

（案）

動物用医薬品評価書

フルメキン

2017年6月

食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会

目次

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

1	(5) 90日間亜急性毒性試験(ラット).....	26
2	(6) 14日間亜急性毒性試験(モルモット) <参考資料>.....	27
3	(7) 21日間亜急性毒性試験(イヌ) <参考資料>.....	28
4	(8) 90日間亜急性毒性試験(イヌ).....	28
5	(9) 15.5週間亜急性毒性試験(サル) <参考資料>.....	28
6	6. 慢性毒性及び発がん性試験.....	29
7	(1) 1年間慢性毒性試験(イヌ).....	29
8	(2) 18か月間発がん性試験(マウス) ①.....	30
9	(3) 18か月間発がん性試験(マウス) ②<参考資料><マウスにおけるフルメキンの	
10	投与期間の長さ&肝臓の毒性変化及び腫瘍性変化の関連性>.....	31
11	(4) 2年間慢性毒性及び発がん性試験(ラット).....	33
12	(5) フルメキンのマウスにおける肝腫瘍発がんに関する知見メカニズム.....	34
13	7. 生殖発生毒性試験.....	39
14	(1) 生殖毒性試験(ラット).....	39
15	(2) 発生毒性試験(マウス) ①.....	40
16	(3) 発生毒性試験(マウス) ②.....	41
17	(4) 発生毒性試験(ラット).....	41
18	(5) 発生毒性試験(ウサギ).....	42
19	8. 微生物学的影響に関する試験.....	43
20	(1) ヒト腸内細菌叢分離菌に対する最小発育阻止濃度(MIC) ①.....	43
21	(2) ヒト腸内細菌叢分離菌に対するMIC ②.....	43
22	(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).....	44
23	(4) ヒト腸内細菌叢の利用分画.....	44
24	9. ヒトにおける知見.....	45
25	10. 一般薬理試験.....	45
26	(1) ヘキサバルビタール性睡眠時間に対する影響.....	45
27	11. その他の毒性試験.....	45
28	(1) 関節への影響に関する試験 13週間亜急性毒性試験(イヌ、若齢) <関節への影響	
29	>.....	45
30		
31	III. 国際機関等の評価.....	47
32	1. JECFAにおける評価.....	47
33	2. EMEAにおける評価.....	48
34		
35	IV. 食品健康影響評価.....	50
36	1. 毒性学的ADIについて.....	50
37	2. 微生物学的ADIについて.....	51
38	3. ADIの設定について.....	51
39		
40		

1	・ 表 30 JECFA、EMEA 及び食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会における各種試	
2	験の無毒性量等の比較.....	52
3	・ 別紙 1 : 検査値等略称.....	54
4	・ 別紙 2 : 代謝物名称.....	55
5	・ 参照.....	56
6		
7		

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

2017年 6月 16日 第 123 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)

小泉 直子 (委員長)

見上 彪 (委員長代理*)

長尾 拓

野村 一正

畑江 敬子

廣瀬 雅雄

村田 容常

* : 2009年 7月 9日から

(2012年 6月 30日まで)

小泉 直子 (委員長)

熊谷 進 (委員長代理*)

長尾 拓

野村 一正

畑江 敬子

廣瀬 雅雄

村田 容常

* : 2011年 1月 13日から

(2015年 6月 30日まで)

熊谷 進 (委員長*)

佐藤 洋 (委員長代理*)

山添 康 (委員長代理*)

三森 国敏 (委員長代理*)

石井 克枝

上安平 冽子

村田 容常

* : 2012年 7月 2日から

5

(2017年 1月 6日まで)

佐藤 洋 (委員長)

山添 康 (委員長代理)

熊谷 進

吉田 緑

石井 克枝

堀口 逸子

村田 容常

(2017年 1月 7日から)

佐藤 洋 (委員長)

山添 康 (委員長代理)

吉田 緑

山本 茂貴

石井 克枝

堀口 逸子

村田 容常

6

7

8 <食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会専門委員名簿>

(2015年 9月 30日まで)

津田 修治 (座長*)

今井 俊夫 (座長代理*)

荒川 宜親 戸塚 恭一

池 康嘉 中山 裕之

石原 加奈子 細川 正清

今田 千秋 宮島 敦子

桑形 麻樹子 宮本 亨

(2016年 10月 1日から)

今井 俊夫 (座長)

山中 典子 (座長代理)

荒川 宜親 菅井 基行

今田 千秋 高橋 和彦

植田 富貴子 戸塚 恭一

川本 恵子 中山 裕之

桑形 麻樹子 宮島 敦子

小林 健一 山田 雅巳 小林 健一 宮本 亨
下位 香代子 山中 典子 佐々木 一昭 山田 雅巳
高橋 和彦 吉田 敏則 下位 香代子 吉田 敏則

* : 2013年10月10日から

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10

〈第 87 回肥料・飼料等専門調査会専門参考人名簿〉

唐木 英明

〈第 123 回肥料・飼料等専門調査会専門参考人名簿〉

唐木 英明

要 約

1
2
3
4
5
6
7
8
9

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 I. 評価対象動物用医薬品の概要

2 1. 用途

3 抗菌剤

4

5 2. 有効成分の一般名

6 和名：フルメキン

7 英名：Flumequine

8

9 3. 化学名

10 CAS (No. 42835-25-6)

11 英名：9-Fluoro-6,7-dihydro-5-methyl-1-oxo-1*H*,5*H*benzo[*ij*]quinolizine-2
12 -carboxylic acid

13

14 4. 分子式

15 $C_{14}H_{12}FNO_3$

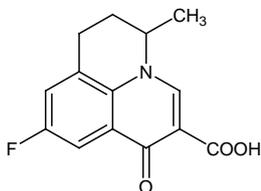
16

17 5. 分子量

18 261.25

19

20 6. 構造式



21

(参照 1) [\[Merck Index\]](#)

22 7. 使用目的及び使用状況

23 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。

24 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
25 使用される。主に、家畜の腸管感染症の治療に用いられる。ヒト用医薬品としては、尿
26 路感染症の治療に限定的に用いられる。(参照 2~6) [\[FAS 51, p1, Explanation\]](#) [\[FAS 53,](#)
27 [p1, Explanation\]](#) [\[EMEA \(1\), 項目 1\]](#) [\[EMEA \(2\), 項目 1\]](#) [\[EMEA \(3\), 項目 1\]](#)

28 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。

29 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)

30

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 II. 安全性に係る知見の概要

2 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
3 な知見を整理した。

4 検査値等略称は別紙に記載した。

5

【事務局より】

現在の評価書案の体裁に合致するように、表の様式、単位の統一等の記載整備等を行
いました。

6

7 1. 薬物動態試験

8 (1) 薬物動態試験 (ラット及びイヌ)

9 ラット (系統、齢、匹数及び性別不明) 及びイヌ (品種、齢及び頭数不明、雄) に ^{14}C
10 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。(参
11 照 8、9) [FAS 33, p1 の 2.1.1] [TRS 851, p16 の上から 2 段落目]

12

13 ①血漿中濃度

14 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
15 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
16 間であった。

17 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 μg
18 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
19 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を示し、 $T_{1/2}$ は α 相で
20 75 分、 β 相では 6.5 時間であった。

21

22 ②排泄・代謝

23 両動物種ともに投与 5 日以内に尿及び糞中から投与量のほとんどが回収され、組織
24 中にフルメキンやその代謝物はほとんど存在しないことが示された。

25 ~~フルメキンの~~排泄について、ラットとイヌでは著しく異なっていた。ラットでは投
26 与量の 10~15%が糞に排泄されたが、イヌでは投与量の 55~75%が糞に排泄された。
27 ラットでは、投与量の 20~36%が尿に未変化体として排泄され、フルメキンの抱合体
28 として排泄されるものはほとんどなかった。イヌの尿中に未変化体としてみられたの
29 は投与量の 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。投与
30 後 24 時間の尿中未変化体濃度は、両動物種でほぼ同様であった。

31

32 (2) 薬物動態試験 (牛)

33 子牛 (品種及び性別不明、体重 54~82kg、4 頭) に ^{14}C 標識フルメキンを経口又は筋
34 肉内投与し、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
35 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
36 取した。~~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 4、5、10)
37 [EMEA(1), 項目 15] [EMEA(2), 項目 2] [FNP41/10, p60, Pharmacokinetics]

1
2 ①吸収及び排泄（経口投与）

3 経口投与試験では、血漿中濃度推移は筋肉内投与の血漿中濃度推移と同様であった
4 が、より低値であった。初回投与後の血漿中濃度は、投与 0.5 時間後に C_{max} (2.5～
5 5.8 mg eq/L) に達した後、第 2 回投与直前には 0.8～1.5 mg eq/L に低下した。繰り
6 返し投与により、最終投与まで定常状態が持続した。全血中放射活性濃度は血漿中濃
7 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の 52
8 ～73%は尿に排泄され（最初の 24 時間で 49～70%）、糞への排泄は 21～36%であっ
9 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。

10
11 ②吸収及び排泄（筋肉内投与）

12 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} (5.2
13 ～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 であった。
14 繰り返し投与により、最終投与まで定常状態が持続した。最終投与後、血漿中放射活
15 性はゆっくりと減少し、最終投与 168 時間後には 0.2 mg eq/L となった。全血中放射
16 活性濃度は血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
17 された放射活性の 48～63%は尿に排泄され（最初の 24 時間で 47～61%）、糞への排
18 泄は 21～41%であった。最終投与後 168 時間の放射活性の総回収率は 85～96%であ
19 った。

20
21 ~~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~~
22 ~~（尿中：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~~
23 ~~内に回収された。~~

24
25 (3) 薬物動態試験（えび）

26 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
27 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
28 が実施された（水温 28～32℃）。筋肉中のフルメキン濃度を HPLC によって経時的（投
29 与 1～360 時間の間に 20 回）に測定した。

30 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ーを
31 表 2 に示した。

32 筋肉中濃度は、筋肉内投与で投与 2 時間後に C_{max} (2,616.45 ng/g) に達し、投与 216
33 時間後に定量限界 (5 ng/g) 未満に低下した。強制経口投与では、投与 12 時間後に最高
34 濃度 (365.8 ng/g) 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
35 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
36 の筋肉中の AUC は、筋肉内投与後の 1/5 であった。（参照 11、12）[FNP41/15, p44, の一
37 番上の段落] [TRS918, p14, Residue data]

1 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^a(ng/g)
 2 ^a

投与経路	投与後時間 (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

3 LOQ : 定量限界(5 ng/g)未満 n=9 水温 28~32℃
 4 a : 9尾の筋肉をプールした試料

5
 6 表2 えびにおけるフルメキン単回筋肉内又は強制経口
 7 投与後の薬物動態パラメーター

パラメーター	筋肉内	経口
T _{1/2β} (h)	33.45	60.21
MRT (h)	28.17	35.07
AUC (μg · h ⁻¹ /kg)	56.55	12.23
F (%)	/	
C _{max} (μg/kg)	<u>2,616.45</u>	365.81
T _{max} (h)	<u>2</u>	<u>12.0</u>

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

9
 10 (4) 代謝試験 ~~(in vivo)~~

11 ① 牛

12 ~~a-~~子牛(品種及び性別不明)に¹⁴C標識フルメキンを10回投与(投与経路不明)し、代
 13 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体
 14 重を9回投与した。

15 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、
 16 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、これらの試料中の全
 17 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あ
 18 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に示
 19 した。(参照4、5、10、13) [EMEA(1), 項目19] [EMEA(2), 項目15の最初の段落] [FNP
 20 41/10, p62, Metabolism] [TRS 879, p40, Residue data]

1 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)}

- 2 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)
 3 b : 酵素による脱抱合後に測定
 4 c : 最終投与 6 時間後
 5 d : より極性の高い代謝物も存在
 6

【事務局より】

前回ご審議いただいた際に、肝臓の下段の数値について、本試験の元となる資料が入手でき、数値の意味が確認できれば記載を残すとされましたが、元となる資料は入手できませんでしたので、数値は削除しました。

7
 8 ~~b-~~ 上記の代謝試験において、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
 9 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
 10 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
 11 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
 12 間の経過とともにリングマイマイ (*Helix pomatia*) 由来の酵素を用いて脱抱合~~化~~した酢
 13 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
 14 20%は、抱合体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
 15 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。

16 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
 17 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-
 18 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
 19 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
 20 キンは 2~12%であった。M1 は、抗菌活性を持たず、遊離型及びタンパク結合型として
 21 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
 22 れなかった。(参照 4、5、10、13、14) [EMEA (1), 項目 20] [EMEA (2), 項目 15 の 2 段
 23 落目] [FNP 41/10, p62, Specific Studies of the Metabolism of Flumequine in Calf Liver] [TRS
 24 879, p40, Residue data の最初の段落] [FNP 41/13, p44, Previous studies of the metabolism of
 25 flumequine in calf liver]

26
 27
 28

1 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 関連物
 2 質の経時放射活性に対する割合 主要代謝物

		最終投与後時間 (h)				
		6	24	72	120	168
総放射活性濃度 ($\mu\text{mg eq/kg}$)		7.73	5.41	4.19	3.98	3.00
総放射活性に対する抽出放射 活性の割合 (%) (タンパク質非消化)		65.5	51.0	48.2	41.1	48.5
代謝物 関連物質 の抽出放 射活性に 対する割 合 (%)	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

3 n 数不明 ND : 不検出

4
 5 筋肉内投与又は経口投与後の尿又は糞中において同定された2種の主要 関連物質代謝
 6 物は、未変化体及びその水酸化 体物であった。尿及び糞において、フルメキンは検出し
 7 た放射活性の約80%を占め、水酸化 体物は10~20%であった。他の未知の物質(12%)
 8 が筋肉内投与後の尿にのみみられた。(参照4、5) [EMEA (1), 項目17] [EMEA (2), 項目
 9 2]

10
 11 e.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
 12 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
 13 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
 14 最長筋、脂肪及び投与部位を採材し、HPLCによるフルメキンの測定(定量限界: 筋肉
 15 25 ng/g、肝臓、腎臓及び脂肪 50 ng/g)、並びに総放射活性及び抗菌活性の測定を 実施に
 16 供した。抗菌活性は、試験菌として *Morganella morganii* を用いて、寒天拡散法(採用
 17 した試験方法は不詳)によって測定した(定量限界: 筋肉、肝臓及び腎臓 100 ng/g、脂
 18 肪 250 ng/g)。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
 19 であった。

20 HPLC及び放射活性の分析の結果を表5に示した。

21 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
 22 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、
 23 脂肪及び投与部位では、フルメキンは放射活性のほとんど全てが未変化体として回収さ
 24 れた。

25 抗菌活性を有する残留物の平均濃度は、筋肉で414 ng/g、脂肪で1,110 ng/g、肝臓で
 26 1,794 ng/g、腎臓で4,547 ng/gであった。抗菌活性を有する総残留物に対するフルメキン
 27 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、
 28 14、15) [EMEA (2), 項目16] [FNP41/13, p45, Cattle] [TRS 900, p10, Residue data]

1 表5 牛における ¹⁴C 標識フルメキン 5 日間皮下投与後の組織中フルメキン濃度 (ng/g)
 2 及び総放射活性濃度 (ng eq/g)

試料	HPLC (ng/g)	総放射活性濃度 (ng eq/g)	HPLC と総放射活性濃度の比率
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 ^a	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

3 n=6 平均 ± 標準偏差 HPLC における定量限界：筋肉 25 ng/g、肝臓、腎臓及び脂肪 50 ng/g
 4 a：腎臓周囲、大網及び皮下の脂肪の混合物

6 ② 羊

7 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
 8 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、その
 9 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、最終投与は右
 10 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、脂肪及び投与部位を
 11 採材し、HPLC によるフルメキンの測定（定量限界 5 ng/g） 及び総放射活性の測定を**実**
 12 **施**に供した。抗菌活性は、試験菌として *Morganella morganii* を用いて、寒天拡散法（採
 13 用した試験方法は不詳）によって測定した（定量限界：筋肉、肝臓及び腎臓 100 ng/g、
 14 脂肪 250 ng/g）。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
 15 物であった。

16 HPLC 及び放射活性の測定の結果を表 6 にまとめた。

17 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
 18 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
 19 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。

20 フルメキンが、測定した組織において抗菌活性を有する主な残留物質であった。

21 （参照 5、14、15）[EMEA (2), 項目 18] [FNP41/13, p46, Sheep] [TRS 900, p11 の上から
 22 2 段落目]

24 表6 羊における ¹⁴C 標識フルメキン 5 日間筋肉内投与後の組織中フルメキン濃度 (ng/g)
 25 及び総放射活性濃度 (ng eq/g)

試料	HPLC (ng/g)	総放射活性濃度 (ng eq/g)	HPLC と総放射活性濃度の比率
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 ^a	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

26 n=6 平均 ± 標準偏差 HPLC における定量限界：5 ng/g

1 a：腎臓周囲、大網及び皮下の脂肪の混合物

3 ③ 豚

4 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
5 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 体重を投与
6 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
7 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、
8 脂肪及び投与部位を採材し、HPLC によるフルメキンの測定（定量限界 50 ng/g）、並び
9 に総放射活性及び抗菌活性の測定を実施に供した。抗菌活性は、試験菌として *M.*
10 *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（定量限
11 界：筋肉、肝臓及び腎臓 100 ng/g、脂肪付き皮膚 250 ng/g）。測定に用いた脂肪は、腎
12 臓周囲、大網及び皮下の脂肪の混合物であった。

13 HPLC 及び放射活性の測定の結果を表 7 にまとめた。

14 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
15 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
16 及び脂肪では放射活性の約 25%が代謝物又は結合型残留物であった。~~（参照 14、15）~~
17 ~~[FNP41/13, p45, Pigs] [TRS 900, p10 の下、Pigs]~~

18 抗菌活性を有する残留物の濃度は、筋肉、脂肪付き皮膚、肝臓、腎臓及び投与部位で
19 それぞれ 378、288、803、3,024 及び 131,422 ng/g であった。抗菌活性を有する総残留
20 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 1、肝臓で 0.58 及び腎臓
21 で 0.78 であった。

22 フルメキンが、測定した組織において抗菌活性を有する主な残留物質であった。（参照
23 5、14、15） [EMEA (2), 項目 20] [FNP41/13, p45, Pigs] [TRS 900, p10 の下、Pigs]

25 表 7 豚における ¹⁴C 標識フルメキン 5 日間筋肉内投与後の組織中フルメキン濃度
26 (ng/g) 及び総放射活性濃度 (ng eq/g)

試料	HPLC (ng/g)	総放射活性濃度 (ng eq/g)	HPLC と総放射活性濃度の 比率
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 ^a	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

27 n=6 平均 ± 標準偏差 HPLC における定量限界：50 ng/g

28 a：腎臓周囲、大網及び皮下の脂肪の混合物

30 ④ 鶏

31 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
32 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
33 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

1 採材し、HPLC によるフルメキンの測定 (定量限界: 筋肉、肝臓及び脂肪付皮膚 25 ng/g、
 2 腎臓 100 ng/g)、並びに総放射活性及び抗菌活性の測定を実施に供した。抗菌活性は、
 3 試験菌として *M. organii* を用いて、寒天拡散法 (採用した試験方法は不詳) によって
 4 測定した (定量限界: 筋肉、肝臓及び腎臓 100 ng/g、脂肪付き皮膚 250 ng/g)。

5 HPLC 及び放射活性の測定の結果を表 8 にまとめた。

6 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
 7 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
 8 謝物又は結合型残留物であった。脂肪 (大網) には測定可能なフルメキンの代謝物はみ
 9 られなかった。~~(参照 14、15) [FNP41/13, p46, Chickens] [TRS 900, p11, Chickens]~~

10 抗菌活性を有する残留物の濃度は、筋肉、脂肪付き皮膚、腎臓及び肝臓でそれぞれ 629、
 11 528、1,519 及び 2,013 ng/g であった。抗菌活性を有する総残留物に対するフルメキン
 12 の比率は、筋肉で 0.81、脂肪付き皮膚で 0.5、肝臓で 0.72 及び腎臓で 0.79 であった。

13 フルメキンが、測定した組織において抗菌活性を有する主な残留物質であった。 ((参
 14 照 5、14、15) [EMA (2), 項目 22] [FNP41/13, p46, Chickens] [TRS 900, p11, Chickens])

16 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組織中フルメキン濃度 (ng/g)
 17 及び総放射活性濃度 (ng eq/g)

試料	HPLC (ng/g)	総放射活性濃度 (ng eq/g)	HPLC と総放射活性濃度の比率
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
脂肪(大網)	129 ± 38	123 ± 44	1.09 ± 0.20

18 n=6 平均 ± 標準偏差

19 HPLC における定量限界: 筋肉、肝臓及び脂肪付皮膚 25 ng/g、腎臓 100 ng/g

21 ⑤ にじます

22 7°C 又は及び 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
 23 g、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
 24 スで 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
 25 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 に
 26 よるフルメキンの測定 (定量限界 50 ng/g)、並びに 総放射活性及び抗菌活性の測定 を実
 27 施に供 した。抗菌活性は、試験菌として *M. organii* を用いて、寒天拡散法 (採用した
 28 試験方法は不詳) によって測定した (定量限界 100 ng/g)。

29 HPLC 及び放射活性の測定の結果を表 9 にまとめた。

30 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)–~~
 31 ~~[FNP41/13, p47, Trout] [TRS 900, p11, Trout]~~

32 抗菌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 時間後でそれぞ
 33 れ 4,046 及び 4,415 ng/g であり、抗菌活性を有する総残留物に対するフルメキンの比率

1 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 36 及び 96 時間後で
 2 4,495 及び 2,541 ng/g であり、抗菌活性を有する総残留物に対するフルメキンの比率は、
 3 それぞれ 0.79 及び 0.67 であった。(参照 5、[14](#)、[15](#)) [EMEA (2), 項目 24] [FNP41/13, p47,
 4 [Trout](#)] [TRS 900, p11, [Trout](#)]

5
 6 表 9 にじますにおける 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フルメ
 7 キン濃度 (ng/g) 及び総放射活性濃度 (ng eq/g)

試料	HPLC (ng/g)	総放射活性濃度 (ng eq/g)	HPLC と総放射活性濃度の 比率
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

8 n=5 平均 ± 標準偏差 HPLC における定量限界 : 50 ng/g

9
 10 ⑥ *in vitro* の代謝試験—(*in vitro*)—

11 マウス、ラット、子牛、豚、鶏、ます及び羊 (全て系統、[品種](#)、年齢、匹 (頭) 数及
 12 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
 13 は、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
 14 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[抱合化](#)され、
 15 ~~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) [EMEA
 16 (1), 項目 18] [EMEA (2), 項目 2 の 4 段落目]

17
 18 2. 残留試験

19 (1) 残留試験 (牛、経口投与) ²

20 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
 21 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
 22 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
 23 に腎臓、肝臓、筋肉及び脂肪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
 24 度を HPLC によって測定した (フルメキンの定量限界 : 肝臓、脂肪及び腎臓 0.05 µg/g、
 25 筋肉 0.025 µg/g、7-ヒドロキシフルメキンの定量限界 : 不明)。

26 各時点の組織中フルメキン濃度を表 10 に示した。

27 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、腎臓でか
 28 らは微量 (最終投与 24 及び 48 時間後にそれぞれ 0.171 µg/g 及び 0.050µg/g 未満であ
 29 り) が検出された。(参照 4、5、10、13) [EMEA (1), 項目 25][EMEA (2), 項目 17] [FNP41/10,
 30 p64 の真ん中の試験] [TRS 879, p40 の一番下の段落]

31
 32

² 参照 4 及び 5 に記載されている試験と参照 10 及び 13 に記載されている試験は同一の試験と判断
 し、試験結果をまとめて記載した。

1 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 (µg/g)

試料 (n=4)	最終投与後時間 (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

2 n=4
 3 定量限界：肝臓、脂肪及び腎臓 0.05 µg/g、筋肉 0.025 µg/g
 4 検出限界：0.018 µg/g
 5

6 (2) 残留試験 (牛、筋肉内投与) ³

7 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
 8 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 体重を投与
 9 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 時
 10 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
 11 キン濃度を HPLC によって測定した (フルメキンの定量限界：肝臓、脂肪及び腎臓 0.05
 12 µg/g、筋肉 0.025 µg/g、7-ヒドロキシフルメキンの定量限界：不明)。

13 各時点の組織中フルメキン濃度を表 11 に示した。

14 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 ~~で~~からは微
 15 量 (最終投与 24、48 及び 72 時間後にそれぞれ 0.108、0.053 µg/g 及び 0.050 µg/g 未満
 16 ~~であつ~~) が検出された。(参照 4、5、10、13) [EMEA (1), 項目 25][EMEA (2), 項目 17]
 17 [FNP41/10, p64 の最初の試験] [TRS 879, p40 の下から 2 段落目]
 18

19 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フルメキン濃度 (µg/g)

試料	最終投与後時間 (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
投与部位	58.926		0.190		0.101

20 n=4
 21 LOQ (定量限界)：肝臓、脂肪及び腎臓 0.05 µg/g、筋肉 0.025 µg/g
 22 LOD (検出限界)：0.018 µg/g
 23
 24

³ 参照 4 及び 5 に記載されている試験と参照 10 及び 13 に記載されている試験は同一の試験と判断し、試験結果をまとめて記載した。

1 (3) 残留試験（乳汁、皮下投与）

2 ① 放射標識試験

3 牛（品種及び齢不明、4頭）に¹⁴C標識フルメキンを3日間皮下投与（12 mg/kg 体
4 重/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
5 汁中の総放射活性、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。総放
6 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
7 た（定量限界：5 ng/g）。抗菌活性を有する残留物の測定は、試験菌として *M. morganii*
8 を用いて、寒天拡散法（採用した試験方法は不詳）によって実施した（定量限界：100
9 ng/g、検出限界：50 ng/g）。

10 乳汁中の放射活性は、最終投与3時間後に808 ng eq/gであり、その後減少して、
11 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 ng
12 eq/gとなった。

13 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、
14 110、50、20及び8 ng/gであった。

15 抗菌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及び
16 130 ng/g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界（50
17 ng/g）未満となった。抗菌活性を有する残留物の総量に対するフルメキンの比率は
18 0.85であった。（参照6）[\[EMEA\(3\), 項目3\]](#)

19 ② 非放射標識試験

20 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
21 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
22 た。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 ng/g、検出限
23 界：1 ng/g）。

24 フルメキン濃度は、最終投与12時間後の107 ng/gから低下し、最終投与24、36
25 及び48時間後にはそれぞれ28、21及び11 ng/gとなった。その後の採取時点におい
26 て、フルメキンは数例から検出された（6～16 ng/g）のみであった。（参照6）[\[EMEA\(3\),](#)
27 [項目4\]](#)

28 (4) 残留試験（羊、筋肉内投与）⁴

29 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
30 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
31 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、
32 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
33 て測定した（フルメキンの定量限界：5 ng/g、7-ヒドロキシフルメキンの定量限界：不
34 明）。

35 各時点の組織中フルメキン濃度を表12に示した。

⁴ [参照4及び5に記載されている試験と参照10及び13に記載されている試験は同一の試験と判断し、試験結果をまとめて記載した。](#)

1 最終投与 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
 2 び肝臓で 10 ng/g 未満、腎臓で 100 ng/g 未満であった。(参照 4、5、10、13) [EMEA
 3 (1), 項目 29] [EMEA (2), 項目 19] [FNP41/10, p65 の一番下の試験] [TRS 879, p40 の一番下の
 4 段落]

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

試料 (n=4)	最終投与後時間 (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
<u>投与部位</u>	<u>2,519</u>		<u>38</u>		<u>8</u>

7 LOQ (定量限界): ~~筋肉、肝臓、脂肪、腎臓~~ 5 ng/g

9 (5) 残留試験 (豚、経口投与)

10 ① 経口投与試験

11 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、
 12 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
 13 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
 14 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 (定
 15 量限界 : 0.05 µg/g)。

16 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) [FNP41/10, p64, Pigs]
 17 [TRS 879, p40 の一番下の段落]

19 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 (µg/g)

試料	最終投与後時間 (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

20 n=4

21 LOQ (定量限界): 0.05 µg/g

22 LOD (検出限界): 筋肉 0.024 µg/g、肝臓 0.010 µg/g、腎臓 0.015 µg/g、脂肪 0.021 µg/g

24 (6) 残留試験 (豚、筋肉内投与)

25 ② 筋肉内投与試験

26 豚 (品種、性別及び齢不明) にフルメキンを筋肉内投与し、残留試験が実施された。
 27 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
 28 した。最終投与 12、24、48 及び 72 時間後の組織中フルメキン濃度を表 14 に示した。

29 7-ヒドロキシフルメキンは、最終投与 48 時間後の 肝臓及び腎臓にかなりの量 (~~0.19~~)

1 $\mu\text{g/g}$ が肝臓及び腎臓から検出されたが、筋肉では(0.024 $\mu\text{g/g}$ 未満)及び脂肪では
 2 (0.050 $\mu\text{g/g}$ 未満)では僅かに検出された程度であった。(参照 4、5) [EMEA (1), 項目
 3 26] [EMEA (2), 項目 21]

5 表 14 豚におけるフルメキン 5 日間筋肉内投与^a後の組織中フルメキン濃度 ($\mu\text{g/g}$)

試料	最終投与後時間 (h)			
	12	24	48	72
腎臓	1.879	0.460	0.370	0.155
肝臓	0.448	0.125	0.164	0.075
筋肉	0.194	0.065	0.080	<0.050
皮膚/脂肪	0.190	0.056	0.070	<0.050

6 n 数不明

7 a: 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

9 (7) 残留試験 (鶏、飲水投与)⁵

10 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/
 11 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、
 12 肝臓、筋肉及び脂肪中のフルメキン濃度を測定した。

13 各時点の組織中フルメキン濃度を表 15 に示した。

14 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。

15 7-ヒドロキシフルメキンは、最終投与 6 時間後に、筋肉で 0.170 $\mu\text{g/g}$ 、皮膚/脂肪で
 16 0.100 $\mu\text{g/g}$ 、肝臓で 1.100 $\mu\text{g/g}$ 及び腎臓で 1.900 $\mu\text{g/g}$ であり、最終投与 48 時間後には、
 17 筋肉では 0.010 $\mu\text{g/g}$ 未満、皮膚/脂肪では 0.050 $\mu\text{g/g}$ に、肝臓及び腎臓ではそれぞれ 0.185
 18 及び 0.165 $\mu\text{g/g}$ に低下した。(参照 4、5、10、13) [EMEA (1), 項目 27] [EMEA (2), 項目
 19 23] [FNP41/10, p65, Chickens] [TRS 879, p41 の下から 2 段落目]

21 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 ($\mu\text{g/g}$)

試料	最終投与後時間 (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
皮膚/脂肪	0.48 ~1.10	0.39 ~0.98	<LOQ ~0.12	<LOQ ~0.12	<LOQ	<LOD ~<LOQ

22 n=6

23 LOQ (定量限界): 肝臓、腎臓 0.1 $\mu\text{g/g}$ 、皮膚/脂肪 0.05 $\mu\text{g/g}$ 、筋肉 0.025 $\mu\text{g/g}$

24 LOD (検出限界): 筋肉 0.010 $\mu\text{g/g}$ 、肝臓、腎臓 0.030 $\mu\text{g/g}$ 、脂肪 0.015 $\mu\text{g/g}$

5 参照 4 及び 5 に記載されている試験と参照 10 及び 13 に記載されている試験は同一の試験と判断し、試験結果をまとめて記載した。

1 (8) 残留試験 (七面鳥、飲水投与)

2 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
3 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
4 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。

5 組織中のフルメキン濃度は、最終投与 24 時間後に筋肉、皮膚/脂肪、肝臓及び腎臓で
6 それぞれ 60、66、56 µg/kg 及び 100 ng/g 未満であった。最終投与 36 時間後には、筋
7 肉 (1例のみで検出: 115 ng/g)、肝臓及び腎臓からはフルメキンは定量可能な量は検出
8 されなかった。その後の時点では、フルメキンは皮膚/脂肪でのみ検出され、最終投与 48、
9 72 及び 96 時間後にそれぞれ 74、53 (n=5) 及び 56 ng/g (n=4) であった。腎臓では、
10 最終投与 48 及び 72 時間後に 100 ng/g 未満であったが、最終投与 96 時間後には検出限
11 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 時間後に検出されな
12 かった (13 ng/g 未満)。肝臓では、フルメキンは最終投与 48 時間後に 50 ng/g 未満で
13 あり、最終投与 72 及び 96 時間後には 6 ng/g 未満であった。

14 7-ヒドロキシフルメキンは、各時点で皮膚/脂肪の 2~3 例のみから検出され、その濃
15 度は 25~74 ng/g 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 (筋肉、
16 肝臓及び腎臓でそれぞれ 11、12 及び 11 ng/g 未満)。(参照 6) [EMEA (3), 項目 5]

17
18 (9) 残留試験 (にじます、混餌投与)

19 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
20 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
21 れた。通常比率の筋肉/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 HPLC
22 によって測定した (フルメキンの定量限界: 0.05 µg/g、7-ヒドロキシフルメキンの定量
23 限界: 不明)。

24 各時点の筋肉/皮膚中濃度を表 16 に示した。

25 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 4、5、
26 10、13) [EMEA (1), 項目 28] [EMEA (2), 項目 25] [FNP41/10, p66, Fish] [TRS 879, p41 の一
27 番下の試験]

28
29 表 16 にじますにおけるフルメキン 5 日間混餌投与後の筋肉/皮膚中フルメキン濃度
30 (µg/gmg/kg)

水温	最終投与後日数 (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

31 n=10

32 LOQ (定量限界): 0.05 µg/g LOD (検出限界): 0.018 µg/g NA: 分析せず

33
34 (10) 残留試験 (えび)

35 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
36 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
37 始当日から 15 日間測定した (定量限界: 5 ng/g)。

1 経時的な筋肉中フルメキン濃度を表 17 に示した。
 2 投与期間中のフルメキン濃度は低く (30~46 ng/g)、最終投与 96 時間後までに **定量**
 3 **検出**限界未満となった。(参照 11、12) [FNP41/15, p44, Medicated feed][TRS 918, p14 の
 4 一番下の段落]

5
 6 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 (ng/g)

	投与開始後日数 (日)						
	1	2	3	4	5		
筋肉中濃度	0	43.8	45.5	45.0	29.8		
	最終投与後時間 (h)						
	24	48	72	96	120	144	168
	28.5	22.7	9.29	<LOQ	<LOQ	0	0

7 LOQ (定量限界) : 5 ng/g n=9 水温 28~32°C

8

【事務局より】
 表 17 の最終投与 144 及び 168 時間後の残留濃度は、参照 11 の p45 の Table 2 の数値を引用して、「0」と記載しています。
 「0」の記載のままでよいか、「検出限界未満」と記載すべきかご検討お願いいたします。(参照 11 では検出限界は不明です。)

9
 10 **3. 遺伝毒性試験**

11 フルメキンの遺伝毒性試験結果を表 18 にまとめた。(参照 ~~2~~-3、8、16、17、22) [FAS
 12 ~~51, 2-2~~][FAS53, p2, 一番下の段落] [FAS33, p9, 2.2.6] [Toxicol Sci 2002] [Arch Toxicol 2007]
 13 [Arch Toxicol 2013]

14
 15 表 18 in-vitro 遺伝子突然変異試験結果

	検査項目	試験対象	用量	結果	参照
<u>in vitro</u>	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	<u>8</u> 1977年
	遺伝子突然変異試験	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	<u>8</u> 1985年
		チャイニーズハムスター卵巣由来(<u>CHO</u>)細胞 山田専門委員修文	0~200 µg/mL (±S9)	陰性	<u>8</u> 1985年
	<u>DNA 損傷試験 (コメットアッセイ)</u>	<u>チャイニーズハムスター肺由来(CHO)細胞</u> 山田専門委員修文	<u>0~625µg/mL (1 時間処理)</u>	陽性	<u>16</u> 2002年

<i>in vivo</i>	DNA 損傷試験(コメットアッセイ) ⁴⁾	マウス (<u>ddY 系、8 週齢</u>) 肝臓、胃、結腸、 腎臓、及び膀胱、肺、脾及び骨髄 他の組織 下位専門委員修文	単回経口投与(125、250、500 mg/kg 体重) 単回経口投与 3 及び 24 h 投与 1、3 又は 24 時間後に観察	陽性 (肝臓：250 mg/kg 体重(投与 3 時間後)、胃：250 及び 500 mg/kg 体重(投与 1 及び 3 時間後)、結腸：250 mg/kg 体重(投与 1 時間後)及び 500 mg/kg 体重(投与 1 及び 3 時間後)、膀胱：250 mg/kg 体重(投与 1 及び 3 時間後)及び 500 mg/kg 体重(投与 3 時間後))	16 2002 年
		マウス (<u>ddY 系、5 週齢</u>) 肝臓	単回経口投与(125、250、500 mg/kg 体重) 投与 3 又は 24 時間後に観察	陽性 (全用量：投与 3 時間後)	
		マウス (<u>ddY 系、8 週齢、肝部分切除</u>) 下位専門委員修文 肝臓	単回経口投与(125、250、500 mg/kg 体重) 投与 3 時間後に観察	陽性 (全用量)	
	DNA 損傷試験(8-OHdG 検出)	B6C3F1 <u>gpt delta</u> マウス (<u>B6C3F1、雌雄各 5 匹/群、肝臓</u>) 山田専門委員修文	13 週間混餌投与 (0.4%)	増加なし	17 2007 年
	不定期 DNA 合成試験	ラット (<u>Fischer 系、雄 3 匹/群</u>) 肝臓	単回強制経口投与 (156.25、312.5、625 mg/kg 体重) 投与 2~4 又は 12~16 時間後に観察 単回経口投与	陰性	3 2003 年
	染色体異常試験	ラット (骨髄)	1,000 mg/kg 体重 経口投与	陰性	8 1987 年
	遺伝子突然変異試験	B6C3F1 <u>gpt delta</u> マウス (<u>B6C3F1、雌雄各 5 匹/群、肝臓</u>) 山田専門委員修文	0.4%フルメキン含有飼料 13 週間混餌投与 (0.4%)	陰性	17 2007 年
		B6C3F1 <u>gpt delta</u> マウス (<u>B6C3F1、雄各 5 匹/群、肝臓</u>) 山田専門委員修文	13 週間混餌投与 (0.4%)	陰性	22 2013 年

		門委員修文			
--	--	-------	--	--	--

1 a) : 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
2 与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
3 マウスの再生肝臓において、DNA損傷がみられた。

4
5 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
6 て、いずれも陰性であったが、DNA損傷試験（コメットアッセイ）の結果が陽性であ
7 った。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 *in vivo*
8 試験でも肝臓で陽性の結果であった。しかしながら、*gpt delta* マウスを用いた遺伝子
9 突然変異試験（マウス肝臓）が肝臓において陰性であったことから、DNA損傷はその
10 後修復され突然変異に至らないと推察される。また、フルメキンがトポイソメラー
11 ゼ II を阻害することが報告されていることから、~~お~~山田専門委員修文（参照16、下
12 位専門委員修文24、25）、コメットアッセイにおいてみられたDNA損傷は、本酵素阻
13 害による二次的な作用と考えられた。

14 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
15 特段問題となる遺伝毒性はないものと判断した。

16 17 4. 急性毒性試験

18 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19に示した。（参照8）[FAS
19 33, p2, 2.2.1]

20
21 表19 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

22
23 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
24 日間投与（雄：100 mg/kg 体重/日、雌：120 mg/kg 体重/日）した。投与後、両全例に重
25 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

1 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。

3 5. 亜急性毒性試験

4 (1) 14 日間亜急性毒性試験 (マウス) <参考資料>⁶ 1972 年

5 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
6 mg/kg 体重/日) し、亜急性毒性試験が実施された。特に脱毛の発現に注意して観察され
7 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) [FAS 33, p2, 2.2.2.1]

9 (2) 13 週間亜急性毒性試験 (マウス) <マウスの肝毒性> 1995 年、GLP

10 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、
11 400 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、
12 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、
13 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
14 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
15 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。最終投与後全動物を
16 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については
17 病理組織学的検査を実施した。試験終了時に肝ミクロソーム分画^{中山専門委員修文}を用
18 いて、TP、チトクローム P450 (CYP) 含有量、レゾルフィン及びクマリンの誘導体の
19 脱アルキル化に関する CYP 活性並びに 1-ナフトールのグルクロン酸抱合活性を測定
20 することにより異物代謝酵素活性を調べた。アロクロールを投与した動物のミクロソ
21 ムを陽性対照として用いた。

22 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。

23 800 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
24 制がみられた。この影響は雄でより顕著であった。

25 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
26 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
27 用量投与群 (400 及び 800 mg/kg 体重/日以上投与群) における肝傷害障害<sup>中山専門委
28 員修文</sup>が示唆された。

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

30 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、
31 肝細胞の^{中山専門委員修文}小葉中心性肥大及び脂肪化 (50 mg/kg 体重/日以上投与群の
32 雄及び 400 mg/kg 体重/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
33 単細胞壊死 (400 mg/kg 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
34 著であった。有糸分裂像の増加が 800 mg/kg 体重/日投与群の雄で観察された。フルメ
35 キンは、800 mg/kg 体重/日までの用量の投与において、肝臓のレゾルフィン及びクマリ
36 ンの誘導体の脱アルキル化に関する CYP 活性又は 1-ナフトールのグルクロン酸抱合活
37 性にほとんど又は全く影響を及ぼさなかった。

38 これらのことから、(1)フルメキンは、肝臓のレゾルフィン及びクマリンの誘導体の脱

⁶ 試験の詳細が不明である報告されていないことから参考資料とした。

1 アルキル化に関する CYP 活性又は 1-ナフトールのグルクロン酸抱合活性に目立った誘
2 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の標的器官で特に雄で顕
3 著である、と結論付けられた。50 及び 100 mg/kg 体重/日投与群の雄にみられた僅かな
4 変性変化を伴う肝細胞の軽度の肥大性変化は、過重な代謝というより肝毒性病変の徴候
5 であり、変性、壊死と再生を繰り返したものとみなされた。

6 ~~したがって、JECFA は本試験において、雄における肝毒性病変に基づき、NOEL は~~
7 ~~25 mg/kg 体重/日と判断し考えられた。~~

8 EMEA は、NOEL は 25 mg/kg 体重/日と判断した。 (参照 4、5、13、18) [EMEA (1),
9 項目 4 の最後の試験] [EMEA(2), 項目 4 の最後の試験] [TRS 879, p36 の一番下の段落] [FAS 39,
10 p3 の 2 段落目、p8 の一番下の段落]

11 食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、50 mg/kg 体重/日以上投与群の雄のマウ
12 スで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
13 と判断した。

14 15 (3) 14 日間亜急性毒性試験 (ラット) ① <参考資料⁷> 1972 年

16 ラット (SD 系、雌雄各 5 匹/群) にフルメキンを 14 日間強制経口投与 (0、125、
17 250 又は 500 mg/kg 体重/日) し、亜急性毒性試験が実施された。

18 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
19 始 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) [FAS 33, p2,
20 2.2.2.2 の最初の試験]

21 22 (4) 14 日間亜急性毒性試験 (ラット) ② <参考資料⁸> 1971 年

23 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
24 口投与 (それぞれ 0 又は 800 mg/kg 体重/日) し、亜急性毒性試験が実施された。

25 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
26 少が観察された。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
27 れた。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
28 した雄では、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
29 日に死亡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
30 における剖検所見では、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
31 染がみられた。(参照 8、9) [FAS 33, p2, 2.2.2.2 の 2 つ目の試験][TRS 851, p16 の上から
32 4 段落目]

33 34 (5) 90 日間亜急性毒性試験 (ラット) 1972 年

35 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
36 又は 800 mg/kg 体重/日) し、亜急性毒性試験が実施された。毒性徴候は毎日観察し、体
37 重は毎週測定した。

7 試験の詳細が不明である報告されていないことから参考資料とした。

8 試験の詳細が不明である報告されていないことから参考資料とした。

1 死亡例はみられなかった。

2 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度であった。800
3 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
4 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
5 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
6 以上の投与群で散見された。

7 ~~体重は~~400 mg/kg 体重/日以上投与群の雌雄で有意な~~体重~~増加抑制がみられた。[中

8 山専門委員修文]

9 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
10 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、
11 フルメキン代謝物による~~反応阻害干渉~~[山中専門委員修文]によるものと考えられた。

12 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
13 体重/日投与群の~~腎臓について~~、雌雄の相対~~腎~~重量及び雄の絶対~~腎~~重量が増加した。400
14 mg/kg 体重/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
15 重/日投与群では、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
16 臓器（~~肝臓以外~~）の病理組織学的検査の情報は得られなかった。

17 剖検では、唯一観察された異常が~~全群にみられた~~脱毛であった。

18 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~~腫大腫脹及び拮~~
19 ~~拮~~拮拮（30～90%）が観察された。

20 ~~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~~
21 ~~ける NOEL を設定できなかった。~~

22 ~~EMEA は、本試験における NOEL を設定できなかった。~~（参照 4、5、8、9）[EMEA
23 (1), 項目 4 の 2 段落目] [EMEA(2), 項目 4 の 2 段落目] [FAS 33, p3 の最初の試験] [TRS 851,
24 p16 の上から 4 段落目]

25 食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、フルメキン投与群で脱毛、尿失禁、~~ケト~~
26 ~~ン尿~~が[山中専門委員修文]観察され、肝臓の相対重量の増加がみられていることから、本
27 試験における LOAEL を 200 mg/kg 体重/日と判断した。

28 29 (6) 14 日間亜急性毒性試験（モルモット）＜参考資料⁹＞ [1972 年]

30 モルモット（ハートレー種、雌 5 匹/群）にフルメキンを 14 日間強制経口投与（0、
31 300 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
32 に被毛を採取し、被毛の成長パターンの違いについて調べた。

33 500 mg/kg 体重/日投与群で、投与~~開始後~~4 日~~間~~に 2 例が、投与~~開始後~~6 日~~間~~に 3 例
34 が死亡した。300 mg/kg 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
35 した。試験期間中、どの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、
36 試験終了時の被毛と試験開始時に採取した被毛に変化はみられなかった。剖検の情報は
37 得られなかった。（参照 8、9）[FAS 33, p3, 2.2.2.3] [TRS 851, p16 の上から 4 段落目]

38
⁹ 試験の詳細が~~不明である報告されていない~~ことから参考資料とした。

1 (7) 21 日間亜急性毒性試験 (イヌ) <参考資料¹⁰> 1972 年

2 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
3 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
4 試験が実施された。

5 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
6 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
7 した。投与開始 1 週間後には両動物ともに食欲が減退し、その結果、試験期間中に体重が
8 減少した (雄 0.6 kg、雌 0.8 kg)。剖検では、両被験動物ともに投与の影響はみられな
9 かった。(参照 8、9) [FAS 33, p3, 2.2.2.4 の 1 段落目] [TRS 851, p16 の上から 5 段落目]

10
11 (8) 90 日間亜急性毒性試験 (イヌ) 1972 年

12 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
13 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
14 は錠剤で投与) し、亜急性毒性試験が実施された。各動物の毒性徴候は、投与直後から
15 定期的に 1 日を通して観察し、体重は毎週測定した。

16 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。

17 一般状態では、皮膚の潮紅が投与群にみられたのみであった。この徴候の発現は、非
18 常にまれであり、~~に非特異的な発現パターンはなかったで発現した。~~ 山中専門委員修文

19 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
20 かった。

21 血液学的検査及び尿検査のパラメータ^二に、フルメキンの投与による影響はみられな
22 かった。

23 血液生化学的検査では、LDH の上昇が投与開始 14 日後に 50、100 及び 200 mg/kg
24 体重/日投与群でそれぞれ 1、1 及び 3 例にみられたが、投与開始 42 及び 90 日後におい
25 て、LDH は正常であった。

26 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
27 影響はみられなかった。(参照 8) [FAS 33, p3, 2.2.2.4 の 2 段落目]

28 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
29 られたが、投与期間中に正常に回復し、その他に毒性徴候はみられなかったことから、
30 本試験における NOAEL を最高用量である 200 mg/kg 体重/日と判断した。

31
32 (9) 15.5 週間亜急性毒性試験 (サル) <参考資料¹¹> 1971 年

33 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
34 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
35 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
36 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。

37 1 例が投与 2 日目に偶発的に死亡した。

10 試験の詳細が不明である報告されていないこと及び供試動物数が少ないことから参考資料とした。

11 試験の詳細が不明である報告されていないことから参考資料とした。

1 試験期間中に嘔吐、食欲廃絶及び一過性の脱毛といった臨床徴候がみられた。
2 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。
3 その他の器官も組織学的検査のために採材されたが、それらの情報は提供されなかった。
4 (参照 8) [FAS 33, p4, 2.2.2.6]

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） 1976年

8 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
9 又は 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。
10 200 mg/kg 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
11 のみの投与で、その後は予定通り 200 mg/kg 体重/日を 2 回（100 mg/kg 体重/回）に
12 分けて投与した。

13 1 年間の投与期間において死亡例はなかった。

14 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
15 であったが、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
16 失調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
17 因する臨床徴候として、運動失調、活動性低下低運動性、振戦、嘔吐（特に試験初期）、
18 摂餌量の低下及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
19 が試験期間の後半 6 か月間に 200 mg/kg 体重/日投与群の 5 例及び 100 mg/kg 体重
20 /日投与群の 1 例で観察された。投与に関連した影響として、理学的検査により 1 例で
21 運動失調、~~ゆっくりとした~~ ナックリング反応の遅延並びに ~~過剰な~~ 膝蓋及び 肢端母趾
22 ま先の反射の亢進が顕著にみられた。 山中専門委員修文

【山中専門委員コメント】

ナックリング反応としているのは「固有知覚反応」脚の甲を地につけた時足裏側を地
につけるよう戻す運動、母趾反射としているのは「屈曲反射」足先をつまむと関節を屈
曲させる反射、のことと思われませんが、FAS の典拠が unpublsh ということなので言葉
はそのまま（母趾ではないので趾端）としました。

24 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
25 体重が減少した。しかし、体重減少に完全な用量相関性はみられなかった。

26 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
27 において、投与に起因する影響はみられなかった。

28 JECFA は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 をは、50
29 mg/kg 体重/日と判断し考えられた。

30 EMA は、本試験における NOEL を 50 mg/kg 体重/日と判断した。（参照 4、5、
31 8、9） [EMA (1), 項目 5] [EMA (2), 項目 5] [FAS 33, p4 の 2.2.2.5, p10 の COMMENTS
32 の 5 段落目] [TRS 851, p16 の 5 段落目]

33 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
34 ことから、本試験における NOAEL を設定できないと判断したかった。
35

1
2 (2) 18 か月間発がん性試験 (マウス) ① 1977 年

3 マウス (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 又
4 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察
5 した。摂餌量及び体重は定期的に測定した。試験終了時には動物を剖検に供し、全動
6 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。

7 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
8 体重増加抑制がみられた。

9 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。

10 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
11 った。

12 肝腫瘍がみられた動物数を表 20 に示した。肝腫瘍の発生率は用量相関的であり、
13 ~~雄の方が雌より高頻度であった。~~

14
15 表 20 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ける肝腫瘍及び毒性
16 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	—^f	0	32 ^b (43)	1	78 ^b (100)	39 ^b (57)

17 括弧内は%

18 a: 剖検及び病理組織学的検査を実施した動物数

19 b: 対照群との有意差あり (p<0.05)

20 c: ヘパトーマ及び/又は異型を伴うヘパトーマ

21 d: 同一動物に発生したヘパトーマ又は異型を伴うヘパトーマ及び肝細胞癌

22 e: 肝細胞癌

23 f: 参照 8 に記載なし

24
25 肝臓の腫瘍は、組織学的にヘパトーマ (hepatoma)、異型を伴うヘパトーマ
26 (hepatoma with atypia) 及び肝細胞癌 (hepatocellular carcinoma) に分類された。
27 前二者は良性、後者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
28 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
29 確認された。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
30 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
31 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。
32 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動物数
33 が有意に増加していた。

34 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

1 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**変性**、
2 空胞化、脂肪浸潤が、また肝病変部には並びにリンパ球及び好中球の浸潤がみられた。
3 肝毒性の発現と並行して肝腫瘍の**発生も発現が**みられた。[中山専門委員修文]

4 他の組織変化は毒性学的に**意義がなくの**ない、投与に起因するものではないと考え
5 られた。[中山専門委員修文]

6 **JECFA は、**本試験における NOAEL を設定できな**かつい**と**考えられた**。(参照 4、
7 5、8、9) [EMEA(1), 項目 10] [EMEA(2), 項目 8] [FAS 33, p4 の 2.2.3.1 の最初の試験、p10
8 の下から 3 段落目] [TRS 851, p16 の最後の段落]

9 食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、**本試験でみられた肝腫瘍はフルメキン**
10 **の肝毒性による代償性の再生反応によるものであり、肝腫瘍発生**[中山専門委員修文]**に**
11 **対する閾値を設定できると考えたが、**全投与群の雄に**全腫瘍及び良性腫瘍**の発生率の
12 増加がみられたことから、本試験における NOAEL **はを**[中山専門委員修文]設定できな
13 いと判断した。

14 **【事務局より】**

網掛けの部分については、II. 6. (5) ⑤の肝腫瘍の発現メカニズムにおける記載に
合わせて、修正いたします。

15
16 (3) 18 か月間発がん性試験 (マウス) ②<参考資料¹²><マウスにおけるフルメキンの
17 投与期間の長さ**と肝臓の毒性変化及び腫瘍性変化の関連性**>—1979 年

18 フルメキンの 18 か月間混餌投与試験が実施され、上記の[II. 6. (2)]④の試験で観察
19 された投与期間の長さ**と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
20 た。5 群のマウス (ICR 系、雄) を用いて、混餌投与試験が実施された。

21 各群の投与方法を表 21 に示した。

22
23 表 21 **雌マウスを用いたにおけるフルメキン** 18 か月間**発がん性混餌投与**試験の投与方法

群	動物数 (匹)	投与方法
1	60	対照群：フルメキン無投与
2	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
3	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
4	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
5 ^a	50	800 mg/kg 体重/日のフルメキン製剤(ジメチルホルムアミド(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

24 a：[II. 6. (2)]**上記④**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
25 に影響したかどうか調べるために設定された。

¹² 一用量の試験であることから、参考資料とした。

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の試験と同様に組織学的に分類された。

2 及び 5 群では、1 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、死亡率が高かった。5 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。

2 群の中間剖検結果（表 22）から、フルメキン投与後の肝腫瘍の進行が時間依存性であることが判明した。投与開始 3 か月後において、肝腫瘍を発現した動物はいなかったが、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。5 群では、投与開始 6 週後の中間剖検で 5 例全ての肝臓に毒性変化がみられた。投与開始 12 か月後には 6 例に肝腫瘍がみられた。

表 22 2 群（800 mg/kg 体重/日を 18 か月間投与）における肝腫瘍の発生発現
 中山専門委員修文 動物匹数 (例)

	投与開始後月数（月）			
	3	6	9	12
肝腫瘍発現動物数	0	1	3	9

n=10

試験終了時に肝腫瘍の発現及び肝臓の毒性変化がみられた動物数を表 23 に示した。2 及び 5 群において、腫瘍の発生率 ~~はについて、~~ 対照群と比較して統計学的に有意に増加していた。2 群の 2 例に肝細胞癌由来の転移性肺病変がみられた。2 及び 5 群の動物の多く（それぞれ 81 及び 97%）に肝臓の毒性変化がみられた。

表 23 ~~雄~~マウスを用いた ~~フルメキン~~ 18 か月間 ~~発がん性投与~~ 試験における肝腫瘍及び肝臓の毒性変化がみられた動物数 (例)

	群				
	1 (対照群)	2 (800 mg/kg 体重/日を 18 か月間投与)	3 (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)	4 (800 mg/kg 体重/日 6 週間投与+残余期間 休薬)	5 (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)

1 括弧内は%

2 a : 剖検及び病理組織学的検査を実施した動物数

3 b : 対照群との有意差あり (p<0.05)

4 c : ヘパトーマ及び/又は異型を伴うヘパトーマ

5 d : 同一動物に発生したヘパトーマ又は異型を伴うヘパトーマ及び肝細胞癌

6 e : 肝細胞癌

7

8 肝臓の毒性変化は可逆性であり、表 24 の 3 及び 4 群では、試験終了時には明らかな毒性変化はみられず、中間剖検を実施したに供した動物にも肝腫瘍はみられなかった。3 及び 4 群では、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った。

12 5 群の結果から、フルメキン製剤への混入物質としてのジメチルホルムアミドは、フルメキ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いことが示された。(参照 4、5、8、9) [EMEA (1), 項目 10] [EMEA (2), 項目 8] [FAS 33, p5 の一番下の段落] [TRS 851, p17 の一番上の試験]

16

17 (4-7) 2 年間慢性毒性及び発がん性試験 (ラット) 1977 年

18 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、
19 200、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
20 は毎日観察した。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、全動
21 物の組織及び肉眼病変部に対しては病理組織学的検査を実施した。

22 400 mg/kg 体重/日以上投与群で死亡率が有意に減少した。

23 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。

24 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。

25 臓器重量では、400 mg/kg 体重/日以上投与群の雄で、下垂体、肝臓、心臓及び脳の
26 相対重量が有意に増加した。800 mg/kg 体重/日投与群の雌の肝臓、心臓及び脳の絶対
27 相対重量が有意に増加した。

28 病理組織学的検査では、400 mg/kg 体重/日以上投与群の雄の下垂体で良性的色素嫌
29 性腺腫がみられたが、発生率は対照群よりも高くはなかった。肝臓では、軽度の変性
30 変化による肝細胞腫大肥大病巣が散在した。これらの細胞の一部は、細胞質中に脂肪
31 滴を有し脂肪化していた。400 mg/kg 体重/日以上投与群の雄の多くは精子形成を欠い
32 ていたが、この影響について統計学的分析はされなかった。

33 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
34 に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
35 ものと考えられ、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
36 かった。

37 JECFA は、本試験における NOEL を 200 mg/kg 体重/日と判断し考えられた。発
38 がん性はみられないと判断した。

39 EMEA は、本試験において発がん性はみられないと判断した。(参照 4、5、8、9)

1 [EMEA (1), 項目 9] [EMEA (2), 項目 8] [FAS 33, p6 の 2.2.3.2, p11 の上から 2 段落目] [TRS
2 851, p17 の上から 2 段落目]

3 食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、フルメキンの全投与群で用量相関的な
4 体重及び摂餌量の低下がみられたことから、本試験における NOAEL を設定できな
5 かった。また、本試験では発がん性はみられなかった。

6
7 (5-8) フルメキンのマウスにおける肝腫瘍発がんに関する知見メカニズム

8 ①二段階肝発がん試験

9 【事務局より】

以下の a~c の試験について、試験の方法等、結果をより分かりやすくするために、資
料 3 のとおり、まとめ直しました。特に、b の試験は原報を入手できたことから、記載
を充実させました。

どちらの記載がよいかご検討お願いいたします。

【中山専門委員コメント】

添付ファイルのほうがよいと思います。

10
11 a. 13 週間二段階肝発がん試験 (マウス) 2002 年

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
13 ppm) 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二段階肝発
14 がん試験が実施された。投与開始 2 及び 5 週の 2 回、D-ガラクトサミン (Gal) を
15 腹腔内投与 (300 mg/kg 体重) した。また、フェノバルビタール (PB) が 13 週間
16 飲水投与又は非投与された。

17 投与方法を表 24 に示した。

18
19 表 24 マウスを用いた 13 週間二段階肝発がん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(FL)を含有しない基礎飼料
2	試験期間を通じて基礎飼料 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(300 mg/kg 体重)
3	試験期間を通じて基礎飼料 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+基礎飼料 13 週間 投与開始 2 及び 5 週に Gal を腹腔内投与
5	FL2 週間+基礎飼料 13 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

1 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
 2 がみられたが、基礎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
 3 有意な増加が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
 4 与の影響と考えられた。肝臓の相対重量は全投与群（2～6群）で高値を示した。病
 5 理組織学的検査では、肝細胞増殖巣は、FL/PB+Gal及びFL/FL+Gal群（5及び
 6 6群）でそれぞれ8例中2例及び7例中6例に観察された。各群にみられた肝病変
 7 を表25に示した。

8
 9 表25 マウスを用いたにおける二段階肝臓がん試験で肝病変がみられた動物数

群	投与	動物数 (匹)	肝病変		
			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のみ	4	0	0	0
2	BD/BD+Gal	8	0	0	0
3	BD/PB+Gal	8	0	8 ^{a, b}	0
4	FL/BD+Gal	8	0	0	0
5	FL/PB+Gal	8	0	8 ^{a, b, c}	2
6	FL/FL+Gal	7	7 ^{a, b, c}	0	6 ^{a, b, c}

10 BD：基礎飼料 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

11 a：1群と有意差あり(P<0.05)

12 b：2群と有意差あり(P<0.05)

13 c：4群と有意差あり(P<0.0)

14
 15 本試験で5及び6群で肝細胞増殖巣がそれぞれ8例中2例、7例中6例にみられ
 16 た。（参照2、16） [FAS 51, p3の上から3段落目] [Toxicol Sci 2002]

17
 18 b. 26週間二段階肝臓がん試験（マウス）＜参考資料¹³＞ 2001年

19 ヘテロ接合 p53欠損マウス¹⁴にフルメキンを26週間混餌投与（4,000 ppm）し
 20 た結果、好塩基性肝細胞巣は発現したが、その時点で壊死はみられなかった。試験
 21 に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） [FAS
 22 51, p3の上から2段落目]

23
 24 c. 30週間二段階肝臓がん試験（マウス） 1999年

25 マウス（CD-1系、雄、5週齢、20匹/群）を6群に分け、二段階がん試験を実
 26 施した。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
 27 群には生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
 28 ら30週間、1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
 29 発がん性試験における最低用量に相当）し、2及び5群にはPBを飲水投与（500
 30 ppm）した。3及び6群には基本飼料を与え、対照群とした。フルメキンの投与開

13 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。

14 遺伝毒性発がん物質に対する感受性が增大している。

1 始 9、19、24 又は 30 週目に、各群 5 匹から ~~を安楽死処置し~~、肝臓を採取した。 -

2 毒性所見として小葉中心性に腫大して染色性の低い肝細胞、炎症性細胞浸潤及び
3 有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
4 びるにつれて減少した。フルメキンは CYP1A1、2B 及び 3A を誘導しなかった。免
5 疫染色法で 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
6 び 4 群ともに増加した。PB 投与の 2 及び 5 群では好酸性の肝細胞腫大が顕著にみ
7 られ、この肝細胞は CYP1A1 及び 3A を強く発現していた。変異細胞巢は DEN 投
8 与の有無によら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
9 毒性の発現と並行してみられた。

10 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
11 増殖に依存すると考えられた。また、酸化的 DNA 損傷が発がん性と関連がある可
12 能性が示唆された。(参照 2、21) [FAS 51, p2 の一番下の段落] [Cancer Lett 1999]

13 ②肝細胞増殖に関する試験 2007 年

15 B6C3F1 *gpt delta* マウス (雌雄各 10 匹/群)にフルメキンを 13 週間混餌投与
16 (0.4%(雄/雌 590/763 mg/kg 体重/日)) した。対照群には、中山専門委員修文フルメ
17 キン無添加の基礎飼料を投与した。投与終了時に、各群 5 匹は体重及び肝重量を測定
18 し、肝臓の病理組織学的検査を実施した。残りの各群 5 匹には、肝細胞の増殖性を検
19 討するために、投与終了前 2 日間及び剖検 2 時間前に 5-ブromo-2'-デオキシウリジン
20 (BrdU) を腹腔内投与した。

21 体重は、フルメキン投与群の雌雄ともに対照群より有意に低かった。

22 肝臓の相対重量は、フルメキン投与群の雌雄ともに対照群より有意に高かった。

23 病理組織学的検査において、フルメキン投与群の雌雄に空胞を伴った小葉中心性の
24 肝細胞腫大がみられた。明らかな壊死はみられず、リンパ球及び好中球の軽度の浸潤
25 も認められた。

26 BrdU 標識率は、フルメキン投与群の雌雄において対照群より有意に高く、またフ
27 ルメキン投与群の雄の標識率は同群の雌より有意に高かった。(参照 17) [Arch Toxicol
28 2007]

29 ③遺伝子発現への影響に関する試験 a 2006 年

31 マウス (C3H/He 系、性別不明、18 匹) をフルメキン投与群及び対照群に割り付け、
32 フルメキン投与群にはフルメキンを 1、4 又は 8 週間混餌投与 (4,000 ppm) した。
33 cDNA マイクロアレイ分析のために、4 週間投与群の 1 匹から肝臓を採取し、対照群
34 のマウスと比較した。また、フルメキン投与群の肝臓を用いて、選択された遺伝子の
35 経時的変化を定量的 RT-PCR によって調べた。

36 cDNA マイクロアレイ分析から、フルメキン投与によって発現量が増加又は減少し
37 た遺伝子があったが、増加した遺伝子にはシグナル伝達及び細胞周期調節に関する遺
38 伝子が含まれていた。特に、ストレス応答分子であるグルタチオン S-トランスフェラ
39 ーゼ (GST) α 及び GST μ の発現量の増加は著しく、酸化的ストレスの発生が示唆さ
40 れた。一方、発現量が減少した遺伝子には、CYP2E1 のような第 I 相の代謝酵素及び

1 アポトーシスに関連したものが含まれていた。これらの変化は定量的 RT-PCR により
 2 確認され、概ね cDNA マイクロアレイ分析と一致していた。遺伝子発現量の経時的観
 3 察によって、GST α 、GST μ 、細胞外シグナル制御キナーゼ 5 (ERK5) 及び CYP2E1
 4 は試験期間を通じて発現量が増加又は減少することが明らかとなった。さらに、酸化
 5 的ストレスによる DNA 損傷のマーカーである、8-オキシグアニン DNA グリコシラ
 6 ーゼ 1 (OGG1) の発現量は時間依存的に増加していた。

7 これらの結果から、酸化的ストレスに対する応答がマウスにおけるフルメキンの肝
 8 発がん性に大きな役割を果たす可能性が示唆された。(参照 20) [Arch Toxicol 2006]

9
 10 ④遺伝子発現への影響に関する試験 b 2013 年

11 B6C3F1 *gpt delta* マウス(雌雄各 5 匹/群)に、フルメキン、2-Amino-3,8-
 12 dimethylimidazo[4,5-f]quinoxaline (MEIQx) 又は PB を 13 週間混餌投与した。投
 13 与は、表 26 に示すように実施した。剖検時に、体重及び肝重量を測定した。また、肝
 14 臓について、cDNA マイクロアレイ分析を実施した。さらに、肝細胞の増殖活性[吉田
 15 専門委員修文]を検討するために、剖検前 2 日間及び剖検 2 時間前に BrdU を腹腔内投
 16 与した。

17
 18 表 26 *gpt delta* マウスを用いた 13 週間混餌投与試験における
 19 投与の詳細

群	投与 ^a
1	MEIQx (0.03%)
2	フルメキン (0.4%)
3	PB (0.05%)
4	MEIQx (0.03%) +フルメキン (0.4%)
5	MEIQx (0.03%) +PB (0.05%)
6	対照

20 a: 括弧内の数値は飼料中濃度

21
 22 体重について、4 群が有意に減少した。肝臓の相対重量について、2、4 及び 5 群
 23 が有意に増加した。

24 病理組織学的検査において、フルメキンを投与した 2 及び 4 群に小葉中心性の肝
 25 細胞に空胞を伴った肥大がみられ、また軽度な細胞浸潤がみられた。PB を投与した 3
 26 及び 5 群では、小葉中心性の肝細胞の肥大のみがみられた。また、2 及び 4 群の BrdU
 27 標識率は、1 及び 6 群よりも有意に高かった。

28 cDNA マイクロアレイ分析において、2 及び 4 群を比較したところ、フルメキンの
 29 投与に影響された代表的な遺伝子の機能は、アポトーシスの誘導 (*Tnf* 及び *Jun*)、細
 30 胞周期の進行 (*Ccnd1*、*Ccne1*、*Cdk1*、*Jun* 及び *Fos*)、サイトカイン (*Tnf*、*Il1b* 及
 31 び *Ccl*)、DNA 修復 (*Rad51*、*Rad18* 及び *Exo1*)、薬物代謝 (*Cyp1a1*、*Cyp2b10*、
 32 *Cyp7b1* 及び *Ugt2b1*) に関するものであった。

1 フルメキンの投与による細胞周期関連遺伝子の mRNA の発現量の増加に即して、
2 BrdU 標識率の増加もみられた。また、病理組織学的に明らかな肝臓傷害吉田専門委
3 員修文に加えて、サイトカイン遺伝子の mRNA 量も増加していた。サイトカインは、
4 肝細胞傷害の際にクッパー細胞から放出されることが知られている。これらのことか
5 ら、著者はフルメキンの投与による細胞増殖活性吉田専門委員修文の亢進増加は代償
6 性の再生反応によるものと考えられた。(参照 22) [Arch Toxicol 2013]

8 ⑤肝腫瘍の発現機序に関する考察

【事務局より】

マウスにおける肝腫瘍の発現機序に関する考察の記載について、ご検討お願いいたします。

10 マウスを用いた発がん性試験 (Ⅱ. 6. (2)) において、肝腫瘍が認められた。また、
11 二段階発がん試験の 3 試験 (Ⅱ. 6. (5) ①a~c) においても、投与に関連した変異細胞
12 巣が認められ、フルメキンによるイニシエーションの可能性が示唆された。

【吉田委員修文案】

(網掛けの文章について)

また、肝腫瘍の発現機序を解明するために、複数の二段階肝発がん試験が実施された。

15 しかしながら、フルメキンの遺伝毒性については、*in vivo* のコメットアッセイでは
16 肝臓で陽性の結果が得られているもののが、その他の多くの試験は陰性の結果であり、
17 ~~その中には *gpt delta* マウスを用いた二つの *in vivo* の遺伝子突然変異試験においても~~
18 ~~が 2 試験含まれており、~~いずれも肝臓で陰性であったことから、フルメキンは生体
19 にとって特段問題となる遺伝毒性はないと考えられた。下位専門委員修文

20 これらの *gpt delta* マウスを用いた試験の一つでは、HPLC によって測定したフル
21 メキン投与群の 8-OHdG 量は増加せず、BrdU 陽性細胞が増殖していた。(参照 17)
22 もう一つの試験では、フルメキン投与によって、病理組織学的に明らかな肝臓傷害吉
23 田専門委員修文に加えて、細胞周期関連遺伝子の mRNA の発現量の増加、サイトカ
24 イン遺伝子の mRNA 量の増加が認められたことから、フルメキンの投与による肝細
25 胞の増殖は代償性の再生反応によるものと考えられた。(参照 22)

26 以上のことから、食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、フルメキンの肝腫瘍
27 の発現機序は、肝毒性による代償性の再生反応によると判断した。

【吉田委員修文案】

(網掛けの文章について)

フルメキンの肝腫瘍の発現機序は、慢性的な肝傷害が関連していると考えた。

1 7. 生殖発生毒性試験

2 (1) 生殖毒性試験 (ラット) 1974年

3 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
4 は 12 匹/群) には、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与 (0、
5 100、200、400 又は 800 mg/kg 体重/日) した。雌 (体重 150~215 g、20 又は 21 匹
6 /群) には、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ンを強制経口
7 投与した。

8 雌の各群の投与量及び投与期間を表 27 に示した。

9

10 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

群	投与量 (mg/kg 体重/日)	投与量
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。

11

12 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
13 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、衰弱及び呼吸抑制が
14 顕著であった。

15 III 群では、雌ラットは対照群と比較して、体重の有意な低値、妊娠期間の延長、同
16 腹児数の減少、死亡児数の増加がみられた。IV 群の雌でも、妊娠率、妊娠期間、同腹
17 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つ
18 った。III 及び IV 群の出生児体重は対照群と比較して有意な低下がみられた。V、VI、VII
19 及び VIII 群の雌に生殖パラメーターの有意な変化はみられなかった。しかし、妊娠期間
20 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
21 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。

22 **JECFA は、フルメキンの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**
23 **たことから、NOEL を設定できな**かった**いと考えられた。**(参照 8、9) **[FAS 33, p7 の**
24 **2.2.4.1, p11 の 4 番目の上から 4 段落目] [TRS 851, p17 の上から 4 段落目]**

25 食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、400 mg/kg 体重/日 投与群の母動物に
26 において対照群と比較して、有意な母動物の体重の低下、妊娠期間の延長、同腹児数の

1 減少がみられ、200 mg/kg 体重/日投与群 (IV群) でも同様の傾向がみられたことから、
2 本試験における母動物の NOAEL を 100 mg/kg 体重/日と 判断設定した。児動物につ
3 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
4 かった。

5
【事務局より】

前回ご審議頂いた際に、200 mg/kg 体重/日投与群でみられた影響も母動物の毒性とし
て捉え、本試験における NOAEL は 100 mg/kg 体重/日とする旨のご意見をいただきましたので、理由を追記しました。

【桑形専門委員コメント】

確認しました。

6
7 **(2) 発生毒性試験 (マウス) ① 1974 年**

8 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
9 投与 (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。
10 妊娠 17 日に卵巣、子宮及び子宮内容物を調べた。

11 母動物では、体重が 200 mg/kg 体重/日以上^①の投与群で妊娠 12 日以降、妊娠期間を
12 通じて有意に低下した。生存胎児数及び吸収胚・胎児数は、いずれの投与群において
13 も有意差はみられなかった。

14 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、
15 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
16 群の 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
17 蓋裂がみられ、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
18 投与群では、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
19 みられなかった。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
20 で顕著であった。この骨化遅延は、通常、帝王切開を行う妊娠 18 日より早く胎児を検
21 査したことによるものと考えられた。

22 JECFA は、本試験における NOEL をは、本試験の最高用量である 400 mg/kg 体重
23 /日と 判断し考えられた。

24 EMA は、本試験における NOEL を 100 mg/kg 体重/日と判断した。 (参照 4、5、
25 8、9) [EMA(1), 項目 6] [EMA(2), 項目 6] [FAS 33, p8 の 2.2.5.1, p11 の上から 5 段落目] [TRS 851,
26 p17 の下から 2 段落目]

27 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^①の投与群の母動
28 物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
29 NOAEL は 100 mg/kg 体重/日と設定した。胎児については、400 mg/kg 体重/日群の
30 胎児に胎児体重の低下傾向がみられたことから、本試験における胎児の NOAEL は
31 200 mg/kg 体重/日と判断した。また、催奇形性はみられなかった。

1 (3) 発生毒性試験 (マウス) ② 1974年

2 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
3 口投与 (0、100、200 又は 400 mg/kg 体重/日) し、発生毒性試験が実施された。

4 200 mg/kg 体重/日以上投与群で、骨化遅延、陥入した気管、腎盂拡張及び口蓋裂
5 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
6 毒性と考えられた。

7 JECFA は、本試験における NOEL を 100 mg/kg 体重/日と判断し考えられた。 (参
8 照 ~~4、5、8、9~~ [EMEA (1), 項目 6] [EMEA (2), 項目 6] [FAS 33, p9 の上から 3 段落目, p11
9 の下から 4 段落目] [TRS 851, p11 の一番下の試験])

10 食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、200 mg/kg 体重/日以上投与群の胎児
11 に胎児毒性がみられていることから、本試験における胎児の NOAEL を 100 mg/kg
12 体重/日と判断した。また、催奇形性はみられなかった。

13
14 (4) 発生毒性試験 (ラット) 1972年

15 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
16 与 (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
17 日に、卵巣、子宮内容物を調べた。

18 母動物では、用量相関的な体重の低下がみられ、400 mg/kg 体重/日投与群では対照
19 群と有意差がみられた。

20 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
21 った。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顕
22 著であった。投与に起因した内臓又は骨格異常はみられなかった。

23 JECFA は、本試験における NOEL を 100 mg/kg 体重/日と判断し考えられた。

24 EMEA は、本試験における NOEL を 100 mg/kg 体重/日と判断した。 (参照 4、5、
25 8、9) [EMEA (1), 項目 6] [EMEA (2), 項目 6] [FAS 33, p9 の 2.2.5.2, p11 の下から 5 段落
26 目,] [TRS 851, p18 の一番上の試験])

27 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~~
28 ~~動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~~
29 ~~200 mg/kg 体重/日と設定した。胎児については、200 mg/kg 体重/日以上投与群の~~
30 胎児の体重に~~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
31 胎児の NOAEL は 100 mg/kg 体重/日と判断設定した。また、催奇形性はみられなか
32 った。

33
【事務局より】

以前の専門調査会において、生殖発生毒性ご担当の専門委員から母動物の NOAEL を設定せず、胎児のみに NOAEL を設定するほうがよいのではないかとのご意見をいただいていますので、母動物の NOAEL は削除する修文をしています。ご検討お願いいたします。

【桑形専門委員コメント】

「用量相関的な体重の低下」のみの記載であり、どの群からどの程度の体重低下があったのかは確認できませんが、JECFA や EMEA は 100 mg/kg/day と判断していることから、本調査会においても母動物の NOAEL は 100 mg/kg/day と判断するでいいと思います。本調査会での判断の記載の仕方は、海外評価での判断も踏まえて判断したという文章ではいかがでしょうか？

【小林専門委員コメント】

参照資料 (EMEA (1)、(2)、FAS33、TRS851) を見直しました。評価書案への追記、また EMEA、FAS 33、TRS851 では NOEL が 100 mg/kg 体重/日となっています。本専門調査会の判断について、桑形先生の意見に賛成です。

【事務局より】

桑形先生、小林先生のご意見から、以下の修正案を作成しました。ご検討お願いいたします。

食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会は、各投与群の母動物において用量相関的な体重の低下がみられたが、各投与群における体重の低下の程度は不明であること及び国際機関の評価を支持し、本試験における母動物に対する NOAEL を 100 mg/kg 体重/日と判断した。胎児については、200 mg/kg 体重/日以上投与群の胎児の体重が、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 NOAEL は 100 mg/kg 体重/日と判断した。また、催奇形性はみられなかった。

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

(5) 発生毒性試験 (ウサギ) 1972 年

妊娠ウサギ (NZW 種、15 又は 21 匹/群) にフルメキンを妊娠 6~18 日に強制経口投与 (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 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、並びに内部及び外部異常を調べた。

200 mg/kg 体重/日以上投与群において、母動物及び胎児の体重の軽微な減少がみられたが、対照群と比較して有意ではなかった。

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。

JECFA は、本試験における NOEL を本試験の最高用量である 400 mg/kg 体重/日と判断し考えられた。(参照 4、5、8、9) [EMEA(1), 項目 6] [EMEA(2), 項目 6] [FAS 33, p9 の 2.2.5.3, p11 の下から 4 段落目] [TRS 851, p18 の上から 2 番目の試験]

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徴候がみられなかったことから、本試験における胎児の NOAEL を 400 mg/kg 体重/日と判断した。

1 8. 微生物学的影響に関する試験

2 (1) ヒト腸内細菌叢分離菌に対する最小発育阻止濃度 (MIC) ①

3 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
4 調査」において、ヒト腸内細菌叢分離菌に対するフルメキンの約 5×10^6 CFU/spot に
5 おける最小発育阻止濃度 (MIC) が調べられている (表 28)。
6

7 表 28 フルメキンのヒト腸内細菌叢分離菌に対する MIC

菌名	株数	MIC (μg/mL)	
		MIC ₅₀	範囲
<i>Escherichia coli</i>	30	0.5	0.5~8
<i>Enterococcus</i> spp.	30	>128	>128
<i>Bacteroides</i> spp.	30	128	32~128
<i>Fusobacterium</i> spp.	20	64	32~64
<i>Bifidobacterium</i> spp.	30	>128	>128
<i>Eubacterium</i> spp.	20	>128	32~>128
<i>Clostridium</i> spp.	30	>128	>128
<i>Peptococcus</i> sp./ <i>Peptostreptococcus</i> spp.	30	16	4~128
<i>Prevotella</i> spp.	20	32	32~64
<i>Lactobacillus</i> spp.	30	>128	128~>128
<i>Propionibacterium</i> spp.	30	>128	128~>128

8
9 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
10 であった。本調査の結果から、MIC_{calc}¹⁵ は 1.94 μg/mL (0.00194 mg/mL) と算出され
11 た。(参照 19) [\[食安委調査事業\]](#)

12
13 (2) ヒト腸内細菌叢分離菌に対する MIC②

14 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
15 の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
16 により、MIC₅₀、MIC₉₀ 及び MIC₅₀ の幾何平均 (~~接種濃度: 10^7 CFU/mL~~) が調べら
17 れた (表 29)。
18
19
20
21
22
23
24

¹⁵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

1

表 29 ヒト腸内細菌叢分離菌のフルメキンに対する感受性

菌名	MIC ($\mu\text{g/mL}$)			
	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

3

4

5

6

7

8

9

E. coli が最も感受性が高く、10 菌株に対する MIC₅₀ は 0.33 $\mu\text{g/mL}$ であった。ヒトの腸から分離され、~~た最も感受性の高かった一般的な偏性嫌気性細菌である~~ *Clostridium* spp. 及び *Fusobacterium* spp. に対する MIC₅₀ は、それぞれ 0.95 及び 1.0 $\mu\text{g/mL}$ であった。(参照 5、13、18) [EMEA (2), 項目 12] [TRS 879, p38, Microbiological data] [FAS 39, p6 の 2.1.2]

10

(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)

11

12

13

14

15

16

17

18

19

上記試験と同様の条件下で *E. coli*、*Clostridium* spp. 及び *Fusobacterium* spp. 各 10 菌株に対する 7-ヒドロキシフルメキンの MIC を測定した。*E. coli* はフルメキンよりも 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 2 $\mu\text{g/mL}$ では発育の阻止がみられず、4 $\mu\text{g/mL}$ では発育が 100% 阻止された。*Clostridium* spp. 及び *Fusobacterium* spp. は、測定した最高濃度 (16 $\mu\text{g/mL}$) でも感受性を示さなかった。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と僅かであった。(参照 5、13、18、) [EMEA (2), 項目 12] [TRS 879, p38, Microbiological data] [FAS 39, p6 の 2.1.2]

20

21

22

23

24

25

(4) ヒト腸内細菌叢の利用分画

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 (性別不明、5 名) に ¹⁴C 標識フルメキンを経口投与 (830 mg/ヒト) し、投与 5 日後まで、尿及び糞中の放射活性を測定した。

排泄物からは合計 84% (76~92%) の放射活性が回収され、糞便で 9% (5.7~13%)、尿では 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) [EMEA (2), 項目 2 の最後

1 の試験] [FAS 39, p7の上から3段落目]

3 9. ヒトにおける知見

4 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
5 日 3 回に分けて投与される こと、また、~~医薬品の安全性監視試験~~ (治療に用いられた
6 40,722,119 錠について) が 1984~1993 年に実施され、アレルギー、消化管に対する影
7 響、神経学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ている ¹⁶。(参照 4、
8 5) [EMEA(1), 項目 12] [EMEA(2), 項目 9]

10 10. 一般薬理試験

11 (1) ヘキソバルビタール性睡眠時間に対する影響

12 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
13 たラットでは、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、
14 これ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
15 誘導される可能性が示唆された。(参照 8) [FAS 33, p2の上から2段落目]

17 11. その他の毒性試験

18 (1) 関節への影響に関する試験 13 週間亜急性毒性試験 (イヌ、若齢) <関節への影響>

19 GLP 1996 年

20 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
21 (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
22 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
23 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
24 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。
25 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
26 表面の異常及び変化を検査した。肩及び股関節の病理組織学的検査を実施した。

27 死亡例はみられなかった。

28 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
29 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
30 はみられなかった。

31 150 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。

32 血液生化学的検査では、血清中 ALP に変化はなかった。

33 150 mg/kg 体重/日投与群では、投与 3 週間後には雌雄各 2 例に滑膜の限局性過形成
34 (synovial focal hyperplasia)及び関節の病変 (このうち 2 例には、軟骨の空洞(cavitation
35 in the cartilage)) がみられた。投与 13 週間後には、雌 1 例に肉眼所見の関節病変 (肩部
36 の関節にびらん(erosion))、雌 2 例に組織学的所見の関節病変 (軟骨の軽度のびらん
37 (slight erosion of the cartilage)) 及び雄 1 例に滑膜の過形成がみられた。

38 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 例の股関節

¹⁶ 平成 29 年 6 月時点で、EMA でヒト用医薬品の承認はない。

1 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 週後におい
2 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
3 与 13 週後の雌 1 例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
4 学的変化はみられなかった。

5 JECFA は、15 mg/kg 体重/日投与群の雌 1 例の股関節でみられた肉眼所見のびらん
6 は、毒性学的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傷害障
7 害中山専門委員修文の誘発に関する NOEL を 30 mg/kg 体重/日と判断し考えられた。

8 EMEA は、15 mg/kg 体重/日投与群の雌 1 例の股関節でみられた肉眼所見は毒性学的
9 な意義はないと考えたことから、若齢イヌにおける関節障害の誘発に関する NOEL を
10 30 mg/kg 体重/日と判断した。(参照 5、13、18) [EMEA(2), 項目 4 の 4 段落目] [TRS 879,
11 p36 の上から 2 段落目] [FAS 39, p2 の 2.1.1.1, p8 の COMMENTS の 2 段落目]

12 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 例の股関
13 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
14 例に股関節の軟骨のびらんがみられていることから、本試験における NOAEL を 30
15 mg/kg 体重/日と判断した。

16
17

Ⅲ. 国際機関等の評価

1. JECFA における評価

第 48 回会議（1997 年）において、フルメキンが遺伝毒性を有するというエビデンスはないとし、マウスの肝臓にみられた腫瘍の発生は肝毒性に起因する肝細胞の壊死及び再生によるものと考えられた。従って、マウスの 13 週間亜急性毒性試験における肝毒性に対する NOEL 25 mg/kg 体重/日は、フルメキンの肝毒性及び関連する発がん性に対する閾値と考えられた。

微生物学的 ADI は、以下の式によって 37 µg/kg 体重/日と算出された。

$$\text{微生物学的 ADI} = \frac{1^a \times 220^b}{0.1^c \times 1^d \times 60^e} = 37 \mu\text{g/kg 体重/日}$$

a : 腸内の優勢菌種のうち最も感受性が高かった *Fusobacterium* 及び *Clostridium* の MIC₅₀

b : 1 日当たりの糞便量 (g)

c : 腸内細菌叢が利用可能な経口用量の分画 (ヒトへ ¹⁴C 標識フルメキンを経口投与(830 mg)した試験において糞便からの回収率が 9%であったことから、経口用量の約 10%が腸内細菌叢に利用可能と判断した。

d : 適切で十分な微生物学的データが得られていることから、安全係数として「1」を適用

e : ヒト体重 (kg)

フルメキンの ADI の設定においては、フルオロキノロンに対して *E. coli* は通常非常に感受性が高いが、腸内細菌叢の中ではマイナーな細菌種であり、腸内で優勢な偏性嫌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、フルメキンによるヒト腸内細菌叢の乱れは生じそうにないと考えられた。このことから、毒性学的 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おける肝毒性を根拠とした NOEL 25 mg/kg 体重/日に、安全係数 1,000 (試験期間が短く、変異変性肝細胞の病巣 吉田専門委員修文 の組織化学的特性の情報が欠如していることを考慮) を適用し、ADI として 0~30 µg/kg 体重/日が設定された。(参照 18) [FAS 39, p8 の COMMENTS, p10 の EVALUATION]

第 60 回会議（2003 年）では、第 48 回会議以降に入手した腫瘍発生に関するマウスの試験について評価した。遺伝毒性については、*in vitro* 及び *in vivo* のバッテリー試験の結果からは遺伝毒性を有しないと考えられるが、新しく得られた試験では壊死は認められないが、好塩基性病巣及びコメットアッセイでの DNA 鎖の損傷が認められた。これらのことから、フルメキンがマウスの肝臓に対して遺伝毒性的影響を含む発現機序によって腫瘍を誘発させる可能性を否定することができなかつたため、第 48 回会議で設定された ADI が一旦取り消された。(参照 2) [FAS 51, p3 の COMMENTS 及び EVALUATION]

第 62 回会議（2004 年）では、第 60 回会議で評価したマウスの短期間毒性試験（二段階発がん性試験）を再評価した。これらの試験では、フルメキンによって肝臓に好塩基性病巣がみられたことから、フルメキンの腫瘍イニシエーションの可能性が示唆され

1 たが、同時に肝毒性（染色性が低く、空胞を伴い脂肪滴を含む肝細胞、炎症性細胞の浸
2 潤、有糸分裂及び/又は壊死の増加）がみられ、これらの毒性影響に対する再生反応及び
3 酸化ストレス指標の増加吉田専門委員修文もみられたことに留意した。

4 遺伝毒性については、第 42 回会議で評価した試験結果において陰性であった。第 60
5 回会議で評価した *in vivo* のコメットアッセイの結果からフルメキンの遺伝毒性が示唆
6 されたが、コメットアッセイには限界があり、肝臓の結果は限定的（marginal）であっ
7 たことに留意した。また、*in vivo* の不定期 DNA 合成試験（ラットの肝臓）で陰性であ
8 ったことから、フルメキンは肝臓の DNA に直接的に作用しないと考えられた。

9 従って、マウスの肝臓における腫瘍形成は非遺伝毒性発現機序に基づくものであり、
10 閾値が設定できると結論付けたことから、フルメキンについて、第 48 回会議で設定さ
11 れた ADI 0~30 µg/kg 体重/日が再び設定された。（参照 3）[FAS 53, p3 の COMMENTS
12 と EVALUATION]

14 2. EMEA における評価

15 1996 年に以下のように評価した。

16 遺伝毒性については、*in vitro* の *Salmonella typhimurium* TA98、TA100、TA1515、
17 TA1537 及び TA1538 を用いた復帰突然変異試験、マウスリンパ腫細胞（L5178Y、*hprt*
18 座位）を遺伝子突然変異試験、~~CHO チャイニーズハムスター~~卵巣由来細胞山田専門委
19 員修文を用いた遺伝子突然変異試験並びに *in vivo* のラット骨髓細胞を用いた染色体異
20 常試験において陰性結果が得られていることから、フルメキンに遺伝毒性はないと考
21 えた。

22 フルメキンは、ラットに対して発がん性を示さず、CD-1 マウスに自然発生する肝腫
23 瘍の頻度を肝毒性に関連した発現機序によって増加させると考えられた。マウスの 3 か
24 月間毒性試験の NOEL（25 mg/kg 体重/日）に、安全係数 100 に追加の 10（腫瘍の発現
25 機序が完全に解明されていないため）の 1,000 を適用し、毒性学的 ADI として 0.025
26 mg/kg 体重/日（1.5 mg/ヒト/日）が設定された。

27 微生物学的 ADI については、CVMP の式を用いて以下のとおり算出し、8.25 µg/kg
28 体重/日と設定された。

$$\text{微生物学的 ADI} = \frac{\frac{0.33^a \times 1^b}{1^c} \times 150^d}{0.1^e \times 60^f} = 8.25 \text{ µg/kg 体重/日} = 495 \text{ µg/ヒト/日}$$

30 a : 最も感受性の高い菌である *E. coli* の MIC₅₀ (µg/mL)

31 b : *in vitro* と *in vivo* 間の条件の違いの補正のため及び MIC に対する菌液濃度の影響を考慮した係
32 数を MIC₅₀ に乗じるが、接種菌液濃度（10⁷ 又は 10⁹ 菌/mL）により MIC が大きく変わるこ
33 はないことから、「1」を適用

34 c : 最も感受性の高い菌の MIC₅₀ を用いていることから、「1」を適用

35 d : 1 日当たりの糞便量 (g)

36 e : 腸内細菌叢が利用可能な経口用量の分画（ヒトのデータから、「0.1」とした。）

37 f : ヒト体重 (kg)

38

1 微生物学的 ADI が毒性学的 ADI より小さいことから、フルメキンの ADI は 8.25 µg/kg
2 体重/日と設定された。(参照 4、5) [EMEA(1), 項目 13 と 14] [EMEA(2), 項目 11~14]
3

IV. 食品健康影響評価

ラット、イヌ及び牛にフルメキンを経口投与した後の血漿中濃度は投与 0.5~4 時間後に Cmax に達した。体内に吸収されたフルメキンは、7-ヒドロキシフルメキン又は代謝物 M1 に代謝され、さらに抱合されると考えられた。主な排泄は、ラット及び牛では尿であり、イヌでは糞への排泄が主であった。

フルメキンを経口投与したヒトの排泄物からの回収率は、糞便では投与量の 9%、尿では 75%であった。

牛及び豚の残留試験では、フルメキンは分析した臓器等のうち腎臓に比較的長く残留したが、最終投与 96 時間後には定量限界近くまで濃度は低下した。鶏では最終投与 72 時間後の筋肉にフルメキンの残留がみられたが、定量限界近くの濃度であった。乳汁では、最終投与 48 時間後にごく低濃度検出された。

遺伝毒性試験において、*in vivo* のコメットアッセイでは肝臓で陽性の結果が得られたが、*gpt delta* マウスを用いた二つの遺伝子突然変異試験が肝臓で陰性であり、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と考えられた。山田専門委員修文

マウスにおいて肝臓の腫瘍形成がみられたが、*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陰性であったことから、遺伝毒性発現機序によるものではないと推察された。*gpt delta* マウスを用いた試験の一つでは、フルメキン投与群の 8-OHdG 量は増加せず、BrdU 陽性細胞が増殖していた。もう一つの試験では、フルメキン投与によって、病理組織学的に明らかな肝臓傷害吉田専門委員修文に加えて、細胞周期関連遺伝子の mRNA の発現量の増加、サイトカイン遺伝子の mRNA 量の増加が認められた。フルメキンの肝腫瘍の発現機序は、肝毒性による代償性の再生反応によると判断した。

【吉田委員修文案】

(網掛けの文章について)

フルメキンの肝腫瘍の発現機序は、慢性的な肝傷害が関連していると考えられた。

以上のことから、フルメキンの ADI を設定することは可能と判断した。

各種毒性試験で認められた影響は、主に肝毒性、関節障害であった。

生殖発生毒性試験では、児動物及び胎児に認められた主な影響は、体重の低下であった。催奇形性はみられなかった。

1. 毒性学的 ADI について

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 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、この NOAEL に安全係数として 100 を適用し、0.25 mg/kg 体重/日と設定することが適当と判断した。

【事務局より】

JECFA 及び EMEA の評価では、以下に記載した点を理由に安全係数を 1,000 として毒性学的 ADI を算出していますが、本専門調査会の判断としては、追加の安全係数は設定せずに通常の「100」のまま毒性学的 ADI を算出しています。

この案でよいかご検討お願いいたします。

JECFA : 試験期間が短く、変異変性肝細胞の病巣の組織化学的特性の情報が欠如していること 吉田専門委員修文

EMEA : 腫瘍の発現機序が完全に解明されていないため

1
2
3
4
5
6

2. 微生物学的 ADI について

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調査」から得られた $MIC_{calc} 0.00194 \text{ mg/mL}$ を用いて、VICH の算出式により、微生物学的 ADI を 0.071 mg/kg 体重/日 と算出した。

$$\text{微生物学的 ADI} = \frac{0.00194^a \times 220^b}{0.1^c \times 60^d} = 0.071 \text{ mg/kg 体重/日}$$

- 7 a : 試験薬がその菌に対して活性を有する属の平均 MIC_{50} の 90 % 信頼限界の下限值
8 b : 結腸内容物(g)
9 c : 微生物が利用可能な経口用量の分画(ヒトの経口投与試験の結果から「0.1」を適用した。)
10 d : ヒトの体重(kg)
11

3. ADI の設定について

微生物学的 ADI が、毒性学的 ADI よりも小さいことから、フルメキンの ADI として、 0.071 mg/kg 体重/日 と設定することが適当であると判断された。

以上より、フルメキ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。

12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23

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 30 JECFA、EMEA 及び食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会における各種試験
 2 の無毒性量等の比較

動物種	試験	投与量 (mg/kg 体重/日)	NOAEL (mg/kg 体重/日)		
			JECFA	EMEA	食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会
マウス	13 週間亜急性毒性	雄：0、25、50、100、400、800 雌：0、100、400、800 (混餌投与)	25 肝毒性	25	25 肝細胞変性
	18 か月間発がん性①	0、400、800 (混餌投与)	— 肝腫瘍発生	— 肝腫瘍発生	— 肝腫瘍発生
	発生毒性①	0、50、100、200、400 (強制経口投与)	400 影響なし	100 骨化遅延 催奇形性なし	母動物：100 胎児：200 母動物：体重低下 胎児：体重低下傾向 催奇形性なし
	発生毒性②	0、100、200、400 (強制経口投与)	100 胎児：口蓋裂、骨化遅延	/	胎児：100 胎児：骨化遅延、口蓋裂 催奇形性なし
ラット	90 日間亜急性毒性	0、200、400、800 (強制経口投与)	— 肝臓の相対重量の増加	— 肝臓の相対重量の増加	LOAEL：200 脱毛、尿失禁、ケトン尿、肝臓の相対重量の増加
	2 年間慢性毒性及び発がん性	0、200、400、800 (混餌投与)	200 精子形成不全、臓器重量変化、肝細胞腫大 発がん性なし	— 発がん性なし	— 体重及び摂餌量の低下、発がん性なし
	生殖毒性	0、100、200、400、800 (強制経口投与)	— 母動物：生殖能力への影響なし 児動物：体重低下	/	母動物：100 児動物：— 母動物：体重低下、妊娠期間の延長、同腹児数の減少 児動物：体重低下
	発生毒性	0、100、200、400 (強制経口投与)	100 胎児：体重低下、骨化遅延	100 骨化遅延 催奇形性なし	胎児：100 胎児：体重低下、骨化遅延 催奇形性なし

ウサギ	発生毒性	0、100、200、400 (強制経口投与)	400 胎児毒性なし 催奇形性なし	— 催奇形性なし	400 胎児：影響なし
イヌ	90日間亜急性毒性	0、50、100、200 (経口投与)	—	—	200 影響なし
	1年間慢性	0、50、100、200 (経口投与)	50 神経学的毒性	50	— 痙攣
	関節への影響	0、15、30、60、150 (経口投与)	30 関節障害	30 関節障害	30 関節障害
毒性学的 ADI (mg/kg 体重/日)			0.03 NOAEL : 25 SF : 1,000	0.025 NOAEL : 25 SF : 1,000	【審議後に記載】
毒性学的 ADI の設定根拠			13 週間亜急性毒性(マウス)	13 週間亜急性毒性試験(マウス)	【審議後に記載】
微生物学的 ADI (mg/kg 体重/日)			0.037	0.00825	【審議後に記載】
微生物学的 ADI の設定根拠			ヒト腸内細菌叢分離菌から得られた MIC ₅₀	ヒト腸内細菌叢分離菌から得られた MIC ₅₀	【審議後に記載】
ADI (mg/kg 体重/日)			0.03	0.00825	【審議後に記載】

1
2

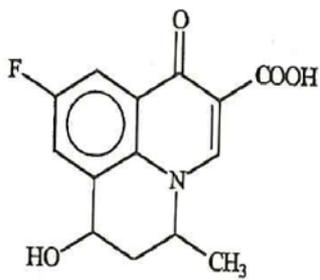
1 <別紙：検査値等略称>

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
<u>BrdU</u>	<u>5-ブロモ-2'-デオキシウリジン</u>
<u>CYP</u>	<u>チトクローム P450</u>
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
<u>F</u>	<u>バイオアベイラビリティ</u>
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
<u>MRT</u>	<u>平均滞留時間</u>
NOAEL	無毒性量
NOEL	最大無作用量
<u>PB</u>	<u>フェノバルビタール</u>
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 〈別紙 2 : 代謝物名称〉

代謝物名称	構造式
7-ヒドロキシフルメキン	 <p>(参照 10) [FNP 41/10, p62]</p>

2

3

4

- 1 <参照>
- 2 1. The Merck Index, 15th Edition, 2004
 - 3 2. JECFA: Toxicological evaluation of certain veterinary drug residues in food, WHO
 - 4 Food Additives Series 51, 2003 [FAS 51]
 - 5 3. JECFA: Toxicological evaluation of certain veterinary drug residues in food, WHO
 - 6 Food Additives Series 53, 2004 [FAS 53]
 - 7 4. EMEA: Committee for Veterinary Medicinal products; Flumequine, Summary
 - 8 Report (1), 1996 [EMEA (1)]
 - 9 5. EMEA: Committee for Veterinary Medicinal products; Flumequine, Summary
 - 10 Report (2), 1999 [EMEA (2)]
 - 11 6. EMEA: Committee for Veterinary Medicinal products; Flumequine, Summary
 - 12 Report (3), 1999 [EMEA (3)]
 - 13 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
 - 14 成 17 年 11 月 29 日付、厚生労働省告示第 499 号）
 - 15 8. JECFA: Toxicological evaluation of certain veterinary drug residues in food, WHO
 - 16 Food Additives Series 33, 1994 [FAS 33]
 - 17 9. JECFA : Evaluation of certain veterinary drug residues in food. WHO Technical
 - 18 Report Series, No.851, Flumequine, 1995 [TRS 851]
 - 19 10. JECFA: Residues of some veterinary drugs in animals and foods. FAO Food and
 - 20 Nutrition Paper 41/10 [FNP 41/10]
 - 21 11. JECFA: Residues of some veterinary drugs in animals and foods. FAO Food and
 - 22 Nutrition Paper 41/15 [FNP 41/15]
 - 23 12. JECFA: Evaluation of certain veterinary drug residues in food. WHO Technical
 - 24 Report Series, No.918, Flumequine, 2003 [TRS 918]
 - 25 13. JECFA : Evaluation of certain veterinary drug residues in food . WHO Technical
 - 26 Report Series, No.879, Flumequine, 1998 [TRS 879]
 - 27 14. JECFA: Residues of some veterinary drugs in animals and foods. FAO Food and
 - 28 Nutrition Paper 41/13 [FNP 41/13]
 - 29 15. JECFA: Evaluation of certain veterinary drug residues in food. WHO Technical
 - 30 Report Series, No.900, Flumequine, 2001 [TRS 900]
 - 31 16. Kashida Y, Sasaki F, Yu, Ohsawa K, Yokohama N, Takahashi A, Watanabe T and
 - 32 Mitsumori K. Mechanistic study on flumequine hepatocarcinogenicity focusing on
 - 33 DNA damage in mice. Toxicol Sci 2002; 69(2): 317-21 [Toxicol Sci 2002]
 - 34 17. Kuroiwa Y, Umemura T, Nishikawa A, Kanki K, Ishii Y, Kodama Y, et al. Lack of in
 - 35 vivo mutagenicity and oxidative DNA damage by flumequine in the livers of *gpt*
 - 36 *delta* mice. Arch Toxicol 2007; 81(1): 63-9 [Arch Toxicol 2007]
 - 37 18. JECFA : Toxicological evaluation of certain veterinary drug residues in food, WHO
 - 38 Food Additives Series 39, 1997 [FAS 39]
 - 39 19. 食品安全委員会：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
 - 40 影響についての調査」報告書 [食安委調査事業]

- 1 20. Kashida Y, Takahashi A, Moto M, Okamura M, Muguruma M, Jin M, et al. Gene
2 expression analysis in mice liver on hepatocarcinogenesis by flumequine. Arch
3 Toxicol 2006; 80(8): 533-9 [Arch Toxicol 2006]
- 4 21. Yoshida M., Miyajima K., Shiraki K., Ando J., Kudoh K., Nakae D., et al.
5 Hepatotoxicity and consequently increased cell proliferation are associated with
6 flumequine hepatocarcinogenesis. Cancer Lett 1999; 141: 99-107 [Cancer Lett
7 1999]
- 8 22. Kuroda K, Kijima A, Ishii Y, Takasu S, Jin M, Matsushita K et al., : Flumequine
9 enhances the in vivo mutagenicity of MeIQx in the mouse liver. Arch Toxicol 2013;
10 87: 1609-1619 [Arch Toxicol 2013]
- 11 23. Takizawa T, Mitsumori K, Takagi H, Onodera H, Yasuhara K, Tamura T et al.:
12 Modifying effects of flumequine on dimethylnitrosamine-induced
13 hepatocarcinogenesis in heterozygous *p53* deficient CBA mice. J Toxicol Pathol
14 2001; 14(2): 135-143 [J Toxicol Pathol 2001]
- 15 24. 食品安全委員会：動物用医薬品評価書「マルボフロキサシンに係る食品健康影響評価
16 について」 2007年8月
- 17 25. 食品安全委員会：動物用医薬品評価書「ノルフロキサシン」 2014年1月
- 18 26.
- 19