影響評価関連資料（牛の代謝試験）（Ciba-Geigy Limited: [CHLOR-PHENYL-(U)-¹⁴C] CGA 157419: Nature of Metabolites in Excreta and Tissues in Ruminant Cattle Following Single Topical Administration, 1996.）（非公開）
10. JECFA: Fluazuron. Evaluation of certain veterinary drug residues in food (Forty-eighth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives). WHO Technical Report Series, No. 879, 1998.
11. 食品安全委員会. 「食品健康影響評価について」（平成 27 年 7 月 28 日付け府食第 637 号）別添：農薬・動物用医薬品評価書「ジフルベンズロン」

動物用医薬品（フルアズロン）に係る食品健康影響評価に関する審議結果(案)についての
意見・情報の募集結果について

1. 実施期間 平成27年8月5日～平成27年9月3日
2. 提出方法 インターネット、ファックス、郵送
3. 提出状況 動物用医薬品「フルアズロン」に係る食品健康影響評価に関する審議結果（案）について、上記のとおり、意見・情報の募集を行ったところ、期間中に意見・情報はありませんでした。

動物用医薬品「フルアズロン」に係る評価書の変更点

修正箇所	食品安全委員会第 577 回会合資料 (変更後)	食品安全委員会第 572 回会合資料 (変更前)
P20 L↓17	JECFA は、(中略)、それより高い投与量では血液及び脂肪中のフルアズロン濃度が増加しなかったと報告している。理由は明確になっていない。また、短期投与試験では、血液及び脂肪中の濃度が測定されていないため、同様の影響が生じているかはわからないとしている。	JECFA は、(中略)、それより高い投与量では血液及び脂肪中のフルアズロン濃度が増加しなかった。理由は明確になっていない。短期投与試験では、血液及び脂肪中の濃度が測定されていないため、同様の影響が生じているかはわからないとしている。
P.21 L↓19	JECFA は、(中略)、それより高い投与量では血液及び脂肪中のフルアズロン濃度は増加しなかったと報告している。理由は明確になっていない。また、短期投与試験では、血液及び脂肪中の濃度が測定されていないため、同様の影響が生じているかはわからないとしている。JECFA は、子宮における病理組織学的変化を基に NOEL を 40 ppm (4.3 mg/kg 体重/日に相当) と設定した。	JECFA は、(中略)、それより高い投与量では血液及び脂肪中のフルアズロン濃度は増加しなかった。理由は明確になっていない。短期投与試験では、血液及び脂肪中の濃度が測定されていないため、同様の影響が生じているかはわからないとしている。子宮における病理組織学的変化を基に NOEL を 40 ppm (4.3 mg/kg 体重/日に相当) と設定した。

※ P ; ページ数、L↓ ; 当該ページの上から数えた行数、L↑ ; 当該ページの下から数えた行数