

平成 30 年 11 月 21 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 青山 博昭

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 30 年 8 月 8 日付け厚生労働省発生食 0808 第 315 号をもって厚生労働大臣から食品安全委員会に意見を求められたゲンチアナバイオレット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。

別添

動物用医薬品評価書

ゲンチアナバイオレット

2018年11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	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 (マウス、強制経口投与)	7
(2) 薬物動態試験 (マウス、投与経路不明)	7
(3) 薬物動態試験 (ラット、経口投与)	7
(4) 薬物動態試験 (ラット、強制経口投与)	8
(5) 薬物動態試験 (ラット、強制経口投与)	8
(6) 薬物動態試験 (ラット、強制経口投与)	9
(7) 薬物動態試験	9
(8) <i>In vitro</i> 代謝試験	9
2. 残留試験	10
(1) 残留試験 (鶏) ①	10
(2) 残留試験 (鶏) ②	11
(3) 残留試験 (大西洋さけ)	14
(4) 残留試験 (なまず)	14
3. 遺伝毒性試験	15
4. 急性毒性試験	17
5. 亜急性毒性試験	18
(1) 90日間亜急性毒性試験 (ラット) <参考資料>	18
(2) 90日間亜急性毒性試験 (イヌ) <参考資料>	18
6. 慢性毒性及び発がん性試験	18
(1) 24か月間慢性毒性及び発がん性試験 (マウス)	18
(2) 24か月間慢性毒性及び発がん性試験 (ラット)	19

(3) その他の知見	21
7. 生殖発生毒性試験	21
(1) 3世代繁殖試験 (ラット)	21
(2) 発生毒性試験 (ラット)	21
(3) 発生毒性試験 (ウサギ)	22
8. その他の試験	23
9. ヒトにおける知見	23
III. 国際機関における評価	25
1. JECFA における評価	25
IV. 食品健康影響評価	26
・ 表 22 JECFA 及び食品安全委員会動物用医薬品専門調査会における各種試験の NOAEL の比較	27
・ 別紙 1: 代謝物/分解物略称	28
・ 別紙 2: 検査値等略称	29
・ 参照文献等	30

<審議の経緯>

- 2018年 8月 8日 厚生労働大臣より残留基準設定に係る食品健康影響評価について要請（厚生労働省発生食0808第15号）、関係書類の接受
- 2018年 8月21日 第708回食品安全委員会（要請事項説明）
- 2018年 8月22日 第217回動物用医薬品専門調査会
- 2018年 10月 9日 第715回食品安全委員会（報告）
- 2018年 10月10日 から11月8日まで 国民からの意見・情報の募集
- 2018年 11月21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>

（2018年7月1日から）

佐藤 洋（委員長*）
山本 茂貴（委員長代理）
川西 徹
吉田 緑
香西 みどり
堀口 逸子
吉田 充

*：2018年7月2日から

<食品安全委員会動物用医薬品専門調査会専門委員名簿>

（2018年4月1日から）

青山 博昭（座長）	島田 美樹	舞田 正志
小川 久美子（座長代理）	下地 善弘	宮田 昌明
青木 博史	須永 藤子	吉田 敏則
石川 さと子	辻 尚利	渡邊 敏明
石塚 真由美	寺岡 宏樹	
島田 章則	能美 健彦	

要 約

寄生虫駆除剤である「ゲンチアナバイオレット (GV)」(CAS No.548-62-9) について、JECFA 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は、薬物動態 (マウス及びラット)、残留 (鶏等)、急性毒性 (マウス、ラット等)、慢性毒性 (マウス及びラット)、発がん性 (マウス及びラット)、生殖発生毒性 (ラット及びウサギ)、遺伝毒性、一般薬理試験等の成績である。

ラットを用いた経口投与による薬物動態試験の結果、組織及び脂肪では還元代謝物であるロイコゲンチアナバイオレット (LGV) 及び代謝物 1f の濃度が最も高く、糞からは未変化体が多く検出された。抽出物中の放射活性の 67% は LGV であった。

鶏の残留試験では、 $T_{1/2}$ の低下に性差はなく、肝臓で最も長い $T_{1/2}$ (第 β 相) を示した。最終投与 6 時間後の雄の肝臓で、最も高い残留濃度 $170 \pm 113 \mu\text{g}/\text{kg}$ が検出された。

大西洋さけの残留試験では、GV は投与後 24 時間以内に LGV に代謝された。投与 1 日後の GV 及び LGV 濃度は、それぞれ 2.4 ± 0.0 及び $134 \pm 36 \mu\text{g}/\text{kg}$ であった。GV は投与 14 日後に LOD 未満と、LGV は投与 91 日後に $8 \mu\text{g}/\text{kg}$ となった。

遺伝毒性試験の結果、*in vitro* では DNA 損傷性及び突然変異誘発性を示し、その *in vivo* における作用を否定する十分な報告がないことから、GV が生体にとって問題となる遺伝毒性を示す可能性を否定できないと判断した。LGV についての遺伝毒性に関する情報は得られなかった。

マウス及びラットを用いた 24 か月間発がん性試験の結果から、マウス及びラットの肝臓等に対する発がん性が示唆されると判断した。LGV を投与する発がん性試験に関する情報は得られなかったが、薬物動態試験、上記の発がん性試験の結果等から、LGV が発がん性を有する可能性を否定できないと判断した。

食品安全委員会動物用医薬品専門調査会は、GV について遺伝毒性を示す可能性を否定できず、発がん性が示唆されたことから、ADI を設定すべきでないと判断した。

I. 評価対象動物用医薬品の概要

1. 用途

寄生虫駆除剤

2. 有効成分の一般名

和名：ゲンチアナバイオレット（メチルロザニリン塩化物、塩化メチルロザニリン、クリスタルバイオレット）

英名：Gentian violet

3. 化学名

IUPAC： *N*[4-{bis(4-(dimethylamino)phenyl)methylene}cyclohexa-2,5-dien-1-ylidene]-*N*-methylmethanaminium chloride

Tris(4-(dimethylamino)phenyl)methylium chloride

CAS No.： 548-62-9

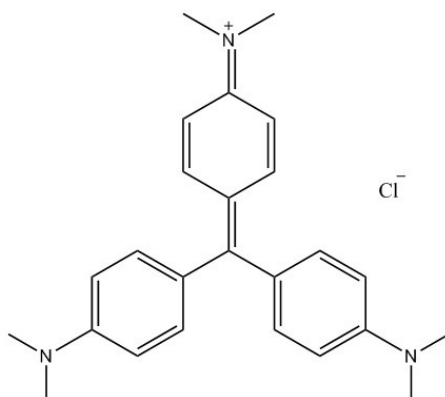
4. 分子式

$C_{25}H_{30}ClN_3$

5. 分子量

407.98

6. 構造式



(参照 1~3)

7. 使用目的及び使用状況

ゲンチアナバイオレット (GV) はトリフェニルメタン系色素であり、抗細菌性、抗真菌性及び駆虫作用を有する。

海外では、動物用医薬品（魚類の真菌症薬及び寄生虫駆除剤並びに家畜の皮膚及び眼の感染症治療薬）等として用いている国がある。GV の使用の承認又は登録を取り下げ

た国もある。米国及び豪州では、動物に対する使用は認められていないが、ヒト¹では、染毛剤、腸管内寄生虫症及び局所真菌症の治療薬等として用いられる。(参照 4)

国内でも、動物用医薬品としては承認されていないが、ヒトでは、口腔内の消毒・殺菌を目的とした一般用医薬品（口腔咽喉薬）として使用されている。(参照 5)

今回、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が要請された。

¹ 本評価書において、原則として実験動物種及び人はカタカナ、動物用医薬品及び飼料添加物の使用対象となる動物等は漢字又はひらがなで記載する。

II. 安全性に係る知見の概要

本評価書では、JECFA 評価書等を基に、GV の毒性に関する主な知見を整理した。代謝物/分解物略称及び検査値等略称を別紙 1 及び 2 に示す。

1. 薬物動態試験

(1) 薬物動態試験（マウス、強制経口投与）

マウス（B6C3F1 交雑系、雌雄各 12 匹）に [phenyl- ^{14}C]標識 GV²（雌雄とも総量として 19.55 μCi ³）を 12 時間間隔で 7 日間強制経口投与する試験を実施した。最終投与 2 時間後に試料を採取し、放射活性を測定した（表 1）。

投与された GV の多くは糞中に排出され（66～67%）、組織では雌の脂肪で最も高い残留がみられた。（参照 4、6）

表 1 マウスにおける ^{14}C 標識 GV 反復経口投与後の組織分布（mg/kg eq 又は mg/L eq）

試料	雄	雌
肝臓	17.8 ±2.6**	10.7 ±3.4**
腎臓	1.6 ±0.1**	2.7 ±0.8**
筋肉	0.6 ±0.4**	1.3 ±0.7**
生殖腺	0.49 ±0.08	3.66 ±1.08 ^a
脂肪	14.3 ±3.0**	24.1 ±7.0**
尿	1.16 (5.9)	1.58 (8.1)
糞	12.89 (65.9)	13.17 (67.4)

平均値 ±SD (n=12) a : n=8

雌雄間での有意差 : * : P<0.02; ** : P<0.01

() : 投与量に対する割合 (%)

(2) 薬物動態試験（マウス、投与経路不明）

マウス（詳細不明）における組織及び糞中の代謝物が測定され、3 種の脱メチル化代謝物である代謝物 1b、1c 及び 1d 並びに 2 種の還元代謝物である代謝物 1e（ロイコゲンチアナバイオレット(LGV)）及び 1f が検出された。組織中の主要代謝物は LGV 及び代謝物 1f であり、糞中では未変化体が主に検出された（別紙 1）。（参照 4）

(3) 薬物動態試験（ラット、経口投与）

ラット（F344 系、雌雄各 8 匹）に ^{14}C 標識 GV（総量で雌雄それぞれ 140.0 及び

² 標識部位を表す U-は、対象構造に含まれる元素のうち、指示した元素が均一に標識されていることを示す。

³ 雌雄の投与量について、参照 4 では「5.6 mg/kg body weight (bw) (0.72 MBq/animal) and 7.1 mg/kg bw (0.72 MBq/animal) for males and females」と記載されているが、基の文献である参照 6 では「Male mice: 19.55 μCi total dose (1.40 $\mu\text{Ci}/\text{dose}$, 5.6 mg/kg): female mice: 19.55 μCi total dose (1.40 $\mu\text{Ci}/\text{dose}$, 7.1 mg/kg)」と記載されており、いずれも誤記と考えられる。

79.72 μCi ⁴⁾ を 12 時間間隔で 14 回経口投与する試験が実施された。

投与終了 2 時間後に試料を採取し、組織中の放射活性を測定した (表 2)。

投与された GV の多くは糞中に排出され (66~73%)、組織では雌の脂肪で最も高い残留がみられた。(参照 4、6)

表 2 ラットにおける ¹⁴C 標識 GV 反復経口投与後の組織中 GV 濃度及び排泄率
(mg eq/kg 又は mg eq/L)

試料	雄	雌
肝臓	4.0 \pm 0.6	3.7 \pm 0.8
腎臓	0.7 \pm 0.1**	2.9 \pm 1.7**
筋肉	0.09 \pm 0.03*	0.6 \pm 0.5*
生殖腺	0.08 \pm 0.04	3.67 \pm 0.76
脂肪	3.2 \pm 0.4**	20.2 \pm 5.8**
尿	3.18 (2.2)	1.29 (1.6)
糞	92.02 (65.5)	58.04 (72.8)

平均値 \pm SD (雄 : n=7、雌 : n=8)

雌雄間での有意差 * = P < 0.02; ** = P < 0.01

() : 投与量に対する割合 (%)

(4) 薬物動態試験 (ラット、強制経口投与)

ラット (F344 系、雌、1 匹) に [phenyl-¹⁴C] 標識 GV (0.84 mg/回、1 日 2 回) を 3 日間強制経口投与し、糞中の代謝物を HPLC で同定した。

抽出物中の放射活性の 67% は LGV であった。投与後 48~72 時間に採取された糞中から投与した総放射活性の 11% が回収された。(参照 3~4、7)

McDonald が実施した追加試験では、未変化体、脱メチル化代謝物 (代謝物 1b、1c 及び 1d) 及び還元代謝物 (LGV 及び代謝物 1f) が同定された。最も濃度が高かったのは、脂肪中の LGV 及び代謝物 1f であった。これらはほかの組織でもみられた。脱メチル化代謝物及び還元代謝物は糞中からも検出され、未変化体は、ほかの組織よりも糞中により多くみられた。(参照 4)

(5) 薬物動態試験 (ラット、強制経口投与)

ラット (F344 系、雌雄各 3 匹/群) に ¹⁴C 標識 GV を単回強制経口投与 (雄 : 4.8 mg/kg 体重、13.10 μCi ; 雌 : 5.2 mg/kg 体重、9.26 μCi) し、薬物動態を調べた (表 3~4)。

肝臓及び腎臓での消失半減期 ($T_{1/2}$) は、雄ではそれぞれ 14.5 及び 14.4 時間、雌ではそれぞれ 17.0 及び 18.3 時間であった。(参照 4、6)

⁴ 雌雄の投与量について、参照4では「3.5 mg/kg bw (5.2 MBq/animal) and 5.69 mg/kg bw (2.9 MBq/animal) for males and females」と記載されているが、基の文献である参照6では「Male rats: 140.0 μCi total dose (10.0 $\mu\text{Ci}/\text{dose}$, 3.5 mg/kg): female fats: 79.72 μCi total dose (5.69 $\mu\text{Ci}/\text{dose}$, 3.7 mg/kg)」と記載されており、いずれも誤記と考えられる。

表3 ラットにおける¹⁴C標識GV単回経口投与後の組織中GV濃度 (mg eq/kg)

試料	性	投与後時間 (h)				
		2	4	14	24	36
肝臓	雄	2.52 ± 0.75	3.51 ± 0.79	1.71 ± 0.15	0.99 ± 0.14	0.76 ± 0.12
	雌	1.37 ± 0.28	2.84 ± 0.41	1.22 ± 0.19	1.11 ± 0.23	0.69 ± 0.15
腎臓	雄	0.48 ± 0.11	0.47 ± 0.04	0.22 ± 0.01	0.13 ± 0.01	0.10 ± 0.01
	雌	0.48 ± 0.11	0.52 ± 0.11	0.23 ± 0.05	0.21 ± 0.06	0.14 ± 0.02
筋肉	雄	0.05 ± 0.01	0.05 ± 0.01	0.05 ± 0.02	0.02 ± 0.01	0.03 ± 0.02
	雌	0.05 ± 0.01	0.15 ± 0.01	0.13 ± 0.05	0.16 ± 0.10	0.05 ± 0.01
精巣/卵巣	雄	0.03 ± 0.01	0.02 ± 0.02	0.04 ± 0.01	0.02 ± 0.01	0.02 ± 0.01
	雌	0.03 ± 0.01	0.02 ± 0.02	0.04 ± 0.01	0.02 ± 0.01	0.02 ± 0.01
脂肪	雄	0.12 ± 0.05	0.12 ± 0.03	0.50 ± 0.1	0.66 ± 0.07	0.72 ± 0.14
	雌	0.13 ± 0.01	0.42 ± 0.09	2.07 ± 0.36	3.30 ± 0.45	2.92 ± 0.77

平均値 ± SD (n=3)

表4 ラットにおける¹⁴C標識GV単回経口投与後の排泄率 (%)⁵

試料	性	投与後時間 (h)				
		2	4	14	24	36
尿	雄	0.3	0.5	1.9	2.5	2.2
	雌	0.3	0.2	1.2	3.6	2.2
糞	雄	0.0	0.1	28.7	84.7	72.9
	雌	0.0	0.1	47.4	55.5	63.8

(6) 薬物動態試験 (ラット、強制経口投与)

ラット (系統不明、雌、2匹) に [phenyl-U-¹⁴C] 標識GV (300 µg 又は 840 µg) を単回強制経口投与し、投与24及び28時間後の胆管から胆汁を回収した。回収された総放射活性は投与量のそれぞれ6.4及び5.7%であった。(参照4、6)

ラットを用いた2つの薬物動態試験((5)及び(6))の結果から、試験者らは、GVはほかのトリフェニルメタン系色素に比べ、広く体内に吸収されると考えた。LGVは嫌気的条件下で腸内細菌により生成され、吸収後脂肪に蓄積すると考えた。(参照4、6)

(7) 薬物動態試験

Diamanteらは、ヒトにおけるGVの経皮吸収は僅かであると考察しているが、家畜に経皮投与した場合のGVの経皮吸収についての知見は得られなかった。(参照4)

(8) *In vitro*代謝試験

① 細菌

ヒト、ラット及び鶏の腸内細菌叢、ヒト糞便並びにヒト消化管内の代表的な嫌気性細菌12種を試料として、GVの*in vitro*代謝試験が実施された。培養は、好氣的及び

⁵ 参照4のTable2から算出

嫌気的条件下で行われた。

全ての培養で GV は LGV へ還元され、培養液中から GV 及び LGV が検出された。通性嫌気性菌である *Escherichia coli* 及び *Salmonella typhimurium* は、嫌気性又は好気性条件下において、GV をほとんど還元しなかった。GV 2.67 µg/mL 添加培養群では、対照培養群と同様に細菌増殖を抑制せず、毒性作用はみられなかった。(参照 3、7)

② 肝由来ミクロソーム

マウス (4 系統)、ラット (3 系統)、ハムスター、モルモット及び鶏の肝由来ミクロソームを用いた GV の *in vitro* 代謝試験が実施された。

GV (0.01 mmol/L) を各ミクロソームと培養した結果、30~35%が回収された。GV は脱メチル化され、代謝物 1b、1c 及び 1d となった。マウス肝由来ミクロソームは、ほかの動物種に比べ脱メチル化代謝物の生成が少なかった。モルモット肝由来ミクロソームはほかの動物種に比べ代謝物 1c が少なく、1d が多かった。いずれの動物種においても、脱メチル化に性差はみられなかった。なお、著者らは LGV については言及していない。(参照 3、8)

電子スピン共鳴 (ESR) 分光装置を用いた解析により、GV は NADPH 添加時にラット肝由来ミクロソームによって窒素雰囲気下で代謝され、tri (*p*-dimethylaminophenyl)methyl radical になると考えられた。NADPH 生成系を除去すると、GV 又は熱変性ミクロソームは ESR スペクトル上にシグナルは観察されなかった。炭素ラジカルを発生させる 1 電子還元は、メチラポン及び一酸化炭素雰囲気下により約 50%抑制され、この過程にシトクロム P450 が関与することが示唆された。(参照 3)

2. 残留試験

(1) 残留試験 (鶏) ①

鶏 (肉用種、雌雄各 1 羽/時点) に ¹⁴C 標識 GV (6.82 mg/羽) を単回混餌投与し、投与後 8~504 時間まで試料を採取⁶する残留試験が実施された (表 5)。

雄及び雌の血中の T_{1/2}は、1.43 及び 1.68 時間であった。鶏卵中の放射活性は 144 時間以上では検出可能ではあるが、その数値は低く、456 時間後では 1 つの鶏卵を除き検出されなかった (検出限界不明)。(参照 3、9)

⁶ 血液試料は、投与 1、4 及び 8 時間後並びにほかの組織試料を採材する際に採取した。

表 5 鶏における ^{14}C 標識 GV 単回混餌投与後の組織中濃度 ($\mu\text{g eq/kg}$)

試料	性	投与後時間 (h)								
		8	24	48	120	168	240	336	432	504
肝臓	雄	81 (302)	71 (258)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	雌	313 (876)	30 (106)	37 (92)	18 (55)	ND	ND	ND	ND	ND
腎臓	雄	234 (977)	96 (282)	57 (235)	48 (199)	16 (58)	17 (58)	17 (63)	ND	ND
	雌	319 (1,188)	101 (374)	94 (221)	36 (109)	30 (121)	58 (196)	16 (65)	17 (72)	ND
筋肉	雄	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	雌	45 (164)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
皮膚	雄	19 (44)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	雌	38 (52)	26 (37)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
脂肪	雄	16 (18)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	雌	126 (143)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

(): 乾燥重量当たりの濃度 ND: 検出せず (検出限界不明)

(2) 残留試験 (鶏) ②

鶏 (肉用種、雌雄各 5 羽/群) に [phenyl- ^{14}C] 標識 GV (15 mg/kg 飼料 (雄 1.45 及び雌 1.72 mg/kg 体重に相当)) を 1 日 3 回、7 日間経口投与し、残留濃度を調べた (表 6~10)。

最も高い残留濃度は、最終投与 6 時間後の雄の肝臓で検出された (表 6)。雌では、6 時間後の肝臓及び腎臓が同等の濃度であった。24 時間後以降は、雌雄いずれも肝臓の濃度が最も高かった。

表 6 鶏における ^{14}C 標識 GV 反復投与後の組織中 GV 濃度 ($\mu\text{g eq/kg}$)

試料	性	投与後時間 (h)				
		6	24	48	120	240
肝臓	雄	170 ±113	44.6 ±8.0	38.0 ±15.4	34.7 ±20.0	20.9 ±12.2
	雌	73.9 ±20.9	60.4 ±31.8	31.4 ±9.9	19.0 ±7.7	12.8 ±10.1
腎臓	雄	78.7 ±18.4	30.4 ±4.9	18.6 ±5.7	9.8 ±2.3	3.8 ±0.6
	雌	73.3 ±15.1	33.6 ±13.2	15.3 ±2.2	11.7 ±9.7	2.9 ±1.3
砂嚢	雄	33.6 ±22.2	7.8 ±3.6	4.4 ±1.6	2.6 ±1.1	0.89 ±0.48
	雌	21.0 ±10.8	10.1 ±4.9	4.4 ±2.3	1.6 ±0.9	0.45 ±0.25
胸肉	雄	11.4 ±5.9	4.4 ±1.0	3.2 ±1.5	1.2 ±0.4	0.48 ±0.61
	雌	5.9 ±3.2	4.3 ±1.3	2.4 ±1.3	0.61 ±0.49	0.27 ±0.26
大腿部	雄	18.7 ±10.8	6.5 ±1.9	4.1 ±2.2	1.7 ±1.3	0.73 ±0.24
	雌	7.6 ±2.3	5.8 ±2.9	2.6 ±1.3	2.2 ±1.7	0.41 ±0.32
心臓	雄	27.7 ±13.2	5.0 ±0.9	2.7 ±1.3	2.1 ±0.6	1.1 ±0.6
	雌	17.5 ±4.1	7.1 ±3.1	2.7 ±0.8	2.7 ±2.6	0.87 ±0.30
皮膚	雄	45.3 ±12.8	19.3 ±4.9	12.6 ±2.5	10.6 ±2.7	6.1 ±2.6
	雌	18.2 ±8.8	18.9 ±6.2	12.7 ±4.0	9.4 ±3.9	3.4 ±1.3

平均値 ±SD (n=5)

組織での総残留値の低下は二相性を示し、 $T_{1/2}$ (β 相) は 59~215 時間であった。 $T_{1/2}$ の低下には雌雄差はなく、肝臓で最も長い $T_{1/2}$ (β 相) を示した。著者らは、投与終了時まで組織濃度は平衡に達しなかったと考えた (表 7)。

表 7 鶏における ^{14}C 標識 GV 反復投与後の組織中 $T_{1/2}$ (h)

組織	雄		雌	
	第 α 相	第 β 相	第 α 相	第 β 相
肝臓	2.7	215	38.2	153
腎臓	6.7	84.2	8.9	77.3
砂嚢	5.0	82.7	11.1	59.0
胸肉	5.3	71.3	26.1	63.5
大腿部	6.4	79.1	27.0	68.8
心臓	4.9	146	9.1	110
皮膚	6.9	179	—	98.6

—: 算出できず

組織及び排泄物中の代謝物は、HPLC/UV 又は HPLC/FLD により同定され、未変化体は 25.2 分に、脱メチル化代謝物は 21.6、17.9 及び 16.7 分に、LGV は 23.5 分にそれぞれ溶出した。これらの代謝物は、6 時間後以降に採取された試料からは検出されなかったが、このほかに幾つかの未同定の代謝物がみられた (表 8)。

表 8 鶏における ¹⁴C 標識 GV 反復投与 6 時間後の組織中 GV 濃度 (µg/kg)

試料	雄			雌		
	代謝物		未変化体	代謝物		未変化体
	1c+1d	1b		1c+1d	1b	
肝臓	5.7	2.4	2.3	0.64	0.26	0.26
腎臓	2.8	2.4	2.1	2.9	2.6	2.8
砂囊	8.0	6.6	20.3	0.3	0.66	1.8
胸肉	0.09	0.08	0.22	0.11	0.25	0.54
大腿部	0.28	0.06	0.11	0.09	0.15	0.31
心臓	0.83	1.2	1.1	0.61	0.82	1.3
皮膚	—	—	—	0.15	0.21	0.29

—：算出できず

組織中の不溶性残留物は、大部分の組織において、いずれの時間でも検出された(表 9)。HPLC では、未変化体は 13.0 分に、脱メチル化代謝物は 9.1、7.1 及び 7.1 分に、LGV は 19.3 分に溶出した。排泄物中の主要な化合物は未変化体であった(表 10)。これらの結果から、組織及び排泄物中には LGV が存在することが不確定ながら示された。(参照 3)

表 9 鶏における ¹⁴C 標識 GV 反復投与後の組織中の不溶性残留物質濃度 (µg eq/kg)

試料	性	最終投与後 (h)				
		6	24	48	120	240
肝臓	雄	105.1	22.6	20.8	17.1	1.06
	雌	27.4	33.0	18.8	34.8	9.06
腎臓	雄	51.8	12.7	0.82	0.49	2.49
	雌	24.5	12.6	6.42	2.75	0.08
砂囊	雄	23.2	2.41	1.18	1.79	0.17
	雌	8.42	6.51	1.33	0.74	0.20
胸肉	雄	2.05	1.10	0.76	0.31	0.01
	雌	2.38	3.09	0.59	0.22	0.04
大腿部	雄	8.85	2.07	0.62	0.56	0.51
	雌	1.19	1.27	0.97	0.74	0.21
心臓	雄	5.95	1.52	1.15	0.98	0.68
	雌	6.22	0.53	1.61	1.06	0.24
皮膚	雄	16.8	4.37	5.71	5.61	3.32
	雌	0.15	6.92	3.68	2.29	0.78

表 10 鶏における ^{14}C 標識 GV 反復投与 240 時間後の排泄物中の ^{14}C 残留物量*

(ng)

代謝物	性	試料採取日 (日)			
		3	5	7	9
未変化体	雄	134.2 (55.0)	124.6 (56.2)	127.9 (57.0)	143.0 (11.8)
	雌	112.4 (61.8)	109.8 (62.3)	110.0 (62.0)	165 (34.7)
1c+1d	雄	23.6 (9.7)	20.6 (9.3)	20.5 (9.5)	169.0 (13.9)
	雌	14.4 (7.9)	14.4 (8.1)	14.2 (8.0)	58.0 (12.2)
1b	雄	46.4 (19.0)	40.6 (18.3)	42.3 (19.0)	127.0 (10.5)
	雌	29.6 (16.2)	30.8 (17.1)	30.1 (16.8)	63.0 (13.3)
LGV	雄	2.6 (1.1)	0.0 (0)	0.0 (0)	0.0 (0)
	雌	2.7 (1.5)	0.0 (0)	0.0 (0)	0.0 (0)

*: 糞中排泄量 (): 放射物濃度 (%)

GV、脱メチル化代謝物及び LGV 同定法開発の過程で、GV (30 mg/kg 飼料) を 3 週間混餌投与した肉用鶏の肝臓及び筋肉中の GV の残留量が測定された。測定 3 時間前に GV 投与を停止した。肝臓中から GV31 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、ペンタメチル化合物 34 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 及びテトラメチル化合物 40 $\mu\text{g}/\text{kg}$ が検出された。LGV は検出されなかった。総計の残留量は平均 105 $\mu\text{g}/\text{kg}$ であった。その後の GV 残留物検出法開発の研究では、検出に用いた方法では GV (特に LGV) の回収率に影響が生じることが示唆されたが、最適化した方法を用いた場合、GV を混餌投与した鶏の脂肪中には、LGV が主要残留物として検出された。(参照 3)

(3) 残留試験 (大西洋さけ)

大西洋さけ (体重 100 g、12 か月齢以下、35 匹/対照群、90 匹/試験群) を、GV 1 $\mu\text{g}/\text{L}$ の水槽でばく露開始し、換水率を高くして 5 時間の積算濃度が 100 $\mu\text{g}/\text{L} \cdot \text{min}$ となるようにばく露実験を行った。その後、通常の換水率に戻した。ばく露開始 5 時間後の GV 濃度は <0.1 mg/kg、24 時間後の GV 濃度は <0.01 $\mu\text{g}/\text{kg}$ であった。代謝物及び未分解物は LC/MS/MS で測定した (検出限界 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$)。

GV はばく露後 24 時間以内に LGV に代謝された。投与 1 日後の GV 及び LGV 濃度はそれぞれ 2.4 ± 0.0 及び $134 \pm 36 \mu\text{g}/\text{kg}$ であった。投与 14 日後では GV は LOD 未満であったが、LGV は検査期間中検出され、投与後 91 日では 8 $\mu\text{g}/\text{kg}$ であった。(参照 3、10)

(4) 残留試験 (なまず)

なまず (*Ictalurus punctatus*、5 匹/時点) を、GV (100 $\mu\text{g}/\text{L}$) を溶かした水槽に 1 時間浸漬して筋肉内の残留濃度を LC/APCI/MS で測定した。GV は急速に LGV に還元され、ばく露終了 2 時間後の筋肉中 LGV 濃度は 17 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、79 日後には 3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ であった (表 11)。(参照 3)

なまずを、GV (10 又は 100 $\mu\text{g}/\text{L}$) を溶かした水槽に 1 時間留置ばく露し、次いで

清浄な水に 24 時間浸漬し、筋肉内の残留濃度を LC/APCI/MS で測定した。筋肉内 GV 濃度はそれぞれ 0.4 及び 0.8 µg/kg、LGV 濃度はそれぞれ 44 及び 118 µg/kg であった。(参照 3)

表 11 なまazuにおける GV ばく露後の筋肉中 GV 又は LGV 濃度 (µg/kg)

投与終了後時間	GV	LGV
投与前	<100	0.0 ±0.1
1 時間	0.5 ±0.1	11.7 ±1.8
2 時間	0.8 ±0.3	16.8 ±2.2
4 時間	<LOD	15.9 ±4.3
7 時間	<LOD	15.5 ±3.6
1 日	<LOD	15.1 ±3.1
2 日	LOD	13.5 ±3.3
5 日	0.3 ±0.2	9.4 ±3.3
8 日	<LOD	9.7 ±2.8
15 日	<LOD	5.7 ±2.2
22 日	LOD	3.3 ±0.5
33 日	<LOD	2.8 ±0.9
51 日	LOD	1.5 ±0.6
79 日	<LOD	3.1 ±0.5

LOD : 検出限界 (0.2 µg/kg) 平均値 ± SD (n=5)

3. 遺伝毒性試験

GV の遺伝毒性試験の結果を表 12 に示す。(参照 4、11)

表 12 遺伝毒性試験結果

試験系	試験対象	用量	結果	
<i>In vitro</i>	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> TA98、TA100、TA1535、TA1537、TA1538	1、2、4 µg/plate (-S9)	陰性 ^a
		<i>S. typhimurium</i> TA98、TA100、TA1535、TA1537	0.1~50 µg (-S9)	陰性 ^b
		<i>S. typhimurium</i> TA98、TA100、TA1535、TA1537、TA1538	0.1、0.32、1、3.2 µg/plate (±S9)	陰性 ^c
		<i>S. typhimurium</i> TA98、TA100、TA1537	1、5、10、50 µg/plate (±S9)	陰性 ^d
		<i>S. typhimurium</i> TA1535	0.025、0.05、0.1、0.5 µg/plate (±S9)	陰性
		<i>S. typhimurium</i> TA97、TA98、TA100	1~50 µg metabolites/plate	陰性

試験系	試験対象	用量	結果	
In vitro	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> TA97、TA98、TA100、TA104	0.1、0.25、0.5、1.0、2.5、5.0、10.0 µg/plate (±S9)	TA97:陽性 (±S9) TA104:陽性 (+S9) その他:陰性
		<i>E. coli</i> DG1669	25、50、75、100 µg/plate (±S9)	陽性 ^{e,f}
		<i>E. coli</i> WP2s	5 µmol/L	陽性 ^g
		<i>Saccharomyces cerevisiae</i> XV185-14C	2、4、6、8 µg/plate (-S9)	陰性
	Rosenkranz DNA修復試験	<i>Escherichia coli</i> DNAポリメラーゼ欠損株	記載なし	陽性
		<i>E. coli</i> W3110 <i>polA</i> ⁺ 、mutant p3478 <i>polA</i>	1、10、25、100 µg/plate (±S9)	陽性
		<i>E. coli</i> W3110 <i>polA</i> ⁺ 、mutant p3478 <i>polA</i>	0.1、0.5、1、5、7、10 µg/plate (±S9)	陽性
	細胞毒性試験	CHO細胞、ヒトリンパ球、ヒトHeLa細胞、ヒトL細胞、シロアシマウス細胞、ホエジカ細胞	0.5、5 µg/mL	陽性
	染色体切断試験	CHO細胞	10 µmol/L	陽性
		CHO細胞	5、10、20 µg/mL	陽性 ^d
	染色分体切断試験	ヒト末梢血球	20 µg/mL	陽性
	染色体損傷試験	ヒトリンパ球 ^h	1 µg/mL	陽性
	哺乳類細胞変異原性試験	CHO-K1-BH ₄	0~1.5 µg/mL (±S9)	陰性
		CHO-AS52細胞		疑陽性
	リンパ球DNA損傷試験	B6C3F1マウス	0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 µg/mL	陽性
遺伝子増幅試験	SV40導入チャイニーズハムスターC060細胞株	0.02、0.05、0.125 µg/mL	SV40DNAの増幅	
In vivo	染色体損傷試験	マウス骨髄	4、8 mg/kg 体重/日相当 (飲水投与)	陰性
	DNA損傷試験	B6C3F1マウスリンパ球	2、4、6 mg/kg 体重	陰性
	鶏胚試験	鶏胚	0.5、2、5、10、20、100、1,000、2,000 µg/胚	陰性 ⁱ

a: TA1535は疑陽性 b: 殺菌 $\geq 10 \mu\text{g}$ c: TA1535は-S9の条件下では $0.32 \mu\text{g/plate}$ まで試験を実施。 d: 暗条件かつ-S9条件下では $5.0 \mu\text{g/plate}$ 以上で毒性を示した。S9を加えると暗条件下では毒性がほぼ消失し、また光条件下では毒性が減弱した。 e: -S9条件下では75及び $100 \mu\text{g/plate}$ では大部分の細胞が死滅した。 f: +S9条件下では全ての濃度で同程度の変異が生じた。 g: 代謝物も親化合物と同様に陽性と思われる。 h: 健康体及び β サラセミア症のリンパ球を培養。両リンパ球の染色体変異頻度には差がなかった。 i: 毒性: $\geq 20 \mu\text{g}$ (姉妹染色分体交換は増大せず。)

In vitro では、*S. typhimurium* を用いる復帰突然変異試験の多くでは陰性であったが、*E. coli* を用いた全ての復帰突然変異試験及び DNA 修復試験並びに哺乳類細胞の染色体に対する損傷試験で陽性であった。*in vivo* のマウス骨髄に対する DNA 損傷試験は陰性であった。(参照 4)

GV は、*in vitro* では DNA 損傷性及び突然変異誘発性を示し、その *in vivo* における作用を否定する十分な報告がないことから、食品安全委員会動物用医薬品専門調査会は、生体にとって問題となる遺伝毒性を示す可能性を否定できないと判断した。

4. 急性毒性試験

GV の急性毒性試験の結果を表 13 に示す。

表 13 急性毒性試験結果

動物種	投与経路	投与量 又は濃度	LD ₅₀ (mg/kg 体重)		参照
			24 時間	7 日後	
Webster マウス 雄 30 匹 (児動物)	経口	9.6 mg ^a	/	405	4、12
Webster マウス 雄 40 匹 (親動物)		25 mg ^a		570	
ICR マウス 雄 56 匹	経口	4~45% ^b	1,200 (680~2,050)	800 (340~1,900)	
マウス 系統等不明	経口 <参考資料 ⁷ >	不明	96		13
	腹腔 <参考資料 ⁸ >		5.1		
SD ラット 雄 90 匹	経口	6.8~55% ^b	1,000 (700~1,600)	180 (75~420)	4、12
ラット 系統等不明	経口 <参考資料 ⁷ >	不明	420		13
	腹腔 <参考資料 ⁸ >		8.9		
モルモット 雄 6 匹	経口	7.3~25% ^b	100~150		5、12
ウサギ 雄 10 匹		25% ^b	125~250		
ネコ 雄 7 匹		10~25% ^b	100~150		
イヌ 雄 6 匹		25% ^b	1,000		
ヒメダカ 性別不明 10 匹	浸漬 <参考資料 ⁹ >	100 mg/L	LC ₅₀ (mg/L)		14
			0.2 (24 時間)	0.1 (48 時間)	

a : 腸溶錠を粉末化したものを水に懸濁。 b : 溶剤としてプロピレングリコールが用いられた。
c : 水に懸濁。

⁷ 投与量が不明なことから、参考資料とした。

⁸ 腹腔内投与で実施されているかつ投与量が不明なことから、参考資料とした。

⁹ 水槽ばく露で実施されていることから、参考資料とした。

5. 亜急性毒性試験

(1) 90 日間亜急性毒性試験（ラット）＜参考資料¹⁰＞

参照 15 に引用されている米国 FDA の非公開データによると、ラット（詳細不明）に GV（最大 500 mg/kg 飼料）を 90 日間混餌投与する亜急性毒性試験が実施されている。

僅かな体重減少が観察されたが、投与に関連した明らかな影響は認められなかった。（参照 4、15）

(2) 90 日間亜急性毒性試験（イヌ）＜参考資料¹⁰＞

参照 15 に引用されている米国 FDA の非公開データ（1976）によると、イヌ（系統、匹数等詳細不明）に GV（最大 516 mg/kg 飼料）を 90 日間混餌投与する亜急性毒性試験が実施されている。肝臓重量の増加が観察されたが、投与に関連した明らかな影響は認められなかった。（参照 4、15）

6. 慢性毒性及び発がん性試験

(1) 24 か月間慢性毒性及び発がん性試験（マウス）

マウス（B6C3F1 交雑系、4～5 週齢、雌雄各 144 匹/群、対照群：雌雄各 288 匹）に GV を最大 24 か月間混餌投与（0、100、300 又は 600 mg/kg 飼料/雄：0、10.7～14.3、32.1～35.7 又は 64.3 mg/kg 体重/日相当、雌：0、14.3、35.7～39.3 又は 71.4 mg/kg 体重/日相当）し、慢性毒性及び発がん性試験が実施された。（表 14、15）

摂餌量及び体重増加に投与の影響はみられなかった。

JECFA は、非腫瘍性影響の LOAEL を 14.3 mg/kg 体重/日と設定した。（参照 4、16）

食品安全委員会動物用医薬品専門調査会は、いずれの投与群においても雌で死亡率の高値、脾臓における赤血球産生の亢進及び卵巣萎縮がみられたことから、雌に対する非腫瘍性所見の LOAEL を 14.3 mg/kg 体重/日と設定した。また、肝腫瘍及び A 型細網細胞肉腫の有意な増加は、発がん性を示唆するものと判断した。

表 14 24 か月間慢性毒性/発がん性試験（マウス）における毒性所見（非腫瘍性所見）

投与量 (mg/kg 飼料)	雄	雌
600	・死亡率の高値 ・ALT, AST の高値	・TG の低値 ・Cho の高値
300 以上	(300 mg/kg 体重/日以下) 毒性所見なし	・ALT、AST の高値
100 以上		・死亡率の高値 ・脾臓の赤血球産生亢進 ・卵巣萎縮

¹⁰ 試験の詳細が不明なことから、参考資料とした。

表 15 24 か月間慢性毒性/発がん性試験（マウス）における腫瘍性病変の発生数及び発生率

試料	腫瘍の種類	雌雄	投与量 (mg/kg 飼料)			
			0	100	300	600
肝臓	良性腫瘍	雄	17/183 (10%)	14/92 (15%) ¹¹	20/93 (22%)	37/93 (38%)
		雌	8/185 (4%)	8/93 (9%)	36/93 (39%)	20/95 (21%)
	悪性腫瘍	雄	27/183 (15%)	15/92 (17%)	17/93 (18%)	33/93** (35%)
		雌	7/185 (4%)	5/93 (5%)	30/93** (32%)	73/95** (77%)
ハーダー腺	腺腫	雄	7/187 (4%)	7/92 (7%)	10/94* (11%)	9/89 (10%)
		雌	8/186 (4%)	11/93* (12%)	18/89** (20%)	15/94** (16%)
膀胱	A型細網 細胞肉腫	雌	0/188 (0%)	2/92 (2%)	3/89 (3%)	5/91# (6%)
子宮			0/188 (0%)	2/95 (2%)	6/90# (7%)	12/93# (13%)
膣			1/182 (0.5%)	1/90 (1%)	4/88 (5%)	8/87# (9%)
卵巣			0/178 (0%)	1/90 (1%)	3/89 (3%)	5/89# (6%)

: p < 0.05 (Fisher's exact test, one-sided test of comparison to control, Bonferroni correction)

* : p < 0.05, ** : p < 0.001

(参照 4、16)

(2) 24 か月間慢性毒性及び発がん性試験（ラット）

ラット（F344 系、雌雄）に GV を 80 日間以上混餌投与（0、100、300 又は 600 mg/kg 飼料）した後に交配して得た F1 世代ラット（雌雄各 570 匹）に、親動物と同用量の GV を 24 か月間混餌投与（0、100、300 又は 600 mg/kg 飼料／雄：0、30、80、160 mg/kg 体重相当、雌：0、40、100、200 mg/kg 体重相当¹²）する慢性毒性及び発がん性試験が実施された（表 16、17）。

600 mg/kg 飼料投与群の雌雄で体重減少がみられたが、平均摂餌量は全投与群で差がなかった。

大部分の病変は 24 か月の剖検時にのみ観察された。（参照 4、15）

JECFA は、いずれの投与群においても肝臓の再生性病変の増加がみられたことから、非腫瘍性変化に対する LOAEL を 30 mg/kg 体重/日と設定した。また、雌雄いずれにも甲状腺ろ胞細胞腺癌及び肝細胞腺腫がみられたことから、GV はラットに対して発がん性を示すと判断した。（参照 4、15）

¹¹ 参照 4 の Table 7 には 19%と記載されており、誤記と考えられる。

¹² 参照 4 では、雌雄の投与量の単位を「mg/kg 体重/日」と記載されているが、誤記と考えられる。

食品安全委員会動物用医薬品専門調査会は、全投与量で雌雄の肝臓に混合型変異細胞巣及び再生性病変の増加がみられたことから、一般毒性の LOAEL を 30 mg/kg/日と設定した。肝細胞腺腫及び甲状腺ろ胞細胞腺癌の増加は発がん性を示唆するものと判断した。

表 16 24 か月間慢性毒性/発がん性試験（ラット）における毒性所見（非腫瘍性所見）

投与量 (mg/kg 飼料)	雄	雌
600	<ul style="list-style-type: none"> 肝明細胞性変異細胞巣 甲状腺ろ胞細胞 赤脾髄過形成 腸間膜リンパ節過形成 	<ul style="list-style-type: none"> 肝小葉中心性壊死
300 以上	<ul style="list-style-type: none"> 肝好酸性変異細胞巣 肝小葉中心性壊死^a 	<ul style="list-style-type: none"> 肝好酸性変異細胞巣 死亡率増加
100 以上	<ul style="list-style-type: none"> 肝混合型変異細胞巣 肝臓の再生性病変 	<ul style="list-style-type: none"> 肝混合型変異細胞巣 肝臓の再生性病変

a：参照 4 では「雄 300 mg/kg 群及び雌 600 mg/kg 群のみ有意」と記載されているが、雄 600 mg/kg 群も有意な変化であり、誤記と考えられる。

表 17 24 か月間慢性毒性及び発がん性試験（ラット）における腫瘍性病変の発生数及び発生率

試料	腫瘍の種類	雌雄	投与量 (mg/kg 飼料)			
			0	100	300	600
肝臓	肝細胞腺腫	雄	1/179 (0.5%)	1/90 (1%)	3/88** (3%)	4/89** (4%)
		雌	0/170 (0%)	1/90 (1%)	2/84** (2%)	1/87* (1%)
甲状腺	ろ胞細胞腺癌	雄	1/163 (1%)	4/84* (5%)	2/74 (3%)	5/79** (6%)
		雌	1/159 (1%)	1/83 (1%)	4/76** (5%)	6/77*** (8%)
	ろ胞細胞腺腫	雄	1/163 (1%)	0/84 (0%)	0/74 (0%)	2/79 (3%)
		雌	1/159 (1%)	2/83 (2%)	3/76 (4%)	3/77 (4%)
	ろ胞細胞腺腫/腺癌	雄	2/163 (1%)	4/84 (5%)	2/74 (3%)	3/78 (9%)
		雌	2/159 (2%)	3/83 (4%)	7/76 (9%)	9/77 (12%)

* : p<0.05、** : p<0.01、*** : p<0.001 (Fisher's exact test, one-sided test of comparison to control, Bonferroni correction)

(参照 4、15)

(3) その他の知見

Docampo & Moreno (1990) は、GV の完全な脱メチル誘導体であるロイコパラロザニリンはラットで発がん性を示す情報があることを報告している¹³が、その発がん性についての情報は得られなかった。(参照 4、15、17)

7. 生殖発生毒性試験

(1) 3 世代繁殖試験 (ラット)

ラット (F344 系、雌雄) に GV¹⁴ を 80 日以上混餌投与 (0、100、300 又は 600 mg/kg 飼料 (0、5、15 又は 30 mg/kg 体重/日相当)) する 3 世代繁殖試験¹⁵が実施された。

(表 18)

1 腹当たりの産児数に投与による影響はみられなかった。いずれの世代においても、受胎率、死産率、離乳時生存児数、性比及び新生児の外形異常頻度には、投与による影響はみられなかった。

JECFA は、30 mg/kg 体重/日投与群で低体重がみられたことから、親動物の NOAEL を 15 mg/kg 体重/日と設定した。F3a のいずれの投与群においても影響がみられたことから、児動物の NOAEL は設定できないとした。これらのことから、生殖毒性試験での NOAEL は最高用量である 30 mg/kg 体重/日とした。(参照 4)

食品安全委員会動物用医薬品専門調査会は、30 mg/kg 体重/日投与群の親動物で低体重がみられたことから、親動物の NOAEL を 15 mg/kg 体重/日と設定した。F3a のいずれの投与群においても病理組織学的変化がみられたことから、児動物の LOAEL を 5 mg/kg 体重/日と設定した。いずれの投与群においても投与による繁殖への影響がみられなかったことから、本試験の繁殖毒性の NOAEL を最高用量である 30 mg/kg 体重/日と設定した

表 18 3 世代繁殖試験 (ラット) における毒性所見

投与量 (mg/kg 体重/日)	親動物	児動物
30	低体重 (全世代)	腎皮質及び尿細管の限局性拡張、胸腺の壊死及び投与量と逆相関性の赤脾髄の造血細胞増殖 (F3a)
15 以下	毒性所見なし	

(2) 発生毒性試験 (ラット)

妊娠ラット (CD 系、20 匹/群) に GV (純度 97.7%) を妊娠 6 から 15 日まで強制経口投与 (0 (対照群は蒸留水)、2.5、5 又は 10 mg/kg 体重/日) する発生毒性試験が

¹³ 参照 4 では、Docampo & Moreno (1990) (参照 16) の引用を National Toxicology Program (1986) の報告としているが、実際は Case & Pearson (1954) である。

¹⁴ 99%GV+1%メチルバイオレット

¹⁵ 3 世代目の離乳期の児動物 (F3a) の病理組織学的検査及び各世代の新生児の外形異常検査が実施された。

実施された。妊娠 20 日に母動物を帝王切開し、肝臓重量及び妊娠子宮重量を測定した。また、定法により胎児の外表、内臓及び骨格を検査した (表 19)。

胎児には、いずれの投与群においても外形異常はみられなかった。

JECFA は、5 mg/kg 体重/日投与群の母動物で毒性所見がみられたことから、母動物の NOAEL を 2.5 mg/kg 体重/日と設定した。10 mg/kg 体重/日投与群の胎児で影響がみられたことから、胚及び胎児の NOAEL を 5 mg/kg 体重/日と設定した。なお、胎児でみられた影響は、母動物への影響に付随して生じたものと考えた。(参照 4)

食品安全委員会動物用医薬品専門調査会は、5 mg/kg 体重/日投与群で体重増加量の減少等がみられたことから、母動物の NOAEL を 2.5 mg/kg 体重/日と設定した。10 mg/kg 体重/日投与群の胎児に内臓変異と考えられる尿管拡張¹⁶及び腎盂拡張¹⁷並びに骨格変異と考えられる短肋骨がみられたことから、胎児の NOAEL を 5 mg/kg 体重/日と設定した。催奇形性はみられなかった。

表 19 発生毒性試験 (ラット) における毒性所見

投与量 (mg/kg 体重/日)	母動物	胎児
10	・死亡 (32 匹中 3 匹)	尿管拡張、腎盂拡張及び短肋骨
5 以上	・体重増加量の減少 ・喘鳴、沈滞、衰弱、下痢、流 涙、立毛など	(5 mg/kg 体重/日以下) 毒性所見なし
2.5	毒性所見なし	

(3) 発生毒性試験 (ウサギ)

妊娠ウサギ (New Zealand White 種、30~40 匹) に GV (純度 97.7%) を妊娠 6~19 日まで強制経口投与 (0 (蒸留水)、0.5、1 又は 2 mg/kg 体重/日) する発生毒性試験が実施された。妊娠 30 日に母動物を帝王切開し、肝臓重量及び妊娠子宮重量を測定した。また、定法により胎児の外表、内臓及び骨格を検査した (表 20)。

いずれの投与群においても、胎児の外表異常の特異性又は異常発現頻度に対照群との差はみられなかった。著者らは、NZW ウサギを用いた試験では、GV は催奇形性を示さないと結論した。

JECFA は、いずれの投与群においても母動物に毒性所見及び胎児に低体重がみられたことから、母動物及び胎児の NOAEL は設定できないとした。(参照 4)

食品安全委員会動物用医薬品専門調査会は、全投与量で、母動物に体重増加抑制等及び胎児で低体重がみられたことから、母動物及び胎児の LOAEL を試験の最小用量であるの 0.5 mg/kg 体重/日と設定した。催奇形性はみられなかった。

¹⁶ 参照 4 では hydroureter と記載されている。

¹⁷ 参照 4 では hydronephrosis と記載されている。

表 20 発生毒性試験（ウサギ）における毒性所見投与量

投与量 (mg/kg 体重/日)	母動物	児動物
0.5 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・死亡率上昇 ・体重増加抑制 ・喘鳴、下痢、うっ血、鼻汁、呼吸困難、流涙、食欲不振、チアノーゼなど 	<ul style="list-style-type: none"> ・低体重

8. その他の試験

ラット（Wistar 系、雄）肝由来ミトコンドリア標本試験では、GV は酸化的リン酸化の脱共役剤であり、GV のフリーラジカル代謝物は GV の作用機序に関与しないことが示されている。

また、GV は *Trypanosoma cruzi* のミトコンドリアの酸化的リン酸化を脱共役すると報告されている。（参照 4）

GV は酸化的リン酸化の脱共役剤であるが、*T. cruzi* によるシャーガス病を防ぐために GV を投与したヒトの血液を輸血された場合は、レシピエントに作用しないことが観察されている。哺乳動物の肝臓での代謝的脱メチル化又はミトコンドリアへの GV の親和性の種差は、酸化的リン酸化の脱共役作用への感受性の差であることが示唆されている。（参照 4）

In vitro で GV は、線維芽細胞の酸素消費、タンパク質及び RNA 合成を抑制することを示している。

GV は、細胞内へのアミノ酸の取り込みを抑制し、*T. cruzi* のタンパク質合成を抑制した。

GV は、細胞リポ多糖（LPS）、ペプチドグリカン及び DNA との相互作用によって透過性を誘導することにより、細菌膜及びミトコンドリア膜を損傷させる。このことから、GV は細胞レベルでの電子輸送機構に干渉し、細菌及び菌類に毒性作用があることを示している。マラカイトグリーンのような多くのトリフェニルメタン系色素は、ヒトのグルタチオン S-転移酵素を抑制することが知られているが、GV はこれらの酵素の弱い抑制剤でしかない。（参照 4）

9. ヒトにおける知見

GV のヒト用医薬品（駆虫剤）としての推奨用量は 2.1 mg/kg 体重/日であり、副作用は最小限又は一時的なものと報告されている。（参照 12）

GV を投与された患者の約 3 分の 1 が消化管性の刺激、吐き気、嘔吐、下痢及び軽度の腹痛を訴えたが、投与を中断するとこれらの症状はみられなくなった。

因果関係は不明であるが、疫学調査では染毛剤にはヒトに対する発がん性があることが示されている。国によっては、GV 及び関連化合物は非酸化直接染毛剤の成分として用いられている。

そのほか、GV の有害作用としての皮膚、眼、粘膜及び膀胱への刺激作用及び皮膚感作

作用並びにGVで染色された梱包トレイを用いるリンゴ梱包業者の鼻出血の疫学報告がある。(参照4)

そのほかの症例等を表21に示した。

表21 GVのパッチテスト検査結果及び症例報告

対象者	適用	結果
女性、42歳	0.25% in water (パッチテスト)	パッチテスト (非閉塞性) 48時間：+ 96時間：++ パッチテスト (閉塞性) 48時間：+ 96時間：+
女性、55歳	濃度不明 (パッチテスト)、0.02% 溶液、0.5 mL (皮内試験)	パッチテスト：- 皮内試験：+
女性、57歳	1% (パッチテスト)、0.02% (皮内試験)	パッチテスト： 48時間：- 72時間：+ 皮内試験： 48時間：+ 72時間：+
男性、69歳	1%アルコール溶液 (パッチテスト)、0.001%溶液 (0.3 mL、皮内試験)	パッチテスト：- 皮内試験：+
女性、32歳	1%液 (尿道誤注入、陰部の痒み治療のため)	排尿障害、血尿、膀胱粘膜の潰瘍、炎症及び浮腫
男性、2歳	2%液 (臀部に塗布、おむつかぶれ治療のため)	皮膚壊死、中止後回復、上皮再構築
乳児、15日齢	2%液 (10~12回/日、4日間塗布、舌の治療のため)	カンジダ症、巨大舌症と診断。口腔粘膜及び舌の腐食性熱傷。中止後回復
男性、60歳	1%液 (誤点眼)	視力低下、眼瞼浮腫及び痙攣、結膜充血、角膜浮腫等
男性	1%液 (亀頭に塗布)	表面壊死
男性、16か月齢	濃度不明 (希釈液、膀胱注入、濃度不明鼠径ヘルニアによる膀胱損傷への処置のため)	出血性膀胱炎
男性	濃度不明 (誤点眼)	刺激痛、眼瞼痙攣、虹彩及び結膜の暗紫染、角膜上皮損傷、虹彩間質の濁り

(参照18)

Ⅲ. 国際機関における評価

1. JECFA における評価

JECFA は、第 78 回会合において、GV には遺伝毒性及び発がん性がみられたことから、ADI を設定することは適切でないとした。

GV は、動物用医薬品としてだけでなく様々な目的で広く使用されており、非承認での使用及び環境を經由して魚類に蓄積されると考えられることから、リスク管理のための更なる指針が必要であるとした。マウスの 24 か月試験の結果から、 $BMDL_{10}$ は 16.8 mg/kg 体重/日と算定された。GV 及びその代謝物で汚染された魚を毎日 300 g 摂取した場合、体重 60 kg の成人の推定摂取量は 0.0025～0.025 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日と算定された。以上から、ばく露マージン (MOE) は $6.7 \times 10^6 \sim 6.7 \times 10^5$ と算出した。非意図的な汚染については、この程度の MOE があればヒトの健康に対する影響は少ないものと考えられた。しかしながら、食糧生産動物又は環境における残留データが不十分であること、並びに GV 及びその代謝物の残留比及び代謝物の発がん性に関する情報がほとんどないこと等、本リスク評価には多くの不確実性があるとしている。(参照 3、4)

なお、LGV については、発がん性の判断に必要な情報は不十分であるものの、GV の構造がマラカイトグリーンに類似していること、及びロイコマラカイトグリーンの発がん性はマラカイトグリーンよりも強いことから、LGV の発がん性も GV よりも強いものである可能性が高いとしている。(参照 4)

IV. 食品健康影響評価

寄生虫駆除剤である GV について食品健康影響評価を実施した。

ラットを用いた経口投与による薬物動態試験の結果、組織及び脂肪では還元代謝物である LGV 及び代謝物 1f の濃度が最も高く、糞からは未変化体が多く検出された。抽出物中の放射活性の 67%は LGV であった。

鶏の残留試験では、 $T_{1/2}$ の低下に性差はなく、肝臓で最も長い $T_{1/2}$ (第 β 相) を示した。最終投与 6 時間後の雄の肝臓で、最も高い残留濃度 $170 \pm 113 \mu\text{g}/\text{kg}$ が検出された。

大西洋さけの残留試験では、GV は投与後 24 時間以内に LGV に代謝された。投与 1 日後の GV 及び LGV 濃度は、それぞれ 2.4 ± 0.0 及び $134 \pm 36 \mu\text{g}/\text{kg}$ であった。GV は投与 14 日後に LOD 未満と、LGV は投与 91 日後に $8 \mu\text{g}/\text{kg}$ となった。

遺伝毒性試験の結果、*in vitro* では DNA 損傷性及び突然変異誘発性を示し、その *in vivo* における作用を否定する十分な報告がないことから、GV が生体にとって問題となる遺伝毒性を示す可能性を否定できないと判断した。LGV についての遺伝毒性に関する情報は得られなかった。

マウス及びラットに GV を投与する 24 か月間発がん性試験の結果から、マウス及びラットの肝臓等に対する発がん性が示唆された。LGV を投与する発がん性試験に関する情報は得られなかったが、薬物動態試験、上記の発がん性試験の結果等から LGV が発がん性を有する可能性を否定できないと判断した。

食品安全委員会動物用医薬品専門調査会は、GV について遺伝毒性を示す可能性を否定できず、発がん性が示唆されたことから、ADI を設定すべきでないと判断した。

表 22 JECFA 及び食品安全委員会動物用医薬品専門調査会における各種試験の NOAEL の比較

動物種	試験	投与量 (mg/kg 体重/日)	無毒性量等 (mg/kg 体重/日)	
			JECFA (2014)	食品安全委員会 動物用医薬品専門調査会
マウス	24 か月間慢性毒性及び発がん性 (混餌投与)	雌：0、14.3、 35.7～39.3、71.4	14.3 (LOAEL) 脾臓の赤血球産生、卵巣萎縮 (雌)	14.3 (LOAEL) 死亡率の高値、脾臓の赤血球産生亢進、卵巣萎縮 (雌)
ラット	24 か月間慢性毒性及び発がん性 (混餌投与)	雄：0、30、80、 160 雌：0、40、 100、200	30 (LOAEL) 肝臓再生性病変 (雌雄)	30 (LOAEL) 肝臓混合型変異細胞巣、 肝臓再生性病変増加 (雌雄)
	3 世代繁殖 (混餌投与)	0、5、15、30	親動物：15 低体重 繁殖毒性：30 投与による影響なし 児動物：— 全投与群に影響	親動物：15 低体重 繁殖毒性：30 投与による影響なし 児動物：5 (LOAEL) 胸腺壊死、腎皮質及び尿管 細管の限局性拡張、赤脾 髓造血細胞増殖の低下
	発生毒性 (強制経口投与)	0、2.5、5、10	母動物：2.5 体重増加量減少、臨床症状 胚/胎児：5 水尿管症、水腎症、短肋骨	母動物：2.5 体重増加量減少、臨床症状 胚/胎児：5 尿管拡張、腎盂拡張、短肋骨
ウサギ	発生毒性 (強制経口投与)	0、0.5、1、2	母動物：0.5 (LOAEL) 死亡率上昇、体重増加抑制、臨床症状 胎児：0.5 (LOAEL) 低体重	母動物：0.5 (LOAEL) 死亡率上昇、体重増加抑制、臨床症状 胎児：0.5 (LOAEL) 低体重
毒性学的 ADI (mg/kg 体重/日)			—	—
毒性学的 ADI 設定根拠資料			—	—
ADI (mg/kg 体重/日)			—	—

<別紙1：代謝物/分解物略称>

		Gentian violet (GV)				Leucogentian violet (LGV)				
構造式										
		R ₁	R ₂	R ₃	R ₄		R ₁	R ₂		
1a (未変化体)	Hexa ⁻ (親化合物)	CH ₃	CH ₃	CH ₃	CH ₃	1e (LGV)	Leucogentian violet (LGV)	CH ₃	CH ₃	
代謝物					代謝物					
1b	Pentamethylpararosaniline chloride	CH ₃	CH ₃	CH ₃	H	1f	Leucopentamethylpararosaniline	CH ₃	H	
1c	N,N,N',N'-tetramethylpararosaniline chloride	CH ₃	CH ₃	H	H					
1d	N,N,N',N''-tetramethylpararosaniline chloride	CH ₃	H	CH ₃	H					

<別紙2：検査値等略称>

略称	名称
ADI	一日摂取許容量
BMD	ベンチマークドーズ
BMDL ₁₀	BMD 信頼下限値 10%
CHO 細胞	チャイニーズハムスター卵巣細胞
ESR	電子スピン共鳴
FDA	米国食品医薬品局
GV	ゲンチアナバイオレット
Hela 細胞	ヒーラ細胞
HPLC	高速液体クロマトグラフィー
HPLC/FLD	高速液体クロマトグラフィー蛍光検出器
HPLC/UV	高速液体クロマトグラフィー紫外吸光光度検出器
IARC	国際がん研究機関
JECFA	FAO/WHO 合同食品添加物専門家会合
LC/MS/MS	液体クロマトグラフィー/タンデム質量分析法
LC/APCI/MS	液体クロマトグラフィー/大気圧化学イオン化法/タンデム質量分析法
LD ₅₀	半数致死量
LGV	ロイコゲンチアナバイオレット
LOD	検出限界
LOAEL	最小毒性量
MOE	ばく露マージン
NADPH	ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸
NOAEL	無毒性量
SV40	シミアン-ウイルス 40
T _{1/2}	消失半減期

<参考文献等>

1. 第十七改正日本薬局方解説書. 日本薬局方解説書編集委員会. 廣川書店. 2016: 1592.
2. The Merck Index, 15th Ed. 2013: 4431
3. JECFA, 78th meeting, Toxicological evaluation of certain veterinary drug residues in food. 2014. WHO Food Additives Series: 69: 3-34.
4. JECFA, 78th meeting, Residue Evaluation of Certain Veterinary Drugs. 2014. FAO/JECFA Monographs15: 39-59.
5. メチルロザニリン塩化物製剤 0.2%ピオクタニン水溶液「ホンゾウ」. 独立行政法人医薬品医療機器総合機構 一般用医薬品の添付文書情報 (2018.07.31)
https://www.pmda.go.jp/PmdaSearch/otcDetail/710082_J0601008361_04_01
6. McDonald, J.J., North, C.R., Breeden, C.R., Lai, C.C. & Roth, R.W. Synthesis and disposition of 14C-labelled gentian violet in F344 rats and B6C3F1 mice. *Food Chemistry & Toxicology*, 1984. 22: 331–336.
7. McDonald, J.J. & Cerniglia, C.E. Biotransformation of gentian violet to leucogentian violet by human, rat, and chicken intestinal microflora. *The American Society for Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 1984. 12: 330–336.
8. McDonald, J.J., Breeden, C.R., North, B.M. & Roth, R.W. Species and strain comparison of the metabolism of gentian violet by liver microsomes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1984. 32: 596–600.
9. Olentine, C.G., Gross, D.L. & Burrows, P.M. 14C-Gentian violet residues in tissues of broiler breeders. *Poultry Science*, 1980. 59: 500–505.
10. Chan, D., Tarbin, J.A., Stubbings, G., Kay, J. & Sharman, M. Analysis of incurred crystal violet in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.): comparison between the analysis of crystal violet as an individual parent and leucocrystal violet and as total crystal violet after oxidation with 2,3-dichloro-5-6-dicyanobenzoquinone. *Food Additives and Contaminants: Part A*, 2012. 29: 66–72.
11. Au W, Butler MA, Bloom SE, Matney TS. Further study of the genetic toxicity of gentian violet. *Mutat Res*, 1979. 66:103–12.
12. Hodge HC, Indra J, Drobeck HP, Duprey LP, Tainter NL. Acute oral toxicity of methylrosaniline chloride. *Toxicol Appl Pharmacol*, 1972. 22:1–5.
13. Lewis RJ, Sr. (ed) *Sax's Dangerous Properties of Industrial Materials*. 11th Edition. Wiley-Interscience, Wiley & Sons, Inc. Hoboken, NJ. 2004: 262.
14. Tonogai Y, Ogawa S, Ito Y, Iwaida M., Actual survey on TLm (median tolerance limit) values of environmental pollutants, especially on amines, nitriles, aromatic nitrogen compounds and artificial dyes., *J Toxicol Sci*. 1982 7(3):193-203.
15. Littlefield NA, Gaylor DW, Blackwell B-N, Allen RR. Chronic toxicity/carcinogenicity studies of gentian violet in Fischer 344 rats: two-generation exposure. *Food Chem Toxicol*. 1989, 27:239–47.
16. Littlefield NA, Blackwell B-N, Hewitt CC, Gaylor DW. Chronic toxicity and

- carcinogenicity studies of gentian violet in mice. *Fundam Appl Toxicol.* 1985
5(5):902-12.
17. Docampo R, Moreno SNJ. The metabolism and mode of action of gentian violet. *Drug Metab Rev.* 1990. 22:161–78.
 18. NIH [U.S. National Library of Medicine]. Gentian Violet. Toxnet (2018.07.31)
<https://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search2/f?./temp/~UFcPjY:3>

動物用医薬品（ゲンチアナバイオレット）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30年10月10日～平成30年11月8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「ゲンチアナバイオレット」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「ゲンチアナバイオレット」に係る評価書の変更点

修正箇所	食品安全委員会 第 722 回会合資料 (変更後)	食品安全委員会 第 715 回会合資料 (変更前)
4 頁 4 行目	<u>JECFA 評価書</u> 等	<u>各種試験成績</u> 等
4 頁 24 行目	食品安全委員会動物用医薬品専門調査会は、GV について遺伝毒性を示す可能性を否定できず、発がん性が示唆されたことから、ADI を設定すべきでないと判断した。	食品安全委員会動物用医薬品専門調査会は、GV については、 <u>遺伝毒性を示す可能性を否定できず、発がん性が示唆されたことから、ADI を設定すべきでない</u> と判断した。

※修正箇所は、第 722 回会合資料における頁等