

(案)

動物用医薬品評価書

ゼラノール

【事務局より】

赤字：事前送付後の修正。

2019年8月

食品安全委員会動物用医薬品専門調査会

目次

	頁
1	
2	
3	4
4	4
5	4
6	5
7	
8	6
9	6
10	6
11	6
12	6
13	6
14	6
15	6
16	
17	8
18	8
19	8
20	9
21	10
22	11
23	11
24	13
25	14
26	14
27	17
28	17
29	17
30	21
31	21
32	21
33	22
34	22
35	22
36	23
37	23
38	25
39	25
40	26

1	(8) 6週間亜急性毒性試験 (イヌ) <参考資料>	26
2	(9) 14週間亜急性毒性試験 (イヌ) <参考資料>	27
3	(10) 29週間亜急性毒性試験 (イヌ) <参考資料>	28
4	(11) 皮下投与による亜急性毒性試験 <参考資料>	28
5	6. 慢性毒性及び発がん性試験	29
6	(1) 104週間慢性毒性/発がん性併合試験 (マウス)	29
7	(2) 1年間慢性毒性試験 (ラット) <参考資料>	33
8	(3) 104週間慢性毒性/発がん性併合試験 (ラット)	33
9	(4) 104~105週間慢性毒性試験 (ラット) <参考資料>	36
10	(5) 1年間慢性毒性試験 (イヌ) <参考資料>	37
11	(6) 104週間慢性毒性試験 (イヌ)	38
12	(7) 7年間慢性毒性試験 (イヌ)	39
13	(8) 10年間慢性毒性試験 (サル)	41
14	7. 生殖発生毒性試験	44
15	8. ホルモン作用に関する試験	44
16	9. その他の試験	44
17	(1) 子宮肥大試験 (マウス) 及びエストロゲン受容体との親和性に関する特殊試	
18	験 (<i>in vitro</i>)	44
19	(2) エストロゲン様力価に関する特殊試験 (ラット)	45
20	(3) 卵巣摘出サルを用いた試験	45
21	(4) 精巣毒性に関する特殊試験 (マウス)	46
22	10. ヒトにおける知見	47
23		
24	III. 国際機関等における評価	48
25	1. JECFA の評価	48
26	2. EU の評価	48
27	3. 米国の評価	49
28	4. 豪州の評価	49
29		
30	IV. 食品健康影響評価	49
31		
32	・ 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無毒性	
33	量等の比較	49
34	・ 別紙 1: 代謝物名称	50
35	・ 別紙 2: 検査値等略称	51
36	・ 参照	52
37		

1 <審議の経緯>

- 2005年 11月 29日 暫定基準告示（参照1）
 2014年 3月 25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0320第10号）、関係資料の接受
 2014年 3月 31日 第509回食品安全委員会（要請事項説明）
 2019年 8月 22日 第225回動物用医薬品専門調査会

2 <食品安全委員会委員名簿>

(2015年6月30日まで)	(2017年1月6日まで)	(2018年6月30日まで)
熊谷 進 (委員長*)	佐藤 洋 (委員長)	佐藤 洋 (委員長)
佐藤 洋 (委員長代理)	山添 康 (委員長代理)	山添 康 (委員長代理)
山添 康 (委員長代理)	熊谷 進	山本 茂貴
三森 国敏 (委員長代理)	吉田 緑	吉田 緑
石井 克枝	石井 克枝	石井 克枝
上安平冽子	堀口 逸子	堀口 逸子
村田 容常	村田 容常	村田 容常

* : 2012年7月2日から

3

(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

4

5 <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

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11

ホルモン剤である「ゼラノール」(CAS No. 26538-44-3) 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等は、薬物動態 (ラット、ウサギ等)、残留 (牛)、遺伝毒性、急性毒性 (マウス及びラット)、亜急性毒性 (マウス、ラット等)、慢性毒性・発がん性 (マウス、ラット等)、生殖発生毒性 (マウス、ラット等)、その他の毒性試験等の試験成績である。

[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 ホルモン剤

4

5 2. 有効成分の一般名

6 和名：ゼラノール (α -ゼアララノール)7 英名：Zeranol (α -zearalanol)

8

9 3. 化学名

10 IUPAC : (3*S*,7*R*)-7,14,16-trihydroxy-3-methyl-3,4,5,6,7,8,9,10,11,12-decahydro-
11 1*H*-benzo[*d*][1]oxacyclotetradecin-1-one~~17-trihydroxy-11-methyl-12-~~
12 ~~oxabicyclo[12.4.0]octadeca-1(14),15,17-trien-13-one~~ 石川専門委員

13 CAS No. : 26538-44-3

14

【石川専門委員】

IUPAC 名について：もとの命名は、trihydroxy に 3 箇所の位置番号がなく、立体配置もないので不完全です。代わりに記載した名称は、参照 3 にあるものと同じです。

CAS No.について：26538-44-3 は絶対配置が決定された構造の RN で、ゼラノールおよび α -ゼアララノールのいずれもこの番号に帰属します。

55331-29-8 は、立体配置の情報のない物質の RN なので、立体配置が不明な場合または問わない場合（ラセミ体など）に対して付与されるものです。

15

16 4. 分子式

17 $C_{18}H_{26}O_5$

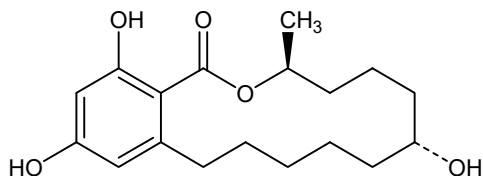
18

19 5. 分子量

20 322.40

21

22 6. 構造式

(参照 2) [Merck Index]

23

24 7. 使用目的及び使用状況

25 ゼラノールは、タンパク同化作用を持つ非ステロイドであり、 *Fusarium*
26 *graminearum* の液体培養で産生されるマイコトキシンのゼアラレノンから誘導される
27 非ステロイド性のタンパク同化ホルモンである。 事務局 市販のゼラノール製剤は、ゼア
28 ラレノンの 7-位のケトン基を還元することで得られるゼラノール (α -ゼアララノール)
29 を主成分とし、タレラノール (β -ゼアララノール、1.5%以下)、ゼアララノン (0.15%以

1 下)、ゼアラレノン (0.01%以下) 等を含む。[FNP41, p. 38, 40]

2 天然には、ゼラノールは、ゼアラレノンを生産する 7 種の *Fusarium* spp. 分離株 (異
3 なる 6 菌種) により代謝物として生成される。これらの株は、完成飼料又は飼料作物 (ク
4 ローバー又はアルファルファ) から分離された。 [FNP41, p. 38-39]

5 ゼラノールは肥育促進及び飼料効率の改善を目的として、哺乳期、離乳期、育成期
6 (growing) 及び肥育期 (finishing) の牛の耳下にインプラントを皮下移植投与する。
7 単剤で用いられるほか、他のホルモン剤と併用される。(参照 3) [FNP41, p. 40]

8 海外では、米国、カナダ及び豪州において一定の処方に基づきゼラノール等のホルモ
9 ン剤の使用が認められている (参照 4) [食安委 ファクトシート]。EU においては、1989
10 年に、食肉の生産において成長促進を目的としてゼラノール等のホルモン剤を使用する
11 こと及びこれらのホルモンを使用した動物の食肉の輸入が禁止された (参照 18) [EC
12 Opinion 1999, p. 1]。欧州では、1988 年に成長促進を目的とした使用が禁止され、1989 年
13 にはこれらのホルモン剤が使用された食肉及び食肉製品の輸入が禁止された。その後、
14 ホルモン剤についてリスク評価が実施され、エストラジオール-17β を永続的に使用禁止、
15 その他の物質については、さらなる科学的情報が提供されるまで暫定的に使用禁止とさ
16 れた。事務局

17 日本では、1960 年代から去勢牛の肥育促進を効能・効果とする天然型のホルモン剤が
18 承認、使用されていたが、1999 年に動物用医薬品業者が自主的に承認を取り下げた (参
19 照 4) [食安委 ファクトシート]。ゼラノールを主剤とするホルモン剤については、これま
20 で承認、使用されたことはない。また、ヒト用医薬品としても承認、使用されたことは
21 ない。

22 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 1)

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 1)

1 II. 安全性に係る知見の概要

本評価書では、JECFA 評価書及びFDA 評価書等を基に、ゼラノールの毒性に関する主な知見を整理した。[事務局] (参照 3、5～16)

代謝物名称及び検査値等略称をそれぞれ別紙 1 及び 2 に示した。

各種代謝試験は、ゼラノールの 11 及び 12 位の水素を ^3H で標識したもの ([11,12- ^3H] 標識ゼラノール。以下「 ^3H 標識ゼラノール」という。) を用いて実施された。(参照 3) [FNP41, p. 40]

1. 薬物動態試験

ゼラノールの一般的な薬物動態試験の結果は得られていない。

(1) 代謝試験 (ラット)

ラットに ^3H 標識ゼラノールを皮下投与し、その組織及び排泄物中の $^3\text{H}_2\text{O}$ について調べた結果、 ^3H の交換は極めて少ないことが示された。(参照 3) [FNP41, p. 40] [島田美樹専門委員]

ラット (雌雄各 2 匹) に ^3H 標識ゼラノールを経口投与 (1.5 mg/匹) し、代謝試験が実施された。血液、肝臓、尿及び糞中の放射活性を定量し、HPLC を用いて肝臓、尿及び糞中の代謝物を同定した。

試験結果を表 1 に示した。

雌の肝臓中の主要残留物はゼラノール及びゼアララノンであり、それぞれ残留放射活性の 25～30% を占め、タレラノール及び極性成分がそれぞれ 6～7% を占めた。雄の肝臓中の主要代謝物はゼアララノン (20%) であった。尿中の主要残留物は雌雄とも極性物質であった。雌雄の尿を Glusulase² で酵素加水分解処理すると極性物質は減少した。糞中ではゼアララノンが ^3H 標識総残留物の約 50% を占め、ゼラノールは約 20% を占めていた。これらの結果に、大きな性差はみられなかった。(参照 3) [FNP41, p. 40-41 (Mulkey, 1985a)] [単位修正: 「 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 」、 「 mg/kg 」 → 「 $\text{ng eq}/\text{g}$ 」]

表 1 ラットにおける ^3H 標識ゼラノール経口投与後の
総放射活性濃度 (ng eq/g) 及び代謝物の組成 (%)

性別	測定対象	肝臓	尿 ^a	糞	血液
		84～207 ng eq/g	7,000～13,000 ng eq/g	100～300 ng eq/g	10～17 ng eq/g
雌 (n=2)	ゼラノール	25～30%	21%	20%	— ^c
	ゼアララノン	25～30%	26%	50%	—
	タレラノール	6～7%	4%	<10%	—
	極性物質 ^b	6～7%	34%	<10%	—
雄 (n=2)	ゼラノール	13%	3～9%	20%	—
	ゼアララノン	20%	3～9%	50%	—

² β -グルクロニダーゼ及び β -グルタロニドスルファターゼの混合酵素。以下同様。 [島田美樹専門委員]

	タレラノール	13%	3~9%	<10%	—
	極性物質	13%	69%	<10%	—

- 1 a: 加水分解前の尿における解析結果
 2 b: 逆相 HPLC カラムにおいて早期に溶出する物質
 3 c: 測定せず
 4

【事務局より】

- ① JECFA 評価書 (参考 3) の記述を基に、各種代謝試験は [11,12-³H]標識ゼラノールで実施されたとしていますが、「以下同様」としてよいか、ご確認をお願いします (「1.薬物動態試験」の直前の記載)。
 ② 表 1 の総放射活性濃度について、尿及び糞中の値 (原文では「7-13 mg/kg」及び「0.1-0.3 mg/kg」) は、肝臓及び血液中の値 (原文では「84-207 µg/kg」及び「10-17 µg/kg」) と比べて大きな値となっています。一方、1. (4) のとおり、ラットのゼラノール代謝は胆汁排泄が主との文献があります。原文における単位の誤りではないか、ご確認をお願いします。

(2) 代謝試験 (サル)

サル (カニクイザル、雌雄各 2 匹) に ³H 標識ゼラノールを経口投与 (1.5 mg/匹) し、代謝試験が実施された。血清、肝臓、尿及び糞中の放射活性を定量し、HPLC を用いて肝臓、尿及び糞中の代謝物を同定した。

試験結果を表 2 に示した。

性差は明確ではなく、肝臓及び糞中の主要化合物はゼラノールであった。加水分解処理前の尿中の代謝物はいずれも極性物質であった。Glusulase で加水分解処理後の主要な放射標識化合物はゼラノールであり、全残留放射活性の約 25%を占めていた。(参照

3) [FNP41, p. 41 (Mulkey, 1985b)] 単位修正: 「µg/kg」、 「mg/kg」 → 「ng eq/g」

表 2 サルにおける ³H 標識ゼラノール経口投与後の総放射活性濃度 (ng eq/g) 及び代謝物の組成 (%)

測定対象	肝臓	尿 ^a	糞	血液
		102~195 ng eq/g	5,000 ng eq/g	5,000 ng eq/g
ゼラノール	25%	25%	50%	— ^c
ゼアララノン	10%	5%	20%	—
タレラノール	10%	5%	<10%	—
極性物質 ^b	10%	5%	<10%	—

- 18 n=4
 19 a: 加水分解後
 20 b: 逆相 HPLC カラムにおいて早期に溶出する物質
 21 c: 測定せず
 22

【事務局より】

表 2 の総放射活性濃度について、尿及び糞中の値 (原文ではいずれも「5 mg/kg」) は、肝臓及び血液中の値 (原文では「102-195 µg/kg」及び「28-49 µg/kg」) と比べて大きな値となっています。一方、1. (4) のとおり、サルのゼラノール代謝は胆汁排泄が主との文献があります。原文における単位の誤りではないか、ご確認をお願いします。

1 (3) 代謝試験 (牛)

2 ① ゼラノールの単剤投与

3 肉用牛 (平均体重 221 kg、約 1 歳、雌雄各 9 頭、3 頭/時点) の耳下に ³H 標識ゼラノール製剤を皮下移植投与 (30 mg/頭³) し、投与 2、5、15、30、45 及び 65 日後の排泄物及び組織中の残留物の組成が測定された。事務局 対照群には 2 頭 (雌雄各 1 頭) を用いた。

7 投与 65 日後には、投与量の約 60%が移植投与部位に残存していた。投与部位から消失した 40%のうち、尿及び糞中からそれぞれ 12~18 及び 21~34%が回収された。

9 肝臓、腎臓、尿及び糞中の代謝物は HPLC を用いて分析され、その結果を表 3 に示した。(参照 3、5) [FNP41, p.41-42(Tarr et al., 1984)] [FDA: NADA_RALGRO®, 1989 p.17-18 F.1. (Tarr et al., 1984)]

13 表 3 牛における ³H 標識ゼラノールの皮下移植投与後の
14 排泄物/組織中残留物の組成 (%)

加水分解 処理 ^a	測定対象	試料			
		尿	糞 ^b	肝臓 ^c	腎臓
無し	ゼラノール	— ^d	25	12	※ ^e
	ゼアララノン	—	10~15	17	※
	タレラノール	—	25	12	※
	極性物質	98	—	52	※
有り	ゼラノール	17	※	21.5~32.9	17.8
	ゼアララノン	3.8	※	7.1~19.5	12.6
	タレラノール	43.5	※	24.1~32.4	32.
	極性物質	4	※	4.1~20.3	34.0

15 n=3

16 a : Glusulase を用いた加水分解

17 b : 放射活性抽出率 : 82%

18 c : 放射活性抽出率 : >95%

19 d : 資料中に説明なし

20 e : 資料中では空欄 事務局

21 【事務局より】

- 22 ① 同一の試験において各組織中の総放射活性を測定した結果については、残留試験の項目 (2.(1) ①) に分割して記載しています。また、抱合体についての記述は、JECFA 評価書の構成に基づき(4)の記載に溶け込ませています。記載箇所や各内容について、ご確認をお願いします。
- 23 ② 著者名、試験研究所名、報告書名、Project No.が同一であることから、JECFA と FDA の評価書 (参照 3、5) は、同一の試験の評価を記載していると判断しています。記載が妥当か、ご確認をお願いします。

24 ② 酢酸トレンボロンとの複合投与

25 肉用子牛 (13 週齢、雄) にゼラノール (36 mg/頭) 及び酢酸トレンボロン (140 mg/頭) を移植投与し、代謝試験が実施された。尿中のゼラノール、ゼアララノン及びタレ

³ FDA 評価書 (参照 5) には「36 mg」と記載されている。

1 ラノールを化学発光免疫測定法 (chemiluminescent immunoassay) により定量し、尿
2 抽出物を逆相 HPLC により分析した。

3 その結果、尿中の主要代謝物はタレラノールであった。(参照 3) [FNP41, p. 44 (Jansen,
4 et al., 1986)]

6 (4) 各動物種及び *in vitro* におけるゼラノールの代謝 (ラット、ウサギ、イヌ、サル、 7 牛、豚及びヒト)

8 牛の耳下への皮下移植投与並びにラット及びサルへの経口投与による組織、体液及び
9 排泄物中、ラット、ウサギ、イヌ、サル及びヒトへの経口投与による体液及び排泄物中、
10 並びに豚の耳下への皮下投与による血漿中の ³H 標識ゼラノールの代謝物について検討
11 された。

12 いずれの哺乳動物においても、ゼアララノン及びタレラノールがゼラノールの第 I 相
13 の主要代謝物であり、全動物種がゼラノールをゼアララノン及びタレラノールに代謝す
14 る。組織中及び排泄物中のゼラノール：ゼアララノン：タレラノールの比は、動物種に
15 より異なる。ゼラノール及びその代謝物は、いずれも遊離体及び抱合体 (グルクロン酸
16 抱合体及び/又は硫酸抱合体) として排泄される。

17 そのほかに高い極性を示す未知の微量代謝物が、³H 標識ゼラノールを投与した牛、ラ
18 ット及びサルの尿、肝臓及び糞中でみられた。これらの代謝物の量は、グルクロニダー
19 ゼ及びスルファターゼの粗酵素製剤を用いた長時間の処理により減少したが、消失する
20 ことはなかった。これらの物質はゼラノール及び代謝物の複合抱合体であると推察され
21 る。

22 哺乳動物におけるゼラノールの推定代謝経路を図 1 に示した。(参照 3, 5) 事務局 [FNP41,
23 p. 43 (Tarr, et al., 1984; Mulkey, 1985a; Mulkey, 1985b; Migdalof, et al., 1983)] [FDA;
24 NADA_RALGRO®, 1989 p. 17-18, 20-21 (F1. Tarr, et al., 1984; F3. Migdalof, et al., 1983;
25 F4. Mulkey, 1985 (Project No. 905); F5. Mulkey, 1985 (Project No. 914); F6. H. L. Kim, 1985)]

26 調査事業

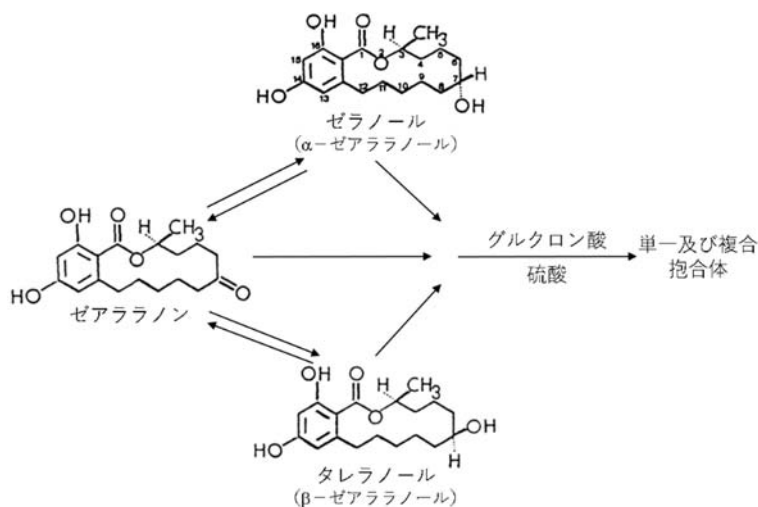
27 ³H 標識ゼラノールを単回経口投与したラット (Winstar 系、雌)、ウサギ (New
28 Zealand)、イヌ (ビーグル種)、サル (アカゲザル) 及びヒトにおいて、ゼラノールとそ
29 の代謝物の排泄は、ラット、イヌ及びサルでは主に胆汁であり、ウサギ及びヒトでは尿
30 中が優位であった。また、ヒトにおいては、血中及び尿中におけるゼラノールとその代
31 謝物はほとんどが抱合体 (グルクロン酸抱合体及び硫酸抱合体) であるが、ラット、ウ
32 サギ、イヌ及びサルでは、遊離体と抱合体の割合には各々で差がみられた。(参照 6) 事
33 務局 [(Migdalof, et al., 1983)]

34 調査事業

35 ³H-標識ゼラノールを含むペレットを耳下に皮下移植投与した豚の血漿では、遊離型
36 の主要代謝物は、タレラノール及びゼアララノン⁴であった。また、抱合体で存在する主
37 要代謝物は、ゼラノール、タレラノール及びゼアララノンであり、グルクロン酸抱合体
38 及び硫酸抱合体として存在していた。(参照 7) 事務局 [(Bories et al., 1989)]

⁴ 参照 7 には “zeralanone” と記載されているが、いずれも「ゼアララノン」であると判断した。

1 ゼラノールを移植投与した牛の可食組織中には、ゼラノールを摂取した実験動物及び
 2 ヒトで生成されるのと同じ代謝物が含まれる。(参照 3、5、6、7) **事務局**[FNP41, p. 43 (Tarr,
 3 et al., 1984)] [FDA: NADA_RALGRO®, 1989 p.17-18,20-21 (F1.Tarr, et al., 1984; F6.
 4 H. L. Kim, 1985)]



5
 6 図 1 哺乳動物におけるゼラノールの推定代謝経路⁵

7
 8 **調査事業**

9 なお、*in vitro* 試験においても、ラット、牛、豚及びヒトの肝ミクロソーム、ヒトの腸
 10 ミクロソーム並びにヒトのリコンビナント UGT を用い、ゼラノールの 7、14 及び 16 位
 11 の水酸基の**代謝された**グルクロン酸抱合体が得られた。それら UGT のゼラノールに
 12 対する代謝活性は、特に **UGT** 1A1、1A3 及び 1A8 で高く、ヒト生体における肝臓及び
 13 腸での抱合体への代謝が示唆された。さらに、豚 (交雑種 (LW)) 及びラット (Wistar
 14 系) の肝ミクロソーム及び細胞質を用いた試験で、いずれの肝ミクロソーム及び肝細胞
 15 質でもゼラノールがそれぞれモノグルクロン酸**抱合化**及びモノ硫酸**抱合化**されることが
 16 確認された。**島田美樹専門委員** (参照 8、9) [(Pfeiffer et al., 2010; Bories et al., 1991)]

17
 【事務局より】

- ① JECFA 評価書 (参照 3) p.43 で引用している 4 試験(Tarr, et al., 1984; Mulkey, 1985a; Mulkey, 1985b; Migdalof, et al., 1983)と FDA 評価書 (参照 5) p.17-18 F.1、p.20-21 F. 3、4、5.の 4 試験については、著者名、試験研究所名、報告書名、Project No.等が同一であることから、両評価書は、それぞれ同一の試験の評価を記載していると判断しています。
 JECFA 評価書では、各動物種における代謝の概要をまとめて記載し、各試験についての詳細は記述されていません。一方、FDA 評価書 F.1、3、4、5、6.では、試験毎に記述がされています。本項目は、JECFA 評価書の記載をベースにしておりますが、記載方法や記載内容の過不足について、ご確認をお願いします。特に、FDA 評価書 F.6. (H. L. Kim, 1985) については JECFA 評価書には引用されていませんが、こちらも追記が必要な内容がないか、ご確認をお願いします。
- ② 調査事業の 4 文献について、以下のご確認をお願いします。
- **記載箇所**について、この項目で適切か、ご確認をお願いします。

⁵ JECFA 評価書 (参考 3) の FIGURE 2 を一部改変。

in vivo 試験の2文献(参照6、7) [(Migdalof, et al., 1983; Bories et al.,1989)]については、JECFA 及びFDA 評価書(参照3、5)の記載に溶け込ませています。(5、6段落目)
また、*in vitro* 試験の2文献(参照8、9) [(Pfeiffer et al., 2010; Bories et al.,1991)]については、項目の末尾になお書きで記載しています。

- 記載内容については、詳細な値や表は記載せず、調査事業の検討者委員会においてポイントとなるとされた内容を書き込みました。誤りや過不足等がないか、ご確認をお願いします。なお、参照6(Migdalof, et al., 1983)については、本文の記述(p.215 尿中排泄中の抱合体の割合はヒトで約99%,サルで約14%...)とTable5.の値で整合がとれなかったため、具体的な数値は記載せず、「各々で差がみられた」としています。ご確認をお願いします。
- 各試験の取扱いについては、同様の趣旨かつ *in vivo* 試験のJECFA 評価書(参照3)の記載が複数あることから、参考資料又は不採用とすることについて、ご確認をお願いします。

<参考 ; H30 調査事業の検討者委員会による留意点>

➤ 参照7 [(Bories et al.,1989)]

ゼラノールのグルクロン酸抱合に関する論文。評価書においては同じ趣旨の引用文献が多くなった際には、不採用もあり得る。なお、アブストラクトでは実験動物が複数形で記載され、本文では単数形で記載されているため、実験動物の数に不明瞭な点がある。

➤ 参照8 [(Pfeiffer et al., 2010)]

薬物動態のデータもあり、採用に値する。ただし、複数のグルクロン酸抱合酵素のゼラノールと代謝物に対するグルクロン酸抱合の活性の強さを比較した点については、評価書への記載を要しない。

➤ 参照9 [(Bories et al.,1991)]

in vitro でゼラノールとその代謝物がグルクロン酸抱合や硫酸抱合されることを報告した論文である。評価書においては同じ趣旨の引用文献が多くなった際には、不採用もあり得る。

※ 参照6(Migdalof, et al., 1983)については、JECFA 評価書(参照3)でも引用されていますが、検討者委員会での議論において、原著を追加することとなったものです。

- ③ 図2については、JECFA 評価書(参照3)のFIGURE 2の解像度が悪いため、構造式をFIGURE 1から引用し、和訳を行ったものを記載しています。ご確認をお願いします。

【寺岡専門委員】

- ① *in vitro* 試験ですので、概要が重要であり、細かい数値や記述は不要と思います。
(FDA 評価書 F.6.について) 特に新しい記述はないように思います。

1

2 調査事業

3 (5) *in vitro* 代謝試験

4 ゼラノールの第I相代謝について検討するため、ゼラノール又は重水素ラベルされ
5 たゼラノールが、ヒトの肝ミクロソーム(24人分のミクロソームをプールしたもの)
6 とともに培養-37°Cでインキュベートされた。寺岡専門委員(以下2カ所同様)

7 代謝反応による脱重水素の脱落及びLC-DAD-MSによる解析の結果、ヒトの肝ミク
8 ロソームによるゼラノールの主な代謝物は、芳香環の13及び15位炭素が芳香族水酸
9 化されたものであり、カテコール構造を有するものであることが推定された。石川専門

10 委員※ また、これらの物質が酸化された場合に生じるキノン構造を有する代謝物も検

1 出されたことから、これらのカテコールが不安定であることが示唆された。

2 これらのカテコール構造を有する代謝物の反応性について検討するために、マイクロソ
3 ーム培養液に、NN-acetylcysteine (NAC) を添加したところ、数種のゼラノールの
4 代謝物の NAC 付加体が検出された。島田美樹専門委員

5 種による代謝の差異を検討するため、ゼラノールをラット (Wister 系統、雄)、子牛
6 (去勢雄) 又は豚 (雌) の肝マイクロソームとともに培養インキュベートしたところ、そ
7 れぞれ同様のカテコール代謝物の存在を示唆するピークが検出された。

8 また、ゼラノールとヒトリコンビナント CYP (1A1、1A2、1B1、2A6、2B6、2C8、
9 2C9、2C19、2D6 及び 3A4) との培養インキュベート実験では、芳香環の族水酸化にお
10 いて CYP1A2 が最も酵素活性が高かった。島田美樹専門委員さらに、ヒトの肝マイクロソ
11 ームの場合と同様に、ゼラノールの代謝物の NAC 付加体が生成された。(参照 10)
12 [[Hildebrand et al., 2010](#)]

13 ※…芳香環 13 及び 15 位炭素のが芳香族水酸化されたものであり、…島田美樹専門委員

14 **【事務局より】**

15 調査事業による文献です。記載内容に誤りや過不足等がないか、ご確認をお願いします。

<参考 ; H30 調査事業の検討者委員会による留意点>

ゼラノールの代謝についての比較的珍しい代謝経路についての論文である。ゼラノールの芳香環の水酸化により、カテコールに変化する。カテコールは不安定であり、その後 DNA 付加体を形成し得る経路について書かれている。DNA 付加体は毒性学の観点からも考慮する必要がある。

【寺岡専門委員】

細胞や組織ではなく、マイクロソームですので、培養とは言わないと思います。

16 **2. 残留試験**

17 **(1) ゼラノールの単剤投与**

18 **① 残留試験 (牛、単回移植) ①**

19 肉用牛 (平均体重 221 kg、約 1 歳、雌雄各 9 頭、3 頭/時点) の耳下に ³H 標識ゼラノ
20 ール製剤を皮下移植投与 (30 mg/頭⁶) し、投与 2、5、15、30、45 及び 65 日後の組織
21 中の総放射活性が測定された。対照群には 2 頭 (雌雄各 1 頭) を用いた。

22 結果を表 4 に示した。

23 投与後、組織中残留は投与 5~15 日後に最高値に達し、時間の経過とともに徐々に減
24 少した。最高値に達した後、肝臓では約 30 日で半分の濃度になった。

25 可食組織中の残留濃度は、投与後のいずれの時点においても極めて低かった。残留濃
26 度は肝臓で最も高かったが、10 ng eq/g を超えることはなかった。筋肉中残留濃度は投
27 与後のいずれの時点においても 0.13 ng eq/g を超えることはなかった。(参照 3、5)

28 [[FNP41, p.41-42\(Tarr et al., 1984\)](#)] [[FDA; NADA_RALGRO®, 1989 p.17-18 F.1. \(Tarr et al.,](#)

29 ⁶ FDA 評価書 (参照 5) には「36 mg」と記載されている。

1 1984)] 単位修正：「 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 」→「 $\text{ng eq}/\text{g}$ 」

2

3

表4 牛における ^3H 標識ゼラノールの移植投与後の平均総放射活性濃度 ($\text{ng eq}/\text{g}$)

組織 -(n=3)-	投与後経過日数 (日)						検出限界
	2	5	15	30	45	65	
肝臓	2.5	8.2	7.3	4.2	3.4	1.5	0.07
腎臓	0.74	1.7	1.3	0.97	0.89	0.75	0.07
筋肉	0.099	0.13	0.10	0.054	0.047	0.044	0.014
脂肪 ^a	0.10	0.30	0.25	0.26	0.14	0.098	0.035
胆汁	80	270	230	140	120	56	※ ^b

4

n=3

5

a：腎周囲脂肪

6

b：資料中では空欄 事務局

7

8

② 残留試験（牛、単回移植）②

9

牛（雌4頭）にゼラノール製剤を移植投与（36 mg/頭）し、投与70日後の組織中ゼラノール濃度がモノクローナル抗体を用いたRIA（定量限界：筋肉0.278 ng/g、脂肪0.121 ng/g、肝臓0.373 ng/g、腎臓0.110 ng/g）により測定された。

10

組織中の平均残留濃度は、筋肉、脂肪、肝臓及び腎臓中でそれぞれ0.127、0.184、0.299及び0.157 ng/gであった。（参照3）[FNP41, p. 44 (Dixon & Russell, 1986)]

11

単位修正：「 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 」
→「 ng/g 」

12

13

14

15

16

③ 残留試験（牛、単回移植）③

17

牛（去勢雄27頭）にゼラノール製剤を移植投与（36 mg/頭）し、投与7、14、21、30及び50日後の肝臓、筋肉及び脂肪の生検試料中並びに投与70、90及び120日後の各組織中のゼラノール濃度が測定された。

18

投与70日後の組織中の残留濃度は、肝臓、腎臓、筋肉及び脂肪でそれぞれ0.200±0.147、0.126±0.094、0.725±0.886及び0.073±0.040 ng/gであった。投与70日後の胆汁中の残留濃度は3.28±1.74 ng/mL⁷であった。（参照3）[FNP41, p. 44 (Dixon, et al., 1986)]

19

単位修正：「 ng/kg 」「 $\mu\text{g}/\text{L}$ 」→「 ng/g 」「 ng/mL 」

20

21

【事務局より】

脚注に記載の通り、JECFA 評価書（参考3）の記載では、胆汁中の残留濃度の単位に誤りがあると判断しています。ご確認をお願いします。

22

23

④ 残留試験（牛、単回移植）④

24

肉用牛（体重約260 kg、10～12月齢、雄36頭、各6頭/時点）の耳下に ^3H 標識ゼラノール製剤を皮下移植投与（36又は72 mg/頭）し、投与15、30及び65日後の組織中の総放射活性が測定された。対照群には3頭（1頭/時点）を用いた。

25

結果を表5に示した。

26

⁷ 参照3には“mg/L”と記載されているが、“ $\mu\text{g}/\text{L}$ ”の誤りであると判断した。

1 平均組織中残留濃度の最高値は投与 15 日後にみられた。72 mg を投与した牛におけ
 2 る各時点の各組織中の平均総残留濃度は、36 mg を投与した牛のものよりも高かった。
 3 試験を通して最も高い平均総組織中残留濃度であったのは、72 mg を投与した牛の投与
 4 15 日後の肝臓であり、6.0 ng eq/g であった。(参照 5) [FDA; NADA_RALGRO®, 1989 p. 19
 5 F.2. (Wilkes et al., 1984)] 単位修正: 「ppb」 → 「ng eq/g」

7 表 5 牛における ³H 標識ゼラノールの移植投与後の平均総放射活性濃度 (ng eq/g)

組織 (n=6)	投与量及び投与後経過日数 (日)					
	36 mg			72 mg		
	15	30	65	15	30	65
肝臓	2.2	1.4	1.3	6.0	2.8	2.6
腎臓	0.51	0.43	0.47	1.90	0.93	0.92
筋肉	0.020	0.017	0.016	0.055	0.040	0.030
脂肪	0.110	0.087	0.083	0.440	0.230	0.140

8 n=6 事務局

10 ⑤ 残留試験 (牛、反復移植)

11 牛 (性別不明、3 頭/群) にゼラノール製剤を 1 回から 6 回移植投与 (36 mg/頭/回)
 12 し、残留試験が実施された。複数回の移植投与では、初回を 60 日齢で実施し、その後の
 13 投与を 65 日間隔で実施した。いずれの被験動物についても、最終投与 65 日後に RIA
 14 (検出限界: 0.5 ng/g) により分析した。

15 6 群のいずれの被験動物においても筋肉、腎臓及び脂肪中に残留物は検出されなかつ
 16 た。1~3 回投与群では肝臓中に残留物は検出されなかったが、4、5 及び 6 回投与群で
 17 はそれぞれ 0.73、1.52 及び 1.10 ng/g が肝臓中から検出された。(参照 3) [FNP41, p. 44
 18 (IMC, undated)] 単位修正: 「µg/kg」 → 「ng/g」

20 ⑥ 残留試験 (牛、単回移植又は反復静脈内)

21 牛 (雄、頭数不明) にゼラノールを移植投与 (24~168 mg/頭) し、投与 5 日後の組
 22 織中のゼラノール及びその代謝物濃度が測定された。別の群の牛にはゼラノール/ジメチ
 23 ルスルホキンド (DMSO) /生理食塩水溶液を 1 日 2 回、3 日間静脈内投与 (552~4,128
 24 mg/頭) し、最終投与 3 日後の組織中ゼラノール及びその代謝物濃度を測定した。

25 結果を表 6 に示した。(参照 3) [FNP41, p. 44-45 (Cross and Byers, 1987)] 単位修正:
 26 「µg/kg」 → 「ng/g」

28 表 6 牛における移植又は静脈内投与後のゼラノール及びその代謝物の
 29 残留濃度 (ng/g)

投与経路 及び方法	投与量 (mg/頭)	試料				
		筋肉			肝臓	
		ゼラノール	ゼアラノン	タレラノール	ゼラノール	タレラノール
移植 (単回)	24	0.13	0.05	<0.02	1.0	—
	48	0.21	0.1	<0.02	NA	—

a	72	0.16	0.2	<0.02	NA	—
	120	0.16	0.09	<0.02	NA	—
	168	0.13	0.09	<0.02	2.9	—
静脈内 (1日2 回、3日 間) b	552	0.14	—	0.03	15.0	5.0
	1,374	0.29	0.19	0.06	65.0	40.0
	2,748	0.32	0.23	0.10	50.0	25.0
	4,128	0.55	0.09	0.08	60.0	70.0

1 NA：分析せず

2 a：投与5日後に試料採取

3 b：最終投与3日後に試料採取

5 (2) 酢酸トレンボロンとの複合投与

6 ① 残留試験 (牛) ①

7 牛 (去勢雄6頭) に酢酸トレンボロン (300 mg/頭) 及びゼラノール (36 mg/頭) を
8 移植投与、又は牛 (去勢雄5頭) にゼラノール (36 mg/頭) を移植投与し、残留試験が
9 実施された。投与67日後の組織中ゼラノール濃度は、著者らが考案した抽出法並びに
10 Dixon 及び Russell (1983) のRIAにより測定された。

11 肝臓 (0.349 ng/g) 及び腎臓中 (0.076 ng/g) の濃度のみが対照群と比べて有意に高か
12 った⁸。(参照3) [FNP41, p. 44 (O'Keefe, 1984)] 単位修正: 「μg/kg」 → 「ng/g」

14 ② 残留試験 (牛) ②

15 牛 (雌3頭、未去勢の若雄1頭) に酢酸トレンボロン (200 mg/頭) 及びゼラノール
16 (36 mg/頭) を移植投与し、残留試験が実施された。投与84及び56日後の雌並びに投
17 与271及び183日後の雄の組織中ゼラノール濃度を測定した。

18 組織中の残留濃度は、筋肉及び脂肪ではいずれも0.2 ng/g未満、腎臓では0.3 ng/g未
19 満、肝臓では0.5 ng/g未満であった。(参照3) [FNP41, p. 44 (Gaspar, et al., 1985)] 単

20 位修正: 「μg/kg」 → 「ng/g」

22 (3) 残留物

23 [I. 7.]に記載したとおり、ゼラノールを代謝物として天然に産生する *Fusarium* 株
24 は完成飼料又は飼料作物から分離された。*Fusarium* 分離株によるゼラノール (及びタ
25 レラノール) の天然かつ直接的な産生は、家畜飼料中においてもこれらの誘導体が存在
26 することを示唆するものであり、重要である。と殺された牛の組織残留物として検出さ
27 れるゼラノール及びその代謝物並びにその他のレゾルシル酸ラクトンが天然由来であり、
28 必ずしも同化剤の移植投与が原因ではない可能性があることを意味する。事務局 (参照
29 3) [FNP41, p. 38-39 (Richardson et al., 1985)]

31 3. 遺伝毒性試験

32 ゼラノール並びにその代謝物であるゼアララノン及びタレラノールの遺伝毒性試験結果
33 を表7及び8に示した。(参照5、11、12) [FDA; NADA_RALGRO®, 1989 p. 8-12 C. 1a. -f.] [FAS23,

⁸ 複合投与群又は単剤投与群のいずれか不明。

1 p6-7] 調査事業 [(Pylikkanen et al., 1991)] 単位修正: 「M」 → 「mol/L」

2
3

表7 ゼラノールの遺伝毒性試験結果

検査項目	試験対象	用量	結果	
<i>in vitro</i>	復帰突然変異試験	<i>Salmonella typhimurium</i> TA98、TA100、TA1538	1~500 µg/plate (+S9)	陰性 (参照 11) [Bartholomew & Ryan, 1980]
		<i>S. typhimurium</i> TA98、TA100、TA1535、TA1537、TA1538⁹ 能美専門委員	1~10,000 µg/plate (±S9)	陰性 (参照 5、11) [Jagannath, 1982a]
	遺伝子前進突然変異試験 事務局 (以下同様)	マウスリンフォーマ L5178Y 細胞 (Tk+/-)、-3.7.2C 細胞	25~600 µg/mL (+S9)	陰性 (参照 5、11) [Cifone, 1982]
	小核試験	C57BL マウス精細管由来初代培養精母細胞	10 ⁻⁸ ~10 ⁻⁵ mol/L	陰性 (参照 12) 調査事業 [Pylikkanen et al., 1991]
	DNA 修復試験	F344 ラット (成獣雄) 肝由来初代培養細胞	1.3×10 ⁻⁵ ~1.3×10 ⁻³ mg/mL	陰性 (参照 5、11) [Williams, 1983]
	DNA 結合試験 (DNA binding assay)	ラット肝由来初代培養細胞	不明	陰性 (参照 11) [Williams, 1984]
	Rec アッセイ	<i>Bacillus subtilis</i> H17、M45	不明	陽性 (参照 11) [Scheutwinkel et al., 1986]
	SOS-クロモ試験	<i>Escherichia coli</i> PQ37	不明 (±S9)	陰性 (参照 11) [Scheutwinkel et al., 1986]
姉妹染色分体交換試験	チャイニーズハムスターV79 細胞	不明 (±S9)	陰性 (参照 11) [Scheutwinkel et al., 1986]	

⁹ JECFA 評価書 (参照 11) には「TA100」と記載されている。事務局

in vivo	細胞遺伝学的試験 (Bone marrow cytogenetic assay)	CD-1 マウス骨髄細胞	0.5、1.5、5 g/kg 体重 <u>経口</u> 、急性又は亜慢性ばく露 能美専門委員	陰性 (参照 5、11) [Cimino, 1982]
	小核試験	Han:NMRI マウス精子細胞	50 mg/kg を単回皮下投与	陰性 (参照 12) 調査事業 [Pytkkanen et al., 1991]

1
2

表 8 代謝物の遺伝毒性試験結果

検査項目	試験対象	用量	結果	
ゼアララノン				
in vitro	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> TA98、TA100、TA1535、TA1537、TA1538	50、500、1,000 µg/plate (+S9)	陰性 (参照 11) [Ingerowski et al., 1981]
		<i>S. typhimurium</i> TA98、TA100、TA1535、TA1537、TA1538	1.0~10,000 µg/plate (±S9)	陰性 (参照 5、11) [Jagannath, 1982b]
	遺伝子前進突然変異試験	マウスリンフォーマ L5178Y 細胞 (Tk +/-)	3.13~300 µg/mL	陰性 (参照 5、11) [Cifone, 1983]
	DNA 修復試験	F344 ラット (成獣雄) 肝由来初代培養細胞	5×10 ⁻¹⁰ ~5×10 ⁻⁴ mg/mL	陰性 (参照 5、11) [Williams, 1985a]
in vivo	細胞遺伝学的試験 (Bone marrow cytogenetic assay)	CD-1 マウス骨髄細胞	0.5、1.67、5 g/kg 体重 <u>経口</u> 、急性又は亜慢性ばく露 能美専門委員	陰性 (参照 5、11) [Cimino, 1983]
タレラノール				
in vitro	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> TA98、TA100、TA 1538-1548 能美専門委員	1~500 µg/plate (+S9)	陰性 (参照 11) [Bartholomew & Ryan, 1980]
		<i>S. typhimurium</i> TA98、TA100、TA1535、TA1537、TA1538 ⁹ 能美専門委員	1~5,000 µg/plate (±S9)	陰性 (参照 5、11) [Jagannath, 1983]

	遺伝子前進 突然 変異試験	マウスリンフォーマ L5178Y 細胞 (Tk+/-)、-3.7.2C 細胞	20~160 µg/mL (+S9)	疑陽性境界 (Borderline) 能美専門委員 (参照 5、11) [Cifone, 1985]
	DNA 修復 試験	F344 ラット (成獣雄) 肝由来 初代培養細胞	$2 \times 10^{-5} \sim 2 \times 10^{-1}$ mg/mL	陰性 (参照 5、11) [Williams, 1985b]
	染色体異常 試験 (Chromosomal aberration frequency assay)	CHO 細胞	3.75 12.5 ~250 µg/mL (± S9) ⁴⁹ 能美専門委員	陽性 (-S9) 陰性 (+S9) (参照 5、11) [Ivett, 1985b]
in vivo	細胞遺伝 学的試験 (Bone marrow cytogenetic assay)	ICR マウス骨髄細胞	8.5~85 mg/mL 経口、急性又は亜慢性ばく露 能美専門委員	陰性 (参照 5、11) [Ivett, 1985a]
	優性致死 試験	H/a(ICR)BR マウス	0.5、1.5、5.0 g/kg 体重/日 5日間連続強制経口投与 能美専門委員	陰性 (参照 5、11) [Brusick & Myhr, 1986]

1
2 ゼラノールについて、*in vitro* の Rec アッセイでは陽性の結果が得られたが、DNA 結
3 合試験 (DNA binding assay) 及び SOS-クロモ試験では陰性であり、*in vivo* の細胞遺伝
4 学的試験 (Bone marrow cytogenetic assay) でも陰性の結果が得られた。また、復帰突然
5 変異試験、遺伝子前進突然変異試験、DNA 修復試験、姉妹染色分体交換試験及び小核試
6 験のいずれも陰性であった。

7 食品安全委員会動物用医薬品専門委員会は、ゼラノールは生体にとって特段問題とな
8 る遺伝毒性はないと考えた。

9
10 ゼラノールの代謝物であるゼアララノン及びタレラノールについても各種遺伝毒性
11 試験が実施され、ゼアララノンでは、いずれも陰性であった。タレラノールについては、
12 *in vitro* の染色体異常試験 (Chromosomal aberration frequency assay) で S9 非存在下で
13 は陽性であったが、S9 存在下では陰性であった。また、遺伝子前進突然変異試験では明
14 確な陽性結果が観察されず、*in vivo* の細胞遺伝学的試験 (Bone marrow cytogenetic assay)
15 及び優性致死試験でも陰性であった。

⁴⁹ FDA 評価書 (参照 5) には「3.75~50 µg/mL (=S9)、25~250 µg/mL (+S9)」と記載されてい
る。能美専門委員

1 食品安全委員会動物用医薬品専門委員会は、ゼアララノン及びタレラノールについて
 2 も、生体にとって特段問題となる遺伝毒性はないと考えた。
 3

【事務局より】

- ① まとめの文章について、特に、ゼラノールについて、Rec アッセイで陽性結果が得られたこと
 に対して、DNA 結合試験・SOS-クロモ試験・細胞遺伝学的試験を特記していますが、適切で
 しょうか。ご確認をお願いします。
- ② Report No.や原文の著者・実施施設名等から、一部の試験について、JECFA と FDA の評価
 書 (参照 5、11) は、同一の試験の評価を記載していると判断しています。記載が妥当か、ご
 確認をお願いします。
- ③ 調査事業による文献の試験結果を追記しています (参照 10) (Pylikkanen et al., 1991)。記載
 内容に誤りや過不足等がないか、ご確認をお願いします。

<参考 ; H30 調査事業の検討者委員会による留意点>

マウスの生殖細胞、精子における小核試験の結果、陰性であった結果が報告されている。デー
 タ、内容も問題がない。遺伝毒性を評価のためであるため、用量が mg レベルである点も問題な
 い。

【能美専門委員】

- ① Rec アッセイ陽性の結果が打ち消されるわけではありませんが、DNA 結合試験などの結果を
 記載しておいて、問題ないと思います。
- ② FDA 評価書の方が、原報告書に基づいているので、より正確かと思えます。
- ③ 確認しました。

4
 5 4. 急性毒性試験

6 (1) 急性毒性試験 (マウス及びラット)

7 ゼラノールの急性毒性試験の結果を表 9 に示した。(参照 11) [FAS23, p.8 (IMC, 1980b)]
 8

9 表 9 ゼラノールの急性毒性試験結果

動物種	性別	投与経路	LD ₅₀ (g/kg 体重)
マウス	不明	経口	>40
	雌	腹腔内	4.4
ラット	不明	経口	>40
	雌	腹腔内	9~11

10
 11 (2) 急性毒性試験 (ラット)

12 ラット (系統不明、雌雄各 25 匹/群) に、ゼラノールを強制経口投与 (0 又は 200 mg/kg
 13 体重) し、投与 24 時間後に検査された。

14 投与群の全例で血中 Glu が減少し、雄で T.Chol の上昇が、雌で低下がみられた。ま
 15 た、雄の精巣上体重量の減少及び雌の子宮重量の増加がみられた。(参照 11) [FAS23, p.8
 16 (Albany Medical Collage, 1980)]
 17

1 5. 亜急性毒性試験

2 (1) 8週間亜急性毒性試験（マウス）

3 マウス（CD-1系、雌雄各10匹/群）にゼラノールを8週間混餌投与（0、1、5、25、
4 50又は100ppm）し、亜急性毒性試験が実施された。

5 毒性所見を表10に示した。

6 試験期間中、死亡又は臨床的な影響は観察されなかった。体重、摂餌量又は飲水量で
7 は、投与群と対照群の間に有意差はみられなかった。剖検では、投与による変化は観察
8 されなかった。

9 臓器重量では、雌雄の肝臓又は雄の精巣の絶対及び相対重量について、投与群と対照
10 群の間に投与による差異は観察されなかった。しかしながら、25ppm以上投与群の雌に
11 において卵巣の絶対及び相対重量の減少が、100ppm投与群の雌において子宮の絶対及び
12 相対重量の増加が認められた。（参照11）[FAS23, p.8 (Perry & Everett, 1984)]

13

14 食品安全委員会動物用医薬品専門調査会は、本試験において、雄では全投与群で投与
15 による影響がみられず、雌では25ppm以上投与群で卵巣の絶対及び相対重量の減少が
16 みられたことから、雄のNOAELを最高用量の100ppm（15 mg/kg 体重/日に相当¹¹）、
17 雌のNOAELを5ppm（0.75 mg/kg 体重/日に相当¹¹）と設定した。

18

19

表10 マウスを用いた8週間亜急性毒性試験における毒性所見

投与量 (ppm)	雄	雌
100	(100ppm 以下) 毒性所見なし	・子宮の絶対及び相対重量の増加
25 以上		・卵巣の絶対及び相対重量の減少
5 以下		毒性所見なし

20

【事務局より】

NOAELの値については、IPCS：EHC240のMouseの値を用いて換算しています。ご確認を
お願いします。

【島田章則専門委員】確認しました。

21

22 (2) 4日間亜急性毒性試験（ラット）＜参考資料¹²＞

23 ラット（系統不明、雌雄各30～35匹/群）に、ゼラノールを4日間強制経口投与（0
24 又は200 mg/kg 体重/日）し、亜急性毒性試験が実施された。

25 T.Chol及びGluの低下並びに副腎重量の増加、雄の精巣、精囊及び精巣上体重量の減
26 少、雌の子宮重量の増加がみられた。

¹¹ JECFAで用いられている換算値（IPCS：EHC240）を用いて摂取量を推定。

動物種	最終体重 (kg)	摂餌量 (g/動物/日)	摂餌量 (g/kg 体重/日)
Mouse	0.02	3	150

¹² 試験に使用されたラットの系統が不明であり、投与量が1用量しか設定されていないことから、参
考資料とした。

1 病理組織学的検査では、卵巣に黄体が目立ってみられ、精細管には精祖細胞
 2 (spermatogonia) がみられたが、成熟した精子は含まれていなかった。リンパ組織に
 3 は多くの大型多核細胞 (large multinucleated cells) がみられた。(参照 11) [FAS23, p. 9
 4 (Albany Medical College, 1980)]

5 **【事務局より】**

事務局案として、試験に使用されたラットの系統が不明であり、投与量が 1 用量しか設定されて
 いないことから、参考資料としました。本試験の取扱いについて、ご確認をお願いします。

【小川専門委員】 参考資料に同意します。

【島田章則専門委員】 確認しました。

【寺岡専門委員】 原案どおり、参考資料が適切だと思います。

6
 7 **(3) 6 週間亜急性毒性試験 (ラット) <参考資料¹³>**

8 ラット (Manor Farm 系アルビノ、雌雄各 5 匹/群) にゼラノールを 6 週間強制経口
 9 投与 (25、50、100、200 又は 400 mg/kg 体重/日、5 日/週) し、亜急性毒性試験が実施
 10 された。対照群は設定されなかった。投与量を試験開始第 4 週から、100 mg/kg 体重/
 11 日投与群では 800 mg/kg 体重/日に、200 mg/kg 体重/日投与群では 1,600 mg/kg 体重/
 12 日に増量した。

13 全ての投与群で影響が認められ、外性器 (external genitalia) の変化 (雄における精
 14 巣の小型化及び雌における外陰部 (vulva) の増大肥大 (enlargement)) がみられた。

15 過敏性 (irritability)、無気力 (flaccidity)、脱毛 (alopecia)、頻尿 (excessive micturition)
 16 及び体重増加抑制もみられた。

17 病理組織学的検査では、精子形成の停止 (spermatogenic arrest)、前立腺、精囊及び
 18 凝固腺 (coagulating glands) の萎縮、グラーフ卵胞の欠如 (absence of graafian follicles)、
 19 子宮内膜過形成 (endometrial hyperplasia)、精囊の扁平上皮化生 (squamous
 20 metaplasia) 及び腎臓の腎尿細管に石灰化円柱 (calcified casts) がみられた。(参照 11)

21 [FAS23, p. 9 (IMC, 1980c)] **島田章則専門委員**

22 **【事務局より】**

事務局案として、対照群が設定されていないことから、参考資料としました。本試験の取扱い
 について、ご確認をお願いします。

【小川専門委員】 参考資料に同意します。

【島田章則専門委員】 確認しました。「腎尿細管に」とするとよりわかりやすいかと思われます。

【寺岡専門委員】 参考資料が適切だと思います。

23
 24 **(4) 13 週間亜急性毒性試験 (ラット) ①**

25 ラット (SD 系、雌雄各 20 匹/群) にゼラノールを 13 週間混餌投与 (0、0.02、0.18、
 26 1.2 又は 8.8 mg/kg 体重/日に相当) し、亜急性毒性試験が実施された。病理組織学的検
 27 査を 8.8 mg/kg 体重/日投与群及び対照群の雌雄各 10 匹の主要器官及び組織について実
 28 施した。

¹³ 対照群が設定されていないことから、参考資料とした。

1 毒性所見を表 11 に示した。
 2 試験期間中に 6 例が死亡したが、投与によるものとは考えられなかった。
 3 摂餌量は、対照群と比べて投与群で ~~は~~僅かな減少のみみられた ~~—(only minor~~
 4 ~~decreases)~~。しかし、8.8 mg/kg 体重/日投与群では、特に雄において、対照群に比べて
 5 顕著な体重増加抑制がみられた。寺岡専門委員

6 血液学的検査、臨床化学的検査又は尿検査のパラメータに、投与による変化はみられ
 7 なかった。

8 臓器重量では、8.8 mg/kg 体重/日投与群の雌雄で肝臓の相対重量及び腎臓重量の軽度
 9 の増加 (a slight increase in relative liver weights ... and in the kidneys) がみられた。

10 病理組織学的検査では、8.8 mg/kg 体重/日投与群の雌雄ともに、肝細胞内の脂肪蓄積
 11 と同程度の、肝細胞の空胞化 (vacuolation) の発生頻度の増加がみられた。8.8 mg/kg
 12 体重/日投与群の雄で腎臓の腎尿細管に石灰化円柱 (calcified casts) の有意な増加がみら
 13 れた。島田章則専門委員

14 投与による影響は、1.2 mg/kg 体重/日投与群では境界領域の変化 (only marginal)
 15 であった。0.18 mg/kg 体重/日投与群では、投与による影響は観察されなかった。(参照
 16 11) [FAS23, p.8-9 (Everett et al., 1983)]

17
 18 食品安全委員会動物用医薬品専門調査会は、本試験において、8.8 mg/kg 体重/日投与
 19 群で肝細胞内の脂肪蓄積、肝細胞の空胞化、腎臓の腎尿細管における石灰化円柱の増加
 20 等がみられ、1.2 mg/kg 体重/日では投与による影響は境界領域の変化 (only marginal)
 21 であったことから、NOAEL を 1.2 mg/kg 体重/日と設定した。島田章則専門委員

22
 23 表 11 ラットを用いた 13 週間亜急性毒性試験①における毒性所見

投与量 (mg/kg 体重/日)	雄	雌
8.8	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制 ・肝臓の相対重量、腎臓重量の軽度の増加 ・肝細胞内の脂肪蓄積、肝細胞の空胞化、腎臓の腎尿細管における石灰化円柱 島田章則専門委員 	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制 ・肝臓の相対重量、腎臓重量の軽度の増加 ・肝細胞内の脂肪蓄積、肝細胞の空胞化
1.2 以下	毒性所見なし ^a	毒性所見なし ^a

24 ^a:JECFA は、1.2 mg/kg 体重/日投与群でみられた影響については、境界領域の変化 (only marginal)
 25 であるとした。(参照 11) [FAS23, p.8-9 (Everett et al., 1983)]

26 【事務局より】

① 事務局案として、1.2 mg/kg 体重/日投与群では投与による影響は境界領域の変化 (only marginal) であったことから、NOAEL を 1.2 mg/kg 体重/日と設定しました。
 なお、NOAEL を 0.18 mg/kg 体重/日とすることも考えられます (ただし、1.2 mg/kg 体重/日投与群でみられた毒性所見の内容は明確ではありません)。また、病理組織学的検査が 8.8 mg/kg 体重/日投与群と対照群以外では実施されていないことから、本試験の取扱いも含め、ご確認をお願いします。

- ② 資料中の「the high-dose group」は8.8 mg/kg 体重/日投与群と解釈し、記載しています。
- ③ NOAELの根拠とした所見については「肝細胞内の脂肪蓄積、肝細胞の空胞化、腎臓におけるの石灰化円柱の増加等」としてありますが、特記する内容について、ご確認をお願いします。
- ④ 一部の記載については「僅かな減少のみみられた (only minor decreases)。」及び「投与による影響は境界領域の変化 (only marginal) であった」と、英文を併記しています。ご確認をお願いします。
- ⑤ 表の記載は、以下のとおりとしています。併せてご確認をお願いします。
- ・臓器重量の変化はthe high-dose groupで軽度の増加 (slight increase) がみられたことから、8.8 mg/kg 体重/日投与群の項目に記載。腎臓については、相対重量か絶対重量かが明記されていないため、単に「腎臓重量」と記載。
 - ・病理組織学的検査はthe high-dose and control groupsにのみ実施されたことから、同検査に係る所見は8.8 mg/kg 体重/日投与群の項目に記載。
 - ・「体重増加抑制」はthe high-dose groupで顕著とされたことから、8.8 mg/kg 体重/日以上投与群の項目に記載。
 - ・「摂餌量減少」は僅かな減少のみみられた (only minor decreases) ことから、毒性所見として記載せず。

【小川専門委員】

- ① 1.2mg/kg 体重/日以下の群での変化は見えていないため、1.2を毒性所見なしとは断定できないと考えます。参考資料とせざるを得ないと思います。
- ② 同意します。

【島田章則専門委員】(①のNOAEL案について) 確認しました。

【寺岡専門委員】

- ① 8.8 mg/kg 以外の影響は微々たるものと想像されますが、内容がよくわかりません。低用量では病理組織学的検査も行われていないわけですし、全体の評価に影響をあたえるわけではないので、特にNOAELを決めないという選択肢も考慮してはいかがでしょうか。
- ④ 前者は併記することもないと思います。ただ、「marginal effect」はわかりやすい日本語がみあたらないので併記した方がよいのではないのでしょうか。

1

2 (5) 13週間亜急性毒性試験(ラット) ②<参考資料¹⁴>

3 ラット(SD系、体重約80g、雌雄各20匹/群)にゼラノールを13週間混餌投与(0、
4 0.025~8.575 mg/kg 体重/日で4用量)し、亜急性毒性試験が実施された。

5 毒性がない最高用量(largest nontoxic dosage (NTEL))は、0.175 mg/kg 体重/日で
6 あった。8.575 mg/kg 体重/日投与群では、雌雄において、体重増加抑制、肝機能試験(liver
7 function test)の変化、肝臓の重量増加及び肝細胞の空胞化(vacuolation)の増加がみ
8 られた。また、雄において、好中球数の減少及び腎臓の重量増加がみられた。(参照 5)

9 [FDA; NADA_RALGRO®, 1989 p.3 A.1. (Everett et al., 1984)]

10

11 (6) 13週間亜急性毒性試験(ラット) ③<参考資料¹⁵>

12 ラット(系統及び匹数不明、雌雄)にゼラノールを13週間混餌投与(0.25、1.25又
13 は6.25 mg/kg 体重/日)し、亜急性毒性試験が実施された。

14 1.25 mg/kg 体重/日以上投与群において軽度の体重増加抑制が観察された。(参照 11)

¹⁴ 試験の詳細投与が不明であることから、参考資料とした。

¹⁵ 試験の詳細が不明であることから、参考資料とした。

1 [FAS23, p. 9 (Williams, 1982)]

2
3 (7) 26 週間亜急性毒性試験 (ラット) <参考資料¹⁶>

4 ラット (系統及び匹数不明、雌雄) にゼラノールを 26 週間混餌¹⁷投与 (0.1、0.8 又は
5 6.4 mg/kg 体重/日) し、亜急性毒性試験が実施された。

6 6.4 mg/kg 体重/日投与群において、雄で摂餌量の減少を伴う体重増加抑制及び Hb の
7 低値傾向が、雌で肝細胞大小不同 (irregularity in hepatic cell size) を含む軽度の肝臓
8 のな肝変化 (mild hepatic changes) が認められた。(参照 11、13) [FAS23, p. 9 (Williams,
9 1982)] [分科会報告] 島田章則専門委員

10
11 【島田章則専門委員】 mild hepatic changes 軽度の肝臓の変化 (「肝変化 hepatization」 という
12 病理用語との混乱を避けるため)。

13 (8) 6 週間亜急性毒性試験 (イヌ) <参考資料¹⁸>

14 イヌ (雌雄各 1 匹/群) に、ゼラノールを 6 週間経口カプセル投与 (25、50、100、200
15 又は 400 mg/kg 体重/日、5 日/週) し、亜急性毒性試験が実施された。対照群は設定さ
16 れなかった。投与量を投与開始第 4 週から、100 mg/kg 体重/日投与群では 800 mg/kg
17 体重/日に (以下「100/800 mg/kg 体重/日」という。)、また、200 mg/kg 体重/日投与群
18 では 1,600 mg/kg 体重/日に増量した (以下「200/1,600 mg/kg 体重/日」という。)

19 投与第 2 週の初めに、雌の全例に外陰部の腫脹 (swollen vulvae) がみられた。また、
20 雄の全例には精巣の小型化がみられた。

21 血液学的検査では、100/800 mg/kg 体重/日以上投与群で、雌雄ともに WBC の軽度から
22 高度の増加及びリンパ球の相対的な減少が示された。

23 血液生化学的検査では、200/1,600 mg/kg 体重/日投与群で、Hb 及び Ht の軽度の減
24 少並びに赤血球沈降速度の増加がみられた。

25 病理組織学的検査では、~~200/1,600 mg/kg 体重/日全~~投与群で、雌雄ともに乳管増殖
26 (mammary ductal proliferation) がみられ、雌では膾上皮の角化 (cornification of
27 vaginal epithelium) を伴う外陰部の腫脹 (vulval swelling) 及び卵巣萎縮 (ovarian
28 atrophy) が認められた。また、雄では精上皮 (seminiferous epithelium) 及び前立腺
29 の萎縮並びに尿道前立腺部 (prostatic urethra) の過形成又は扁平上皮化生 (squamous
30 metaplasia) がみられた。400 mg/kg 体重/日以上投与群では、骨髓細胞密度 (bone
31 marrow cellularity) 及び M/E (骨髓球系/赤芽球系) 比 (myeloid/erythroid ratio) の上
32 昇がみられた。(参照 11) [FAS23, p. 9-10 (Williams, 1982)]

¹⁶ 試験の詳細が不明であることから、参考資料とした。

¹⁷ 参照 11 では投与経路が確認できなかったが、参照 12 に基づいて記載した。

¹⁸ 1 群当たりの匹数が少なく、対照群が設定されていないこと等から、参考資料とした。

【事務局より】

- ① 事務局案として、1群当たりの匹数が少なく、対照群が設定されていないこと等から参考資料としました。本試験の取扱いについて、ご確認をお願いします。
- ② 病理組織学的所見については、200/1,600 mg/kg 体重/日投与群における所見と解釈しました。ご確認をお願いします。

【小川専門委員】

- ① 参考資料に同意します。
- ② いずれの病理所見に対しても in males, in females と複数になっていますので、1群1匹であることから複数群と考えます。用量の特定は困難ですが、マクロ所見から、むしろ全例の可能性が高いと考えます。

【島田章則専門委員】

- ① 確認しました。
- ② どの投与群かについて特に記載がありませんが、文脈からは、全群に見られた変化の記載と推察されます (Beginning with ..., all females showed swollen vulvae. ...Microscopically, ..., vulval swelling with cornification of vaginal epithelium and...).その後で、「特に、400mg 群以上では、、が見られた」と記載されていると解釈しました。

【寺岡専門委員】

- ① 参考資料とすることに賛成です。
- ② FAS23 をみるかぎり、解釈されたとおりに思います。

【事務局】

病理組織学的所見については、全投与群における所見であると修正しました。(p.27,L24)

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11

(9) 14 週間亜急性毒性試験 (イヌ) <参考資料¹⁹>

イヌ (匹数不明、雌雄) に、ゼラノールを 14 週間経口カプセル投与 (0.25、1.25 又は 6.25 mg/kg 体重/日) し、亜急性毒性試験が実施された。0.25 mg/kg 体重/日投与群では、投与開始 31 日以降、投与量を 12.5 mg/kg 体重/日に増量した (以下「0.25/12.5 mg/kg 体重/日」という。)

雄の生殖器の小型化傾向及び子宮重量の増加傾向がみられた。

病理組織学的検査では、0.25/12.5 mg/kg 体重/日投与群の雄 1 例で、精子形成の停止 (arrest in spermatogenesis) 及び前立腺上皮の萎縮 (prostatic epithelial atrophy) がみられた。(参照 11) [FAS23, p.10 (Williams, 1982)]

【事務局より】

- ① 事務局案として、試験に使用された匹数が不明であり、対照群が設定されていないこと等から、参考資料としました。本試験の取扱いについて、ご確認をお願いします。
- ② 病理組織学的所見については、いずれの所見も 0.25/12.5 mg/kg 体重/日投与群の雄 1 例でみられたものと解釈しました。ご確認をお願いします。

【小川専門委員】

- ① 参考資料に同意します。
- ② 精子形成の停止及び前立腺上皮の萎縮は 0.25/12.5 mg/kg 体重/日投与群の雄 1 例と確認しました。

【島田章則専門委員】 (②について) 確認しました。

¹⁹ 試験に使用された匹数が不明であり、対照群が設定されていないこと等から、参考資料とした。

【寺岡専門委員】

- ① 参考資料にすべきと思います。
- ② 解釈されたとおりのと思います。

(10) 29 週間亜急性毒性試験 (イヌ) <参考資料²⁰>

イヌ (匹数不明、雌雄) に、ゼラノールを 29 週間混餌投与 (10、100 又は 1,000ppm) し、亜急性毒性試験が実施された。

1,000ppm 投与群では、雄 1 例に体重減少並びに雄 3 例に急速な赤血球沈降速度 (rapid sedimentation rates)、Hb の減少、WBC の増加及びリンパ球の減少がみられた。

病理組織学的検査では、1,000ppm 投与群において、精巣の萎縮、前立腺の扁平上皮化生 (squamous metaplasia)、子宮内膜過形成 (endometrial hyperplasia) 及び卵巣萎縮がみられた。骨髓細胞密度増加 (hypercellularity of the bone marrow) 及び膀胱粘膜の軽度の扁平上皮化生 (squamous metaplasia) もみられた。(参照 11) [FAS23, p. 10 (Williams, 1982)] 島田章則専門委員

【事務局より】

事務局案として、試験に使用された匹数が不明であり、対照群が設定されていないこと等から、参考資料としました。本試験の取扱いについて、ご確認をお願いします。

なお、100ppm 以下投与群の所見については記載がないことから、毒性所見はみられなかったものと考えられます。

<参考>

100ppm 以下投与群では毒性所見がなかったものと判断すると、NOAEL は 100ppm (2.5 mg/kg 体重/日又は 7.5 mg/kg 体重/日に相当^{*}) と設定できます。

※JECFA で用いられている換算値 (IPCS : EHC240) を用いて摂取量を推定。

動物種	最終体重 (kg)	摂餌量 (g/動物/日)	摂餌量 (g/kg 体重/日)
犬 (餌のタイプ: ドライ)	10	250	25
犬 (餌のタイプ: モイスト)	10	750	75

【小川専門委員】

- ・参考資料に同意します。
- ・(100ppm 以下投与群の所見について) 同意します。
- ・(<参考>NOAEL の設定について) 想定はされますが、設定は困難と思われま。

【島田章則専門委員】

- ・(本試験の取扱い及び 100ppm 以下投与群の所見について) 確認しました。
- ・「squamous metaplasia of the bladder」は「膀胱粘膜の」とした方がわかりやすいと思われま。

【寺岡専門委員】 参考資料にすべきです。

(11) 皮下投与による亜急性毒性試験 <参考資料²¹>

① 14 日間亜急性毒性試験 (ラット)

ラット (SD 系、雌雄、匹数不明) にゼラノールを 14 日間皮下投与 (0、2.25 又は 9.0 mg/kg 体重/日) し、亜急性毒性試験が実施された。

²⁰ 試験に使用された匹数が不明であり、対照群が設定されていないこと等から、参考資料とした。

²¹ 皮下投与で実施されていることことから、参考資料とした。

1 投与群では体重増加抑制がみられた。雄では、精巣 (gonads)、前立腺及び胸腺の相対
 2 重量が減少し、精嚢及び副腎の相対重量は増加した。雌では、卵巣 (gonads) 及び胸腺
 3 の相対重量が減少し、子宮及び副腎の相対重量が増加した。黄体数 (the number of
 4 corpora lutea) の有意な減少も認められた。(参照 11) [FAS23, p. 9 (IMC, 1980d)]

6 ② 150 日間亜急性毒性試験 (ラット)

7 幼若ラット (系統不明、雌 20 匹) にゼラノールのペレットを皮下移植投与 (12 mg/
 8 匹) し、投与 150 日後に検討された。対照群として 5 匹を用いた。

9 体重増加抑制、卵巣嚢胞、乳腺及び体の他の部位の減少、卵巣及び子宮重量の減少、
 10 黄体の欠如 (absence of corpora lutea) 並びに子宮粘膜の高度な扁平上皮化生
 11 (squamous metaplasia) が認められた。(参照 11) [FAS23, p. 9 (Huis in' t & Kroes,
 12 1974)]

6. 慢性毒性及び発がん性試験

(1) 104 週間慢性毒性/発がん性併合試験 (マウス)

16 マウス (CD1 系、雌雄各 50 匹/群) にゼラノールを 104 週間混餌投与 (0 (陰性対照)、
 17 0.15、1.5 及び 15ppm) し、慢性毒性/発がん性併合試験が実施された。なお、陽性対照
 18 群として、別のマウス (CD1 系、雌雄各 50 匹/群) にエストラジオール-17 β を 104 週
 19 間混餌投与 (2.5ppm) した。

20 病理組織学的検査を、試験期間中に死亡した全動物、陰性対照群、15ppm 投与群及び
 21 陽性対照群の全動物に対し実施し、他の全動物に対しては部分的病理組織学的検査 (対
 22 象器官・組織: 副腎、腎臓、肝臓、肺、乳腺、子宮、膣、子宮頸部、前立腺、精嚢、精
 23 巣、下垂体、皮膚及び肉眼的に観察された全ての腫瘤 (masses)) を実施した。

24 毒性所見を表 12 に示した。

25 死亡率は、投与群では陰性対照群に比べ僅かに高かったが、陽性対照群では明らかに
 26 上昇し、特に雌で顕著であった。

27 体重は、投与群の雄で投与開始 52 週後まで陰性対照群に比べてやや低値であったが、
 28 この影響は続く次の 52 週間において明確ではなかった。一方、陽性対照群の雄では試
 29 験期間を通じて有意な体重の低値を示した。また、投与群の雌では陰性対照群と同様の
 30 体重増加を示した。

31 摂餌量は、投与群の雌雄及び陽性対照群の雄は陰性対照群と同様であったが、陽性対
 32 照群の雌では投与開始 80 週以降は陰性対照群に比べて多かった。

33 血液学的検査では、投与群に試験期間を通じてパラメータの僅かな変化がみられた。
 34 陽性対照群では、雄で Hb 及び RBC が減少し、雌で白血球分画パターンの変化
 35 (differential white blood cell patterns) がみられた。

36 剖検では、15ppm 投与群で有意な変化が散見され、雄では下垂体の増大腫大 (pituitary
 37 enlargement) 及び精嚢の拡張 (dilation) が、雌では脱毛症の発生頻度の増加がみられ
 38 た。これらの所見の発生頻度は、陽性対照群において顕著に増加した。島田章則専門委員

39 病理組織学的検査では、15ppm 投与群の雌雄に副腎の褐色変性 (brown degeneration)
 40 が、雄に顎下腺の雌型への転換 (conversion of the submaxillary salivary glands to the

1 female type)、胸骨の骨梁形成 (trabeculation) 及び精囊の拡張 (dilation) がみられた。
 2 これらのエストロゲン様作用は、陽性対照群における作用と比較して非常に穏やかであ
 3 った。1.5ppm 投与群ではみられなかったが、0.15ppm 投与群では、雌の二次卵胞が欠
 4 如し黄体を伴う卵巢 (ovaries with corpora lutea present and no secondary follicles)
 5 及び雄の精囊の拡張 (dilatation ※ここより前は dilation) の発生頻度が、対照群と比
 6 較して有意に減少した。しかしながら、これらの作用は、(1) 卵巢に対する作用に用量依
 7 存性がなく、(2) 精囊の拡張 (dilatation) は老齢動物において一般的によくみられるも
 8 のであり、また、投与群の動物における発生頻度の低さはおそらく、投与群の陰性対照
 9 群の平均生存期間がより長かったことと比較してより長い平均生存期間によるものと考
 10 えられることから、真のホルモン作用とはみなされなかった。小川専門委員 15ppm 投与
 11 群で観察された他の有意な影響は、雌における子宮頸管及び膺上皮の粘液産生 (mucous
 12 cervical and vaginal epithelium) の増加 (15ppm 投与群：陰性対照群：陽性対照群＝
 13 20/46：10/48：0/47) 並びに雄における副腎の被膜下細胞過形成 (subcapsular
 14 hyperplasia) の増加 (15ppm 投与群：陰性対照群＝30/49：16/50) であった。

15 本試験におけるゼラノールの腫瘍原性作用 (tumourogenic effect) は、15ppm 群にお
 16 ける雄の下垂体のみでみられた。本試験で認められた下垂体前葉腺腫 (anterior lobe
 17 adenomas) 並びに前葉における過形成及び腫瘍 (hyperplasia plus tumours in the
 18 anterior lobe) の発生頻度を表 13 に示した。

19 これらの腫瘍が、マウスで自然発生するのは稀である。しかしながら、Gardner (1941、
 20 1948) は、下垂体の腫瘍性変化 (neoplasia) は、ある系統のマウスへのエストロゲン投
 21 与と関連があり、エストロゲン様ホルモンの投与の結果生じたホルモンバランスの均衡
 22 が崩れたことと関連があると考えられることを報告している。

23 陽性対照群では、投与群よりも高度なエストロゲン様作用が観察された。これらの作
 24 用には、副腎における褐色変性 (brown degeneration)、胸骨における骨梁形成
 25 (trabeculation) の増加、雄の顎下腺の雌型への変換 (conversion of male submaxillary
 26 salivary glands to the female type)、精囊の収縮 (shrinkage)、卵巢における二次卵胞
 27 及び黄体の欠乏 (scarcity)、子宮の炎症、子宮内膜症及び硝子化 (hyalinization)、子宮
 28 頸部腺症 (cervical adenosis)、膺上皮の角化 (vaginal epithelial keratinization) 並び
 29 に乳腺の発達が含まれていた。陽性対照群の腫瘍原性作用 (tumourogenic effect) には、
 30 雄における下垂体前葉腺腫 (anterior lobe tumours of the pituitary gland) 及び精巣間
 31 細胞腫 (testicular interstitial cell tumours)、並びに雌における転移性腺癌
 32 (metastasizing adenocarcinomas) を伴う乳腺癌 (mammary gland carcinomas) が
 33 含まれていた。(参照 5、11) [FDA: NADA_RALGRO®, 1989 p.14-15 C.2.b. (Everett et al.,
 34 1987)] [FAS23, p.1-2 (Everett et al., 1987a)]

35
 36 JECFA は、15ppm 投与群の雄において、エストロゲン様作用がみられるとともに、
 37 エストロゲン様ホルモンの投与の結果生じることが知られている下垂体前葉腺腫
 38 (anterior lobe adenomas) の発生率が高かったことから、ゼラノールの発がん作用
 39 (carcinogenic effect) はエストロゲン様作用と関連しており、腫瘍に関連したホルモン
 40 作用としての無作用量 (no-hormonal-effect level for tumours) を決定することによっ

て、ばく露の安全レベル (safe levels of exposure) を推定することが可能であると結論付けた。なお、本試験において、NOAEL 等を設定していない。(参照 11) [FAS23, p. 12-13 COMMENTS]

FDA は、15ppm 投与群の雄において下垂体前葉腺腫 (anterior lobe pituitary adenomas) を含むエストロゲン様作用による病理組織学的変化がみられたが、15ppm 投与群ではホルモン作用以外の統計的に有意な変化はみられなかったとした。また、0.15 及び 1.5ppm 投与群の雌では黄体を伴う卵巣 (ovarian corpora lutea) の発生頻度の増加にしたが、一貫性があるものではなく、また、雄では精囊の拡張 (dilatation) の発生頻度低下がみられたが、老齢動物において一般的なものであり、対照群で生存期間が延長したことが影響していることから、15ppm を下回る濃度では、ゼラノールのホルモン作用はみられなかったとした。[小川専門委員]

FDA は、本試験において、ゼラノールの混餌投与により、ゼラノールがホルモン活性に起因する以外の統計的に有意な (significant) 影響を有するという証拠は得られず、また、15ppm を下回る濃度でゼラノールのホルモン作用がみられるという証拠は得られなかったことから、本試験における NOEL を 1.5ppm (約 0.225 mg/kg 体重/日) と設定した。(参照 5) [FDA; NADA_RALGRO®, 1989 p. 14-15 C. 2. b. (Everett et al., 1987)]

食品安全委員会動物用医薬品専門調査会は、本試験において、15ppm 投与群の雄で副腎の被膜下細胞過形成 (subcapsular hyperplasia) の増加等、雌で子宮頸管及び膈上皮の粘液産生 (mucous cervical and vaginal epithelium) の増加等がみられたことから、NOAEL を 1.5ppm (0.23 mg/kg 体重/日に相当²²) と設定した。本試験における発がん性は、15ppm 投与群の雄の下垂体のみでみられた。

表 12 マウスを用いた 104 週間慢性毒性/発がん性併合試験における毒性所見 (非腫瘍性病変)

投与量 (ppm)	雄	雌
15	<ul style="list-style-type: none"> 下垂体の増大腫大、精囊の拡張 副腎の褐色変性、顎下腺の雌型への転換、胸骨の骨梁形成 副腎の被膜下細胞過形成の増加 	<ul style="list-style-type: none"> 脱毛症 副腎の褐色変性 子宮頸管及び膈上皮の粘液産生の増加
1.5 以下	毒性所見なし	毒性所見なし

²² JECFA で用いられている換算値 (IPCS : EHC240) を用いて摂取量を推定。

動物種	最終体重 (kg)	摂餌量 (g/動物/日)	摂餌量 (g/kg 体重/日)
Mouse	0.02	3	150

表 13 マウスを用いた 104 週間慢性毒性/発がん性併合試験における
下垂体の過形成及び腫瘍の発生頻度

所見	陰性対照	ゼラノール混餌濃度 (ppm)			陽性対照
		0.15	1.5	15	
下垂体前葉腺腫	1	0	0	8	28
前葉における過形成+腫瘍	1	2	2	12	33

n=100 陽性対照：エストラジオール-17 β を混餌投与 (2.5ppm)

【事務局より】

- ① Report No.等から、JECFA と FDA の評価書 (参照 5、11) は、同一の試験の評価を記載していると判断しています。試験の概要は、主に JECFA 評価書の内容を基に記載していますが、FDA 評価書とは一部異なる点 (「黄体を伴う卵巣 (ovarian corpora lutea) の発生頻度」について、JECFA 評価書では「0.15ppm 投与群で有意に減少」、FDA 評価書では「0.15 及び 1.5ppm 投与群で増加」) がありますので、記載が妥当か、ご確認をお願いします。
- ② 事務局案として、表 12 に記載のとおり投与期間中にみられなくなった所見等を毒性所見から外し、NOAEL を 1.5ppm (0.225 mg/kg 体重/日に相当) と設定しました。
なお、FDA は、15ppm でホルモン作用 (下垂体前葉腺腫) 以外の影響がみられず、15ppm を下回る濃度ではホルモン作用がみられなかったことから、NOEL を 1.5ppm (約 0.225 mg/kg 体重/日) としています。ご確認をお願いします。
- ③ NOAEL の根拠とした所見については「雄で副腎の被膜下細胞過形成の増加等、雌で子宮頸管及び膈上皮の粘液産生の増加等」とまとめていますが、特記する内容について、ご確認をお願いします。
- ④ 表の記載については、以下のとおりとしています。併せてご確認をお願いします。
 - ・死亡率については、投与群で陰性対照群に比べ僅かに高かったとされたが詳細は不明であり、毒性所見として記載せず。
 - ・体重については、雄の投与群で陰性対照群に比べてやや低値であったが投与後半で明確でなくなったため、毒性所見として記載せず。
 - ・血液学的検査については、投与群でパラメータの僅かな変化があったとされたが詳細は不明であり、毒性所見として記載せず。
 - ・0.15ppm 投与群でみられた「雌の二次卵胞が欠如し黄体を伴う卵巣及び雄の精嚢拡張の発生頻度の減少」については、資料に記載のとおり用量依存性がなく老齢動物によくみられるものであることから、毒性所見として記載せず。一方、雄の精嚢拡張 (の発生増加) については 15ppm 投与群の所見として記載。
- ⑤ NOAEL の値については、IPCS : EHC240 の Mouse の値を用いて換算しています。ご確認をお願いします。
なお、JECFA 及び FDA 評価書 (参照 5、11) においても同じ換算値が使われています (FDA p.15 「1.5ppm in the diet (approximately 0.225 mg zeranol/kg body weight/day)」、JECFA p.13 「15ppm in the diet (equivalent to 2.25 mg/kg b.w./day)」)。

【小川専門委員】

- ① (「黄体を伴う卵巣の発生頻度」について) 「黄体を伴う卵巣の発生頻度の増加に一貫性がなく、」と考えます。いずれにしても、15ppm での記載が無く、投与によるホルモンの影響としての評価が困難と考えます。
- ② ④にありますように、詳細が不明ですが、投与群の死亡率の増加、52 週までの雄の体重増加抑制をどのように考えるか、議論が必要と考えます。

【島田章則専門委員】

- ① (JECFA 評価書では) ホルモン作用としては判定していない (加齢性変化等?)。

(FDA 評価書では) 一定した変化ではなく誤差の範囲、所見とはとらえない。

② 確認しました。

- ・ 「enlargement」は「増大」(腫大: swelling)

【寺岡専門委員】

① 再現性がないということを言っているのではないのでしょうか？

同一試験について異なる記述と思われる以上は記載すべきでないと思います。

② (NOAEL 案について) 事務局案に賛成いたします。

1

2 (2) 1年間慢性毒性試験(ラット) <参考資料²³>

3 ラット(系統不明、雌雄各 25~35 匹/群)に、ゼラノールを1年間混餌投与(0、0.1、
4 0.8 又は 6.4 mg/kg 体重/日)し、慢性毒性試験が実施された。0.1 mg/kg 体重/日投与群
5 では、試験開始第 36 週から、投与量を 20 mg/kg 体重/日に増量した(以下「0.1/20 mg/kg
6 体重/日」という。)

7 全ての投与群で体重増加抑制がみられた。0.1/20 mg/kg 体重/日投与群では、Hb の減
8 少、血小板数の増加、プロトロンビン時間の延長、前立腺、卵巣及び精嚢の絶対及び相
9 対重量の減少並びに子宮及び脳下垂体の絶対及び相対重量の増加がみられた。肝細胞グ
10 リコーゲン枯渇 (hepatic cell glycogen depletion) 及び肝細胞大小不同 (irregularity in
11 hepatic cell size) は雄のみで観察された。この群では、ネフロンの退行性変化 (nephron
12 degenerative changes)、卵巣、精嚢及び前立腺の軽度~中程度の萎縮、成熟精子数の軽
13 度の減少、骨髓細胞密度減少 (hypocellularity of the bone marrow) の事例もみられた。
14 本試験期間中の死亡動物の肝臓には著しい退行性変化 (degenerative changes) がみら
15 れた。(参照 11) [FAS23, p. 10 (Williams, 1982)]

16

【事務局より】

事務局案として、試験に使用されたラットの系統が不明であり、投与期間中に用量が変更され
たために実際の投与量が不明であることから、参考資料としました。本試験の取扱いについて、ご
確認をお願いします。

【小川専門委員】

下垂体の病理組織所見等が不明瞭で、NOAEL の設定は困難であり、参考資料とすることに異
存ありませんが、全ての投与群で体重増加抑制が見られていることも考慮が必要かもしれません。

【島田章則専門委員】確認しました。

【寺岡専門委員】参考資料でよいと思います。

17

18 FDA が ADI を設定する根拠となった試験

19 (3) 104 週間慢性毒性/発がん性併合試験(ラット)

20 ラット(SD 系、雌雄各 50 匹/群)にゼラノールを 104 週間混餌投与(0(陰性対照)、
21 0.25、2.5 又は 25ppm)し、慢性毒性/発がん性併合試験が実施された。なお、混餌投与
22 陽性対照群として、別に 2 群(雌雄各 25 匹/群)を設定し、エストラジオール-17β を 104
23 週間混餌投与(2.5ppm)、又は試験開始 8 週間後まで 25ppm、毒性が発現したためそれ以

²³ 試験に使用されたラットの系統が不明であり、投与期間中に用量が変更されたために実際の投与量が不明であることから、参考資料とした。

1 降は 2.5ppm に減量して混餌投与した。さらに、別の 1 群（雌 25 匹）を移植投与陽性
2 対照群として設定し、試験開始時にエストラジオール-17β を皮下移植投与（約 15 mg/
3 匹）した。

4 血液学的検査、臨床化学的検査及び尿検査を投与開始 103 週後に各群雌雄各 15 匹に
5 実施した。投与 104 週（最終投与）後には全生存動物を剖検に用いた。病理組織学的検
6 査を、陰性対照群、25ppm 投与群及び陽性対照群の全動物に実施し、他の全動物に対し
7 ては部分的病理組織学検査（対象器官・組織：副腎、子宮頸部、卵巣、下垂体、前立腺、
8 精囊、精巣、皮膚、腎臓、肝臓、肺、乳腺及び腫瘤（masses））を実施した。試験期間中
9 の死亡動物は剖検し、病理組織学的検査を実施した。

10 毒性所見を表 14 に示した。

11 生存率は、陰性対照群と投与群では同様であった。混餌投与陽性対照群では、投与群
12 より低かったが、死亡例の大部分は投与開始 80 週以降に生じた。移植投与陽性対照群
13 では、死亡例は投与開始 20 週以降に生じ、試験 44 週において生存例はなかった。投与
14 群において共通の死亡原因は示されなかったが、陽性対照群では陰性対照群に比べて腫
15 大化増大した下垂体（enlarged pituitaries）の発生がより高頻度であった。島田章則専門

16 委員

17 体重は、25ppm 投与群の雄で投与開始 52 週後まで陰性対照群に比較して軽度の増加
18 抑制がみられたが、その後の試験期間においては陰性対照群と同程度となった。
19 0.25ppm 投与群の雄並びに 0.25 及び 2.5ppm 投与群の雌において、軽度の減少がみら
20 れた。25ppm 投与群の雌では、減少が観察された投与開始後最初の 90 日間を除き、陰
21 性対照群と同程度の増加量を示した。一方、陽性対照群では顕著な減少を示し、移植投
22 与陽性対照群の雌で最大の減少がみられた。

23 摂餌量は、陰性対照群と投与群とで同様であった。陽性対照群で多少の減少がみられ
24 た。

25 血液学的検査では、0.25ppm 投与群の雌で赤血球パラメータ（Hb、RBC 及び Ht
26 (packed cell volume)）及び WBC が陰性対照群と比較して統計的に有意に増加したが、
27 他の全ての投与群では陰性対照群と同様の結果が得られ、有意な用量依存性はみられな
28 かった。混餌投与陽性対照群の雌では WBC の増加を示し、移植投与陽性対照群では赤
29 血球パラメータの減少及び好中球数の増加を示した。

30 臨床化学的検査及び尿検査では、群間の有意な差はみられなかった。

31 臓器重量では、投与群の雄と陰性対照群の雄との間に有意差はみられなかった。
32 25ppm 投与群の雌の子宮重量は見かけ上明らかに（apparent）増加したが、この群の卵
33 巣重量には大きなばらつきがあったため、統計的な有意差はみられなかった。小川専門委
34 員混餌投与陽性対照群では、陰性対照群と比較して、雄の腎臓重量の有意な減少及び雌
35 の卵巣の絶対重量の減少がみられた。

【小川専門委員】

（「統計的な有意差」の記載について）こちらは卵巣重量に係ると考えました。

36 病理組織学的検査では、投与群に投与による腫瘍の増加はみられなかった。雌の非腫
37 瘍性病変として、25ppm 投与群で子宮の拡張（dilatation）の増加及び黄体嚢胞（luteal
38

1 **cysts** の減少が、2.5ppm 以上投与群で子宮頸部の重層扁平上皮細胞 (**stratified**
2 **squamous epithelial cells**) の増加がみられた。2.5ppm 投与群では、乳腺過形成
3 (**mammary hyperplasia**) の増加がみられたが、年齢補正分析を実施すると統計的に有
4 意ではなかった。0.25ppm 投与群の雌では、陰性対照群に比べて腎尿細管上皮のヘモジ
5 デリン沈着症 (**kidney tubular epithelial haemosiderosis**) がより高頻度にみられたが、
6 投与による影響とは考えられなかった。

7 また、陽性対照群の雌の全例で、卵巣、子宮 (扁平上皮化生 (**squamous metaplasia**)
8 及び上皮の異形成 (**epithelial dysplasia**)を含む)、膣及び子宮頸部並びに乳腺で高度な
9 エストロゲン様作用を呈した。投与による影響は脾臓、胸骨、胃、腎臓及び肺でも報告
10 された。陽性対照群の雄では、投与による影響は肝臓、膵臓、乳腺、心臓、精巣、腎臓
11 及び脾臓で観察された。移植投与陽性対照群における病理組織学的変化は、混餌投与陽
12 性対照群における変化より重篤であった。移植投与陽性対照群の動物では、陰性対照群
13 に比べて下垂体腺腫 (**pituitary adenomas**) (タイプ3) の明らかな増加がみられた。(参
14 照 5、11) [FDA: NADA_RALGRO®, 1989 p.12-13 C.2.a. (Everett et al., 1987)] [FAS23, p.2-3
15 (Everett et al., 1987b)]

16
17 FDA は、本試験において、ゼラノールの混餌投与により、腫瘍性変化 (**neoplastic**
18 **change**) の証拠及び毒性の明確な証拠は得られなかったとした。エストロゲン様作用に
19 ついては 25ppm 投与群の雌にみられ、2.5ppm 投与群の雌では境界領域の変化
20 (**marginal**) であったことから、本試験における NOEL を 2.5ppm (約 0.125 mg/kg 体
21 重/日) と設定し、本試験の結果を基に ADI を設定した。(参照 5) [FDA: NADA_RALGRO®,
22 1989 p.12-13 C.2.a. (Everett et al., 1987)]

23
24 食品安全委員会動物用医薬品専門調査会は、本試験において、雄では全投与群で投与
25 による影響がみられず、雌の 2.5ppm 投与群でみられたエストロゲン様作用は境界領域
26 の変化 (**marginal**) であり、25ppm 投与群で子宮の拡張及び黄体嚢胞の減少がみられた
27 ことから、雄の NOAEL を最高用量の 25ppm (1.3 mg/kg 体重/日に相当²⁴)、雌の
28 NOAEL を 2.5ppm (0.13 mg/kg 体重/日に相当²⁴) と設定した。発がん性はみられなか
29 った。

30
31 表 14 ラットを用いた 104 週間慢性毒性/発がん性併合試験における
32 毒性所見 (非腫瘍性病変)

投与量 (ppm)	雄	雌
25	(25ppm 以下)	・子宮の拡張、黄体嚢胞の減少
2.5 以下	毒性所見なし	毒性所見なし ^a

²⁴ JECFA で用いられている換算値 (IPCS : EHC240) を用いて摂取量を推定。

動物種	最終体重 (kg)	摂餌量 (g/動物/日)	摂餌量 (g/kg 体重/日)
Rat(old)	0.40	20	50

- 1 a : FDA は、2.5ppm 投与群の雌でみられた影響については、境界領域の変化 (marginal) である
 2 とした。(参照 5) [FDA: NADA_RALGRO®, 1989 p. 13]
 3

【事務局より】

- ① Report No.等から、JECFA と FDA の評価書 (参照 5、11) は、同一の試験の評価を記載していると判断しています。試験の概要は、JECFA 評価書の記載をベースに FDA 評価書の内容を記載していますが、一部異なる点 (FDA 評価書にのみ「Ht (packed cell volume) 増加」「黄体嚢胞の減少」の記述あり) がありますので、記載が妥当か、ご確認をお願いします。
- ② 事務局案として、表 14 に記載のとおり用量依存性が認められない所見や統計学的有意差がないとされた所見を毒性所見から外し、2.5ppm 投与群の雌におけるエストロゲン様作用は境界領域の変化 (marginal) であったことから雌の NOAEL を 2.5ppm と設定しました。ご確認をお願いします。
- ③ 表の記載は、以下のとおりとしています。併せてご確認をお願いします。
- ・体重増加抑制は、雌雄ともに 25ppm 投与群で一貫性が認められず、雄では用量依存性もないため、毒性所見として記載せず。
 - ・0.25ppm 投与群の雌でみられた血液学的検査の所見 (Hb,RBC,Ht,WBC の増加) は、2.5ppm 以上投与群の雌では認められなかったことから、毒性所見として記載せず。
- ④ NOAEL の値については、IPCS : EHC240 の Rat(old)の値を用いて換算しています。なお、FDA 評価書 (参照 5) においても同じ換算値が使われています。ご確認をお願いします。

【小川専門委員】

(③の体重増加抑制について) それぞれ 52 週まで 90 日までではありますが、25ppm では有意な体重増加抑制について検討が必要と考えます。

【島田章則専門委員】 (①について) 確認しました。

【寺岡専門委員】

- ① 原著で確認できないとすれば、矛盾している箇所は記載すべきではないと思います。
- ② バックグランドとの差がなかったということだと思います。有意差がないわけですので、境界領域といえますか、そもそも影響がないとみるべきです。ご提案どおりの NOAEL に賛成です。

4
 5 (4) 104~105 週間慢性毒性試験 (ラット) <参考資料²⁵>

6 ラット (CD 系、雌雄各 25 匹/群) に、ゼラノールを 104~105 週間混餌投与 (0、0.1、
 7 0.8 又は 6.4 mg/kg 体重/日) し、慢性毒性試験が実施された。0.1 mg/kg 体重/日投与群
 8 では、試験開始第 28 週から投与量を 20 mg/kg 体重/日に増量した (以下「0.1/20 mg/kg
 9 体重/日」という。)

10 6.4 及び 0.1/20 mg/kg 体重/日投与群の全例で体重増加抑制がみられた。また、6.4 及
 11 び 0.1/20 mg/kg 体重/日投与群で極めて高頻度で脱毛がみられ、6.4 mg/kg 体重/日投与
 12 群の 1 例及び 0.1/20 mg/kg 体重/日投与群の 4 例では、試験の最終四半期中に白内障
 13 (cataracts) が発現した。

14 血液学的検査では、0.1/20 mg/kg 体重/日投与群で Hb 及び Ht が減少し、この変化は
 15 雄よりも雌で顕著であった。

16 臓器重量では、0.1/20 mg/kg 体重/日投与群で、精嚢、精巣、卵巣及び前立腺の絶対重

²⁵ 投与期間中に用量が変更されたために実際の投与量が不明であることから、参考資料とした。

1 量がより低値であった。剖検におけるこれらの所見は老齢動物で一般的にみられるもの
2 であった。

3 病理組織学的検査では、投与群の全例で、肝臓、卵巣、子宮、精巣、前立腺及び精囊
4 に変化がみられた。肝臓における変化には、肝細胞の減少 (hepatic cell depletion)、肝
5 細胞大小不同 (irregularity in hepatic cell size)、実質細胞の空胞化 (parenchymal cell
6 vacuolation)、慢性炎症性細胞浸潤及び低頻度にみられる結節性過形成 (occasional
7 instances of nodular hyperplasia) が含まれた。卵巣、前立腺、精囊及び精巣では、軽
8 度～中程度の萎縮が認められた。子宮では、子宮内膜炎 (endometritis)、扁平上皮化生
9 (squamous metaplasia) 及び子宮内膜の嚢胞性過形成 (cystic hyperplasia) がみられ
10 た。(参照 11) [FAS23, p. 10-11 (Woodard, 1968)]
11

【事務局より】

- ① 事務局案として、投与期間中に用量が変更されたために実際の投与量が不明であることから、参考資料としました。本試験の取扱いについて、ご確認をお願いします。
- ② 極めて高頻度で脱毛がみられた「in the two highest dose groups」については、直前に記載がある体重増加抑制がみられた投与群と同様、「6.4 及び 0.1/20 mg/kg 体重/日投与群」と判断しています。ご確認をお願いします。

【小川専門委員】

- ① 参考資料としても異存ありませんが、病理所見が投与群の全例で見られているとあり、統計的な詳細が不明です。
- ② 確認しました。

【島田章則専門委員】(②について) 確認しました。

【寺岡専門委員】

- ① 参考資料でよいと思います。
- ② ご判断に賛成です。

12 (5) 1年間慢性毒性試験(イヌ) <参考資料²⁶>

13 イヌ(匹数不明、雌雄)に、ゼラノールを1年間混餌投与(0.025、2.5又は25 mg/kg
14 体重/日)し、慢性毒性試験が実施された。

15 2.5 mg/kg 体重/日投与群において、軽度の精巣の萎縮、中等度の前立腺の萎縮及び扁
16 平上皮化生 (squamous metaplasia) が認められた。25 mg/kg 体重/日投与群でみられ
17 た投与による変化は、血小板の増加、リンパ球の減少、急速な赤血球沈降速度 (rapid
18 sedimentation rates)、WBC の増加及び膀胱上皮の高度の角化 (cornification) が含まれ
19 ていた。試験終了時の剖検及び病理組織学的検査では、25 mg/kg 体重/日投与群におい
20 て、生殖腺の高度の萎縮、前立腺及び子宮における扁平上皮化生 (squamous metaplasia)
21 及び炎症性変化、膀胱上皮 (urinary bladder epithelium) の扁平上皮化生 (squamous
22 metaplasia)、骨髄における骨髄細胞 (myeloid elements) の明らかな増加及び子宮内膜
23 過形成 (endometrial hyperplasia) であった。(参照 11) [FAS23, p. 11 (Williams, 1982)]
24
25

【事務局より】

²⁶ 試験に使用された匹数が不明であり、対照群が設定されていないこと等から、参考資料とした。

事務局案として、試験に使用された匹数が不明であり、対照群が設定されていないこと等から、参考資料としました。本試験の取扱いについて、ご確認をお願いします。

【小川専門委員】参考資料として異存ありません。

【島田章則専門委員】確認しました。

【寺岡専門委員】参考資料でよいと思います。

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31

(6) 104 週間慢性毒性試験 (イヌ)

イヌ (ビーグル種、雌雄各 4 匹/群) にゼラノールを 104 週間混餌投与 (0、1、100 又は 1,000ppm) し、慢性毒性試験が実施された。

毒性所見を表 15 に示した。

体重は、全ての投与群の雄で、対照群に比べて軽度に高値を示した。

観察された変化の大部分は、1,000ppm 投与群でみられた。血液学的検査では、急速な赤血球沈降速度 (rapid sedimentation rates)、WBC の増加及びリンパ球の減少がみられた。

臓器重量では、1,000ppm 投与群において、雄に前立腺及び下垂体の相対重量の増加並びに生殖腺の相対重量の減少が、雌に子宮の相対重量の増加がみられ、雌雄ともに肝臓、腎臓、副腎及び甲状腺の相対重量の増加がみられた。

剖検では、1,000ppm 投与群において、乳腺の増大腫大 (enlarged...)、精巣の小型化、包皮の浮腫 (edematous prepuces) 並びに外陰部、前立腺及び子宮の増大腫大 (enlarged...) が観察された。島田章則専門委員

病理組織学的検査では、1,000ppm 投与群において、生殖腺、特に嚢胞の減少を伴う卵巣の高度の萎縮、子宮及び前立腺における扁平上皮化生 (squamous metaplasia) 及び炎症性変化、並びに膀胱の慢性炎症性変化が観察された。100ppm 投与群の雄 2 例及び雌 1 例で、様々な程度の骨髄過形成 (myeloid hyperplasia) がみられ、また、雄 1 例では、骨髄の高度の萎縮を示した。(参照 5、11) [FDA; NADA_RALGRO®, 1989 p. 3-4 A. 2. (Woodard, 1968)] [FAS23, p. 11 (Woodard, 1968)]

FDA は、~~毒性がない最高用量 (largest nontoxic dosage) は 2.5 mg/kg 体重/日であり、~~外陰部の腫脹 (vulvar swelling) や体重増加のようなホルモン作用は毒性影響とは考えないことから、毒性がみられなかった用量 (no effect dosage) は 100ppm (約 2.5 mg/kg 体重/日) であったとした。(参照 5) [FDA; NADA_RALGRO®, 1989 p. 3-4] 寺岡専門委員

食品安全委員会動物用医薬品専門調査会は、本試験において、1,000ppm 投与群で嚢胞の減少を伴う卵巣の高度の萎縮、子宮及び前立腺における扁平上皮化生及び炎症性変化、並びに膀胱の慢性炎症性変化等骨髄過形成及び骨髄の萎縮がみられたことから、NOAEL を 100ppm (0.025 mg/kg 体重/日に相当²⁷⁾) と設定した。事務局

²⁷ JECFA で用いられている換算値 (IPCS : EHC240) を用いて摂取量を推定。

動物種	最終体重 (kg)	摂餌量 (g/動物/日)	摂餌量 (g/kg 体重/日)
Dog (餌のタイプ: ドライ)	10	250	25

1
2

表 15 イヌを用いた 104 週間慢性毒性試験における毒性所見

投与量 (ppm)	雄	雌
1,000	<ul style="list-style-type: none"> 急速な赤血球沈降速度、WBC の増加及びリンパ球の減少 前立腺、下垂体、肝臓、腎臓、副腎及び甲状腺の相対重量の増加、生殖腺の相対重量の減少 精巣の小型化、包皮の浮腫、前立腺の増大腫大 島田章則専門委員 前立腺における扁平上皮化生及び炎症性変化、膀胱の慢性炎症性変化 	<ul style="list-style-type: none"> 急速な赤血球沈降速度、WBC の増加及びリンパ球の減少 子宮、肝臓、腎臓、副腎及び甲状腺の相対重量の増加 乳腺、外陰部及び子宮の増大腫大 島田章則専門委員 嚢胞の減少を伴う卵巣の高度の萎縮、子宮における扁平上皮化生及び炎症性変化、膀胱の慢性炎症性変化
100 以上	←骨髄過形成及び骨髄の萎縮	←骨髄過形成 事務局
100 以下	毒性所見なし	毒性所見なし

3

<p>【事務局より】</p> <p>① 事務局案として、NOAEL を設定しています。なお、FDA 評価書 (参照 5) では NOEL を 100ppm とされていますが、詳細な所見内容が記載されていないことから、JECFA 評価書 (参照 11) に記載がある毒性所見の内容に基づき、NOAEL を 1ppm (0.025 mg/kg 体重/日に相当) と判断しています。ご確認をお願いします</p> <p>② また、NOAEL の値については、IPCS : EHC240 の Dog の値を用いて換算しており、餌のタイプが不明のため、NOAEL が小さくなる「ドライ」の方の値を用いて算出しています。なお、FDA 評価書でも同じ換算値が使われています (p.3 「100ppm (approximately 2.5 mg/kg/day)」。ご確認をお願いします。</p> <p>③ 表の記載は、以下のとおりとしています。併せてご確認をお願いします。</p> <ul style="list-style-type: none"> 全投与群の雄でみられた体重の軽度な高値は、毒性所見として記載せず (毒性所見とする場合は、1ppm を LOAEL とする案になります)。 血液学的検査の所見は、1,000ppm 投与群の雌雄両方に記載。 剖検及び病理組織学的検査の所見は 1,000ppm 投与群でみられたものと判断し、雌雄に書き分け。膀胱の慢性炎症性変化は雌雄両方に記載。 <p>【小川専門委員】</p> <ul style="list-style-type: none"> (「骨髄過形成及び骨髄の萎縮」について) 1000 で見られているか不明です。 (③の「体重の軽度な高値」について) 程度が不明で毒性とは判断しにくいと考えます。 <p>【島田章則専門委員】 (①について) 確認しました。</p> <p>【寺岡専門委員】 (①の NOAEL 案について) 事務局案に賛成いたします。</p> <hr/> <p>【事務局】</p> <p>「骨髄過形成及び骨髄の萎縮」については、1,000ppm 投与群でみられたかが不明なため、毒性所見からは外し、NOAEL 案についても修正しました。(p.39,L28-31)</p>
--

4
5
6

(7) 7 年間慢性毒性試験 (イヌ)

イヌ (ビーグル種、雌 16 匹/群) に、ゼラノールを循環法 (cyclic manner) (21 日間

Dog (餌のタイプ: モイスト)	10	750	75
-------------------	----	-----	----

1 の連続投与後 7 日間の休薬を 1 サイクルとする) により 7 年間 (91 サイクル) 経口カ
2 プセル投与 (0、15 又は 38 mg/kg 体重/日) し、慢性毒性試験が実施された。

3 毒性所見を表 16 に示した。

4 試験開始 3 年目に 15 及び 38 mg/kg 体重/日投与群で各 2 例が死亡し、試験開始 4 年
5 目に 15 mg/kg 体重/日投与群の 3 例が死亡又は瀕死状態のため安楽死処置された。これ
6 らの動物では、毒血症 (toxaemia) の臨床徴候及び化膿性子宮炎 (pyometritis) と関連
7 のある肉眼的病変がみられた。化膿性子宮炎 (pyometritis) による更なる死亡を防ぐた
8 め、全生存動物は試験開始 3~3.5 年時に子宮を摘出された。子宮摘出前には、投与群に
9 において食欲不振 (anorexia) 及び嗜眠 (lethargy) の発生頻度増加が認められた。

10 平均体重は、15 mg/kg 体重/日投与群では対照群に比べてやや低く、38 mg/kg 体重/
11 日投与群では対照群に比べて有意に低かった。

12 臓器重量では、試験開始 4 年の中間検査時に、15 mg/kg 体重/日投与群で副腎の絶対
13 及び相対重量の軽度だが一貫性のある減少がみられた。試験終了時には、全投与群で卵
14 巣の平均及び相対重量の有意な増加がみられた。

15 ゼラノールは子宮への作用 (uterotropic effect) が相対的に強く、剖検及び病理組織
16 学的検査では、全投与群で、膣、子宮頸部及び外陰部の粘膜の増殖及び角化
17 (cornification)、嚢胞性子宮内膜過形成 (cystic endometrial hyperplasia)、内性子宮
18 内膜症 (endometriosis interna) 及び化膿性子宮炎 (pyometritis) の著しい増加を引き
19 起こした。(参照 11) [FAS23, p. 11 (Hogan, 1981a)]

20
21 食品安全委員会動物用医薬品専門調査会は、本試験において、全投与群で卵巣の平均
22 及び相対重量の増加等がみられたことから、NOAEL を設定できず、LOAEL を 15 mg/kg
23 体重/日と設定した。

24
25 表 16 イヌを用いた 7 年間慢性毒性試験における毒性所見

投与量 (mg/kg 体重/日)	雌
38	・平均体重の低値
15 以上	・(死亡又は安楽死処置例における) 毒血症の臨床徴候及び化膿性子宮炎と関連のある肉眼的病変 ・(子宮摘出前の) 食欲不振及び嗜眠 ・卵巣の平均及び相対重量の増加 ・膣、子宮頸部及び外陰部の粘膜の増殖及び角化、嚢胞性子宮内膜過形成、内性子宮内膜症及び化膿性子宮炎の増加

26 【事務局より】

- ① 事務局案として、表 16 に記載のとおり用量依存性がない所見を毒性所見から外し、LOAEL を設定しています。ご確認をお願いします。
- ② LOAEL の根拠とした所見については「卵巣の平均及び相対重量の増加等」とまとめていますが、特記する内容について、ご確認をお願いします。
- ③ 表の記載は、以下のとおりとしています。併せてご確認をお願いします。
・死亡例又は安楽死処置例にみられた所見及び子宮摘出前の所見は、毒性所見として 15 mg/kg 体重/日以上投与群の項目に記載。

- ・平均体重の低値は、38 mg/kg 体重/日投与群の所見として記載。
- ・副腎の絶対及び相対重量の減少は、用量依存性が確認できないため、毒性所見として記載せず。
- ・剖検及び病理組織学的所見は、全用量でみられたものと判断。

【小川専門委員】(①について) 同意します。

【島田章則専門委員】(①について) 確認しました。

【寺岡専門委員】(①について) 賛成いたします。

1

2 (8) 10 年間慢性毒性試験 (サル)

3 性成熟後のサル (アカゲザル、雌 16 匹/群) に、ゼラノールを循環法 (cyclic manner)

4 (21 日間の連続投与後 7 日間の休薬を 1 サイクルとする) により 10 年間 (131 サイク
5 ル) 強制経口投与 (0(溶媒)、15 又は 75 mg/kg 体重/日、溶媒: エタノール及びメチル
6 セルロースの混合物) し、慢性毒性試験が実施された。投与 1 年後に 2 匹、2 及び 4 年
7 後に各 4 匹を中間検査に用いた。試験開始後最初の 9 か月間に投与とは関連のない原因
8 により 7 匹が死亡したことから、各群の動物数を維持するために、別の 7 匹を導入した。

9 毒性所見を表 17 に示した。

10 眼科的变化として、網膜の黄斑及び黄斑周辺部位 (perimacular regions) における両
11 側性脱色素巣 (bilateral hypopigmented foci)、黄斑の粒状の外観 (grainy appearance)
12 及び黄斑反射 (macular reflex) の減少又は欠落がみられた。13 触知可能な乳房の小結節 (palpable mammary nodules) 及び/又は腋窩リンパ節の腫
14 大増大 (enlarged axillary lymph nodes) が、数例に散見された。事務局 75 mg/kg 体重
15 /日投与群では、触知可能な子宮の腫瘤 (palpable uterine masses) が、対照群及び 15
16 mg/kg 体重/日投与群に比べて、極めて高い発生頻度で観察された。17 75 mg/kg 体重/日投与群で無月経の長期化がみられたが、これは、試験後期における
18 長期膣出血 (prolonged periods of vaginal bleeding) を引き起こすことに繋がった。19 体重は、投与群で対照群と比較して試験期間を通じて増加抑制がみられ、試験終了時
20 における雌の平均体重は、15 mg/kg 体重/日投与群で対照群に比べて 15% 低く、75
21 mg/kg 体重/日投与群で 25% 低かった。22 血液学的検査では、試験開始後最初の 1.5 年間に、投与群では対照群に比べて Hb、
23 Ht 及び RBC の一過性の低値がみられた。血液凝固時間 (measured clotting time) の
24 散発的延長が、試験期間を通じて認められた。その他の血液学的変化は、認められな
25 かった。26 血液生化学的検査では、血清中 ALT 活性 (SGPT) の散発的な上昇が 15 mg/kg 体重
27 /日投与群でみられ、75 mg/kg 体重/日投与群では一貫してより高い ALT 活性が観察さ
28 れた。類似のパターンは、TG 及び Chol にもみられた。29 臓器重量では、75 mg/kg 体重/日投与群で、対照群と比べて肝臓及び子宮の平均絶対
30 及び相対重量が一貫して高く、また、卵巣の平均絶対及び相対重量は常に低かった。同
31 様の所見は 15 mg/kg 体重/日投与群でもみられたが、その程度は 75 mg/kg 体重/日投
32 与群と比べて小さかった。試験終了時では、75 mg/kg 体重/日投与群の下垂体の平均相
33 対重量並びに副腎の平均絶対及び相対重量が、対照群に比べてより高かった。

34 剖検では、試験開始 1 及び 2 年後には、投与による変化は認められなかった。試験開

1 始4年後²⁸に、子宮内膜の増殖 (endometrial proliferation) の発生頻度及びその割合
 2 に用量依存的な増加がみられた。最終検査時 (試験開始10年後) における投与による変
 3 化として、子宮の増大腫大 (enlarged uteri) [事務局]、子宮内膜及び子宮筋層の肥厚
 4 (thickened endometrium and myometrium)、卵管の増大肥大 (enlarged oviducts) [島
 5 田章則専門委員]及び外性子宮内膜症 (endometriosis externa) がみられた。

6 病理組織学的検査では、試験開始1年後には、投与による変化は認められなかった。
 7 試験開始2年後に、75 mg/kg 体重/日投与群で、1例に良性の腺腫並びに相対的な乳腺
 8 腺房組織 (mammary acinar tissue) の増加及び管形成発達 (duct development) が認
 9 められた。試験開始4年後では、75 mg/kg 体重/日投与群において、発生頻度は低い
 10 が嚢胞性に拡張した腺 (cystically dilated glands) を伴う子宮内膜過形成 (endometrial
 11 hyperplasia) (4例全て)、成熟卵胞及び黄体の欠如 (absence of mature follicles and
 12 corpora lutea)、子宮頸管腺基底部 (basilar portions of cervical glands) の扁平上皮化
 13 生 (squamous metaplasia) を伴う頸部上皮 (cervical epithelium) の表在性萎縮
 14 (superficial atrophy) 並びに乳腺小葉の形成発達 (lobular development) の増加及び
 15 軽度な管上皮増殖 (ductular epithelial proliferation) がみられた。[島田章則専門委員]試験
 16 開始10年後の検査においては、75 mg/kg 体重/日投与群の大部分の動物では、膣にお
 17 ける上皮下結合組織 (subepithelial connective tissue) の硝子化 (hyalination)、子宮頸
 18 管腺基底部 (basilar portions of cervical glands) の扁平上皮化生 (squamous
 19 metaplasia)、卵巣の萎縮及び黄体の欠如 (absence of corpora lutea)、並びに乳腺にお
 20 ける高度の乳管及び腺房 (acinar) の過形成がみられた。75 mg/kg 体重/日投与群の全
 21 例及び15 mg/kg 体重/日投与群の3例で、嚢胞性子宮内膜過形成 (cystic endometrial
 22 hyperplasia)、子宮筋層肥大 (myometrial hypertrophy) 及び外性子宮内膜症
 23 (endometriosis externa) が認められた。対照群、15及び75 mg/kg 体重/日投与群に
 24 おける子宮/頸部の平滑筋腫 (leiomyomas) (子宮筋腫 (fibroids)) は、それぞれ12例
 25 中1例、7例中2例及び14例中2例にみられた。(参照11) [FAS23, p.11-12 (Hogan,
 26 1981b)]

27
 28 食品安全委員会動物用医薬品専門調査会は、本試験において、全投与群で体重増加抑
 29 制、外性子宮内膜症等がみられたことから、NOAELを設定できず、LOAELを15 mg/kg
 30 体重/日と設定した。

31
 32 表17 サルを用いた10年間慢性毒性試験における毒性所見

投与量 (mg/kg 体重/日)	雌
75	<ul style="list-style-type: none"> ・触知可能な子宮の腫瘤 ・無月経の長期化、長期膣出血 ・下垂体の平均相対重量並びに副腎の平均絶対及び相対重量の増加 ・良性の腺腫並びに相対的な乳腺腺房組織の増加及び管形成発達<2年後病理組織学的検査> [島田章則専門委員] ・嚢胞性に拡張した腺を伴う子宮内膜過形成、成熟卵胞及び黄体の欠如、子宮頸管腺基底部の扁平上皮化生を伴う頸部上皮の表在性萎縮、乳腺小葉

	<p>の形成発達、管上皮増殖<4年後病理組織学的検査>島田章則専門委員</p> <ul style="list-style-type: none"> ・腔における上皮結合組織の硝子化、子宮頸管腺基底部の扁平上皮化生、卵巣の萎縮及び黄体の欠如、乳腺における高度の乳管及び腺房の過形成<10年後病理組織学的検査>
15 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制 ・Hb、Ht 及び RBC の一過性の低値、血液凝固時間の散発的延長 ・血清中 ALT 活性 (SGPT)、TG 及び Chol の上昇 ・肝臓及び子宮の平均絶対及び相対重量の増加、卵巣の平均絶対及び相対重量の低下 ・嚢胞性子宮内膜過形成、子宮筋層肥大、外性子宮内膜症<10年後病理組織学的検査>
不明	<ul style="list-style-type: none"> ・網膜の黄斑、黄斑周辺部位における両側性脱色素巣、黄斑の粒状の外観、黄斑反射の減少又は欠落 ・触知可能な乳房の小結節及び/又は腋窩リンパ節の増大腫大島田章則専門委員 ・子宮内膜の増殖<4年後剖検²⁸> ・子宮の増大腫大、子宮内膜及び子宮筋層の肥厚、卵管の増大肥大、外性子宮内膜症<10年後剖検>事務局

1

【事務局より】

- ① 事務局案として、眼科的变化及び一部の剖検における所見がみられた用量が不明ですが、最低用量で所見がみられているため LOAEL を設定しています。本試験の取扱いを含め、ご確認をお願いします。
- ② LOAEL の根拠とした所見については「体重増加抑制、外性子宮内膜症等」とまとめていますが、特記する内容について、ご確認をお願いします。
- ③ 表の記載は、以下のとおりとしています。併せてご確認をお願いします。
 - ・血清中 ALT 活性については、散発的ではあるものの **15 mg/kg** 体重/日投与群でも上昇がみられたことから、**15 mg/kg** 体重/日投与群の項目に記載。TG 及び Chol も同様に判断。
 - ・臓器重量の変化のうち、肝臓、子宮及び卵巣については、**75 mg/kg** 体重/日投与群に比べると程度は小さいものの **15 mg/kg** 体重/日投与群でもみられたことから、**15 mg/kg** 体重/日投与群の項目に記載。
 - ・嚢胞性子宮内膜過形成、子宮筋層肥大及び外性子宮内膜症については、毒性所見として **15 mg/kg** 体重/日投与群の項目に記載。一方、子宮/頸部の平滑筋腫については、用量依存性がないと思われるため、毒性所見として記載せず。
 - ・剖検及び病理組織学的所見については、検査時期を記載。
 - ・剖検所見については、投与量不明の項目に記載。病理組織学的所見と重複する所見は削除してもよいでしょうか。

【小川専門委員】(③剖検と病理学組織学的の所見について) 重複している部分は削除で結構です。

【島田章則専門委員】

(①について) 確認しました。

- ・「hypertrophy」は「肥大」、「enlarged」は「増大」
- ・「development」は、「形成」としてはどうでしょうか？ 管→乳管 乳腺組織内での「腺房」構造および「乳管」構造としてとらえることが可能かと思えます。

²⁸ 参照 11 には“at A years”と記載されているが、中間検査時の結果と考えられ、試験開始 1 及び 2 年後の結果は記載されていることから「試験開始 4 年後」と判断した。

【寺岡専門委員】

① 貴重なサルの実験なので大変参考になります。ただ、投与法がやはり気になります。海外機関が LOAEL を設定していないことは意味があるのかもしれませんが。専門委員会に出席できませんので、先生方のご判断におまかせいたします。

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29

7. 生殖発生毒性試験

事務局作業中

8. ホルモン作用に関する試験

事務局作業中

9. その他の試験

調査事業

(1) 子宮肥大試験（マウス）及びエストロゲン受容体との親和性に関する特殊試験 (*in vitro*)

① 子宮肥大試験（マウス）

8 週齢で卵巣を摘出して約 1 ヶ月後のマウス（ICR 系、6 又は 7 週齢、体重約 35 g、10~11 匹/群）にゼラノール（0.5、2、10、50、100 mg/kg 体重/日）又はエストラジオール-17β（0.5、10、100、1,000 ng/kg 体重/日）が 3 日間皮下投与された。

ゼラノールの全投与群で、体重における変化はみられなかった。

ゼラノールの全投与群及びエストラジオール-17β の 100 ng/kg 体重/日以上投与群で、用量依存的に子宮の湿重量 (*wet weight*) 及び乾燥重量 (*blotted weight*) が有意に増加した。（参照 15） [(Takemura et al., 2007)]

② エストロゲン受容体との親和性に関する特殊試験 (*in vitro*) 単位修正: 「M」→「mol/L」

in vitro にて、ゼラノール及びエストラジオール-17β のヒトエストロゲン受容体 α (ERα) 及びエストロゲン受容体 β (ERβ) に対する結合親和性が検討された。ゼラノール及びエストラジオール-17β の ERα との IC₅₀ は、それぞれ 2.18x10⁻⁸、1.04x10⁻⁸ mol/L であった。また、ゼラノール及びエストラジオール-17β の ERβ との IC₅₀ はそれぞれ 4.28x10⁻⁸、1.00x 10⁻⁸ mol/L であった。ゼラノールの ERα 及び ERβ に対する相対結合性はそれぞれエストラジオール-17β の 48%、23%に相当した。（参照 15）

[(Takemura et al., 2007)]

【事務局より】

調査事業による文献です。記載した所見等に誤りや過不足がないか、ご確認をお願いします。なお、ゼアラレノンについては、検討者委員会において本文献が採用された議論の内容を鑑み、記載していません。

また、原文では「17β-Estradiol」ですが、他の箇所(JECFA 評価書)と合わせ「エストラジオール-17β」としました。

<参考 ; H30 調査事業の検討者委員会による留意点>

in vitro および *in vivo* で天然のエストラジオール-17 β とゼラノールとの比較を行ったしっかりとした実験である。皮下投与ではあるものの、*in vitro* のデータ、*in vivo* のデータを比較するとき、*in vivo* ではエストロゲン作用が大体 100 分の 1 程度に減弱しているという点が参考になる。実験結果の値もリーズナブルである。

(2) エストロゲン様力価に関する特殊試験 (ラット)

性的未成熟なラット (系統及び匹数不明、雌) における子宮に対する反応 (**uterotropic response**) により、エストラジオール-17 β を用いて、ゼラノール並びにその代謝物であるゼアララノン及びタレラノールのエストロゲン様力価 (**estrogenic potency**) を比較検討した。

経口投与によるゼラノール、ゼアララノン及びタレラノールのエストロゲン様力価 (**estrogenic potency**) は、それぞれエストラジオール-17 β の 1/150、1/400 及び 1/350 であった。皮下投与では、ゼラノールのエストロゲン様力価 (**estrogenic potency**) は、エストラジオール-17 β の 1/500 であった。(参照 11) [FAS 23, p. 4 (Everett et al., 1987c)]

JECFA が ADI を設定する根拠となった試験

(3) 卵巣摘出サルを用いた試験

両側の卵巣を摘出して 11 週後の安定したサル (カニクイザル、雌 18 匹) にゼラノール (0.2%CMC 水溶液) を 13 週間経口投与 (0.05、0.5 又は 5 mg/kg 体重/日に相当) し、ホルモン作用が検討された。対照群は設定されなかった。臨床化学的検査、血液学的検査及び尿検査が、投与 1 か月前並びに投与開始 1 及び 3 か月後に実施された。血清中のインスリン及び TSH 濃度が、投与前、投与 1 及び 3 か月後に測定された。FSH 濃度は、最終投与 4 週間までの試験期間を通じて、基本的に毎週測定された。

臨床化学的検査、血液学的検査及び尿検査のパラメータは正常値の範囲内であった。

血清中のインスリン及び TSH の濃度に投与による影響は観察されなかった。FSH は初回投与後 24 時間にいくらかの変動を示したが、二相性反応はみられなかった。試験期間中に測定された FSH は変動し、一貫した減少は観察されなかった。

試験中のベースライン測定及び膺の上皮細胞による成熟指数 (**maturation index**) 測定では、0.5 mg/kg 体重/日以上投与群でエストロゲン様作用が示唆された。この影響は、0.05 mg/kg 体重/日投与群では明らかではなかった。(参照 11) [FAS 23, p. 4 (Singh et al., 1984a; CIC, 1985)]

JECFA は、ホルモン作用としての無作用量 (no-hormonal-effect level) を 0.05 mg/kg 体重/日と設定し、本試験の結果を基に ADI を設定した。(参照 11) [FAS23, p. 13 COMMENTS, EVALUATION]

【事務局より】

卵巣を摘出したサルを用いてホルモン作用をみている試験であり、本項目 (9. その他の試験) に記載しています。タイトル (試験名) についても、ご確認をお願いします。

【寺岡専門委員】

(タイトルについて) 「血中ホルモンレベルに対する影響」など、もう少し具体的にしてもよいで

すが、他の試験名と比較しても、特にこのままでよいと思います。

調査事業

(4) 精巣毒性に関する特殊試験 (マウス)

マウス (Kunming 系、雄 10 匹/群) にゼラノールを 35 日間強制経口投与 (0、25、50、100 mg/kg 体重/日) し、精巣毒性が検討された。

摂餌量及び摂水量並びに一般状態については、投与群において特段の異常はみられなかった。

投与開始 8~15 日後、50 mg/kg 体重/日投与群 3 匹及び 100 mg/kg 体重/日投与群 4 匹で陰嚢が腫張 (pseudo scrotal swelling ※Result にのみ pseudo の記載あり) した。陰嚢の腫張がみられた個体のうち、50 mg/kg 体重/日投与群 1 匹及び 100 mg/kg 体重/日投与群 2 匹を、投与開始後 15 日目に剖検したところ、全ての個体で、腸の一部が陰嚢に嵌入 (trapped in the scrotum) していた。その他の投与を続けた 4 匹では、35 日目までに、腫張は消失した。

最終投与から 24 時間後の剖検において、投与群の心臓、肝臓、肺及び腎臓に特段の異常はみられなかった。

体重は投与期間中に週 1 回測定され、対照群においては均等に増加した。投与群においては、投与後半に増加量が緩やかになったが、対照群と有意な差は認められなかった。

精子形成 (spermatogenesis) への影響が検討された。全投与群で、精巣上体の精子数が有意に減少した。50 mg/kg 体重/日以上投与群では、精子の運動性が有意に低下した。投与群において、精子の奇形の発現率は増加傾向を示したものの有意差はなかった。

精巣及び精嚢への影響が検討された。全投与群で、大きさ及び重さの減少を伴う精嚢の萎縮 (少量の精子と精嚢腺液を含む) がみられた。また、精嚢の重量及び重量の体重比 (organ coefficients) は、全投与群で対照群と比べ有意に減少した。精巣の重量及び重量の体重比 (organ coefficients) は、100 mg/kg 体重/日投与群で有意に減少したが、精巣上体の重量及び重量の体重比 (organ coefficients) は、投与群と対照群に有意差はなかった。

HE 染色による精巣の組織所見では、対照群と比較して、25 mg/kg 体重/日以上投与群で精上皮の減少 (reduced levels of seminiferous epithelium) がみられた。50 mg/kg 体重/日以上投与群では、精子形成細胞 (spermatogenic epithelium cells) の不規則な配列がみられ、精巣精細管内部 (lumen of the testicular seminiferous tubules) において、剥離細胞塊 (clustered exfoliated cells) が発現し、成熟精子の減少がみられた。100 mg/kg 体重/日投与群では、精巣精細管内部 (lumen of the testicular seminiferous tubules) のタンパク様液 (protein fluid) の貯留がみられた。

対照群及び 100 mg/kg 体重/日投与群の各 3 例について、透過型電子顕微鏡を用いて精巣組織の病理学的変化を観察したところ、100 mg/kg 体重/日投与群で、セルトリ細胞及びライディッヒ細胞に、核膜の崩壊を伴った傷害や、脂質滴の増加による核周囲領域及び細胞隙間の拡大がみられたが、精子の微細構造について異なる変化は見られなかった。

投与開始 35 日後に、血清のホルモンレベル (T、FSH、LH) について、RIA により

1 検出した。血清 T 及び FSH については 50 mg/kg 体重/日以上投与群で、血清 LH につ
2 いては 100 mg/kg 体重/日投与群で、対照群と比べて有意に低下した。また、精巣 T
3 (testicular T) についても検討され、全投与群において対照群と比べて有意に低下した。
4 (参照 16) [(Bo et al., 2015)]

5

【事務局より】

- ① 調査事業による文献ですが、用量設定や病理写真等から試験の質が懸念されることから、本試験の取り扱いについて、再度ご確認をお願いします。
- ② 調査事業の記載案から、摂餌量、剖検結果、体重、HE 染色による組織所見の詳細、ホルモン変化の詳細について追記しています。その他、各所見内容や所見がみられた用量についても加筆修正等しています。記載した所見に誤りや過不足等がないか、ご確認をお願いします。

<参考 ; H30 調査事業の検討者委員会による留意点>

in vivo の経口投与の実験で、用量群も対照群と 3 つの投与群である。精巣毒性試験として評価できる。

ただし、高用量影響を見ているので、NOAEL の評価には使えない点に留意する。

6

7 10. ヒトにおける知見

8 ヒトにおける知見及び一般薬理試験は得られていない。

9

1 Ⅲ. 国際機関等における評価 事務局

2 1. JECFA の評価

3 JECFA は、第 26 回会合（1982 年）でゼラノールについて検討したが、~~必要な~~残留
4 データ、ゼラノール使用に関連した適正家畜飼育（good animal husbandry）及び分析
5 方法の詳細が得られていなかったため、その時点では評価ができなかった。第 27 回会
6 合（1983 年）において、JECFA は適正家畜飼育行動規範（good animal husbandry
7 practice）に従~~って~~、食用肉生産のため~~に~~の同化剤として~~の~~ゼラノール~~を~~の使用~~するこ~~
8 ~~と~~を暫定的に受け入れ、(1)非ヒト霊長類~~（non-human primates）~~におけるホルモン~~作~~
9 ~~用としての活性に対する~~NOEL（no-effect level for hormonal activity）を~~確~~設定する
10 ために実施中であった試験及び(2)~~2 種類~~のげっ歯類 2 種を用いた十分な発がん性試験
11 の結果の提出を求めた。

12 第 32 回会合（1988 年）では、牛に使用するゼラノールの牛における使用についての
13 ~~み~~が評価が行われ、ゼラノールの発がん作用は、そのエストロゲン様作用に関係してお
14 り、また、腫瘍に関連したホルモンに対する NOEL（no-hormonal-effect level）を決定
15 することにより、ゼラノールのばく露に対する安全レベル（safe levels of exposure）の
16 推定が可能となると結論した。

17 JECFA は、卵巣を摘出したサルがエストロゲン様物質に高い感受性を示すことから、
18 卵巣を摘出したサルにおけるホルモン~~作用としてののに対する~~NOEL（level causing no
19 hormonal effect）0.05 mg/kg 体重/日を根拠に、安全係数として 100 を適用し、ADI を
20 0.5 µg/kg 体重/日と設定した。（参照 11、17）[FAS 23, p.13 COMMENTS, EVALUATION]
21 [TRS763, p. 26-28]

22

23 2. EU 欧州の評価

24 1989 年に、EC は、成長促進を目的とする、抗甲状腺、エストロゲン又は黄体ホルモ
25 ン活性を有する物質の家畜への投与を禁止~~した~~。結果としてであり、食肉の生産におい
26 て成長促進を目的として、エストラジオール-17β、プロゲステロン、テストステロン、
27 ゼラノール、酢酸トレンボロン及び酢酸メレンゲステロールを単独又は併用で使用す
28 ること~~が~~を禁止~~された~~している。1999 年に、SCVPH は、~~1999 年に~~これら 6 種類のホル
29 モンのいずれにも閾値を設定することはできないとの意見を取りまとめた。ゼラノー
30 ールについては、利用可能な情報はゼラノールを投与された動物由来の食肉及び食肉製品
31 の消費者に対するリスクを定量的に推定するには不十分であるとされた（参照 18）[EC
32 Opinion 1999, p.1, 72-73]。その後、この意見について、EC は 2000 及び 2002 年の 2 度
33 に渡って再検討したが、結論は変わらないとした。（参照 19、20）[EC Review 2000] [EC
34 Opinion 2002, p. 21-22]

35 EFSA は、2007 年に、エストラジオール-17β を除く 5 種類のホルモンについて、
36 2000 年から 2007 年はじめまで EC による再検討以降に得られた科学文献の評価を行
37 った。リスクの特徴付け（risk characterization）に必要な定量的情報が不十分であっ
38 たことから、SCVPH の意見の改訂は行われなかった。（参照 21）[EFSA Journal 2007]
39

1 3. 米国の評価

2 FDA では、1989年に、ゼラノールの総全残留量に対する組織ごとの安全濃度 (tissue
3 safe concentrations for total residue) が設定され、連邦規則集 (CFR) 第 21 巻に示さ
4 れていたが、2001 年の新規動物用医薬品の承認時に、これらの値は時代遅れの組織ごと
5 の消費率を用いて計算されていたものである (calculated using the now obsolete tissue
6 consumption factor) とされ、2002 年 2 月に CFR 第 21 巻の記載が削除され、代わりに
7 1989 年に評価済みであった ADI が示された。(参照 22、23) [67 FR 6867, Feb. 14,
8 2002] [FDA; NADA_RALGRO® LA, 2001 p.5]

9 ゼラノールの ADI は、ラットを用いた 104 週間慢性毒性/発がん性併合試験において、
10 エストロゲン様作用がみられたことから NOEL を 0.125 mg/kg 体重/日とし、安全係数
11 100 を適用し、1.25µg/kg 体重/日と設定されている。II. 6. (3) (参照 3、23、24)
12 [FDA; NADA_RALGRO®, 1989 p.13] [FDA; 21eCFR556.760, 2019]

13

14 4. 豪州の評価

15 豪州政府は、1985 年、1986 年及び 1988 年に、ゼラノールの評価を行った。ラット
16 を用いた 2 年間の混餌投与試験 (試験の詳細不明) において、子宮頸部の重層扁平上皮
17 (cervical stratified squamous epithelium) がみられたことから NOAEL²⁹を 0.015
18 mg/kg 体重/日とし、安全係数 100 を適用し、ゼラノールの ADI を 0.2 µg/kg 体重/日と
19 設定している。(参照 25、26) [Australia; ADI LIST, 2019] [Australia; Review, 2003, p28-
20 30]

21

22

23 IV. 食品健康影響評価

24 事務局作業中

25

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無毒性量
27 等の比較

28 事務局作業中

29

30

²⁹ 参照 26 には「NOEL」と記載されている。

1 <別紙1：代謝物名称>

一般名	化学名
Zearalanone	(3 <i>S</i>)-3,4,5,6,9,10,11,12-octahydro-14,16-dihydroxy-3-methyl-1 <i>H</i> -2-benzoxacyclotetradecin-1,7(8 <i>H</i>)-dione
Taleranol (β-zearalanol)	(3 <i>S</i> ,7 <i>S</i>)-3,4,5,6,7,8,9,10,11,12-decahydro-7,14,16-trihydroxy-3-methyl-1 <i>H</i> -2-benzoxacyclotetradecin-1-one

2

3

4

1 <別紙2：検査値等略称>

略称等	名称
ADI	Acceptable Daily Intake：許容一日摂取量
ALT	Alanine transaminase：アラニンアミノトランスフェラーゼ [=Glutamic Pyruvic Transaminase：グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ（GPT）]
CMC	Carboxymethyl cellulose：カルボキシメチルセルロース
CYP	Cytochrome P450：チトクローム P450
EC	European Commission：欧州委員会
EFSA	European Food Safety Authority：欧州食品安全機関
FDA	Food and Drug Administration：米国食品医薬品庁
FSH	Follicle stimulating hormone：卵胞刺激ホルモン
Glu	Glucose：グルコース（血糖）
HPLC	High pressure liquid chromatography：高速液体クロマトグラフィー
Hb	Hemoglobin：ヘモグロビン量（血色素量）
Ht	Hematocrit：ヘマトクリット値
JECFA	The Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives：FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議
LC-DAD-MS	Liquid Chromatography - Diode Array Detector - Mass Spectrometry：液体クロマトグラフィー・ダイオードアレイ検出器・質量分析
LD ₅₀	Lethal Dose 50：半数致死量
LH	Luteinizing hormone：黄体形成ホルモン
LOAEL	Lowest Observed Adverse Effect Level：最小毒性量
NOAEL	No Observable Adverse Effect Level：無毒性量
NOEL	No Observable Effect Level：無作用量
RBC	Red blood cell：赤血球数
RIA	Radioimmunoassay：放射免疫測定法
SCVPH	The Scientific Committee on Veterinary Measures relating to Public Health
T	Testosterone：テストステロン
T.Chol	Total Cholesterol：総コレステロール
TG	Triglyceride：トリグリセリド
TSH	Thyroid stimulating hormone：甲状腺刺激ホルモン
UGT	UDP -(uridine- 5'-diphosphate) -glucuronosyltransferase：UDP -グルクロン酸転移酵素 石川専門委員
WBC	White blood cell：白血球数

2

3

1 <参照>

- 2 1. 食品、添加物等の規格基準（昭和 34 年厚生省告示第 370 号）の一部を改正する件
3 （平成 17 年 11 月 29 日付、厚生労働省告示第 499 号）
- 4 2. The Merck Index, 15th Ed., 2013. [Merck Index]
- 5 3. JECFA: Zeranone: Residues of some veterinary drugs in foods and animals. FAO
6 Food and Nutrition Paper, 41-1, 1987. [FNP41]
- 7 4. 食品安全委員会: 牛の成長促進を目的として使用されているホルモン剤（肥育ホルモ
8 ン剤）。ファクトシート, 2007. [食安委 ファクトシート]
- 9 5. FDA: XI. Freedom of information summary, Ralgro® brand of zeranone implants:
10 NADA38-233 V, 1989 [FDA: NADA_RALGRO®, 1989]
- 11 6. Migdalof BH, Dugger HA, Heider JG, Coombs RA, Terry MK: Biotransformation of
12 zeranone: disposition and metabolism in the female rat, rabbit, dog, monkey and man.
13 Xenobiotica, 1983; 13(4): 209-221 [(Migdalof, et al., 1983)]
- 14 7. Bories G, Suarez AF: Profiling of free and conjugated [³H] zeranone metabolites in pig
15 plasma. J Chromatogr, 1989; 489(1): 191-197 [(Bories et al., 1989)]
- 16 8. Pfeiffer E, Hildebrand A, Mikula H, Metzler M: Glucuronidation of zearalenone,
17 zeranone and four metabolites *in vitro*: Formation of glucuronides by various
18 microsomes and human UDP-glucuronosyltransferase isoforms. Mol Nutr Food Res,
19 2010; 54(10): 1468-1476 [(Pfeiffer et al., 2010)]
- 20 9. Bories GF, Perdu-Durand EF, Sutra JF, Tulliez JE: Evidence for glucuronidation
21 and sulfation of zeranone and metabolites (talaranone and zearalenone) by rat and pig
22 hepatic subfractions. Drug Metab Dispos, 1991; 19(1): 140-143 [(Bories et al., 1991)]
- 23 10. Hildebrand A, Pfeiffer E, Metzler M: Aromatic hydroxylation and catechol
24 formation: A novel metabolic pathway of the growth promoter zeranone. Toxicol Lett,
25 2010; 192(3): 379-86 [(Hildebrand et al., 2010)]
- 26 11. JECFA: Zeranone: Toxicological evaluation of certain veterinary drug residues in food.
27 WHO Food Additives Series, No. 23. Cambridge University Press, 1988, nos 646 on
28 INCHEM. [FAS23]
- 29 12. Pylkkanen L, Jahnukainen K, Parvinen M, Santti R: Testicular toxicity and
30 mutagenicity of steroidal and non-steroidal estrogens in the male mouse. Mutat Res,
31 1991; 261(3): 181-191 [(Pylkkanen et al., 1991)]
- 32 13. 厚生労働省: 畜水産食品中に残留する動物用医薬品の基準設定に関する分科会報告
33 [分科会報告]
- 34 14. Wang Y, Li L, Wang CC, Leung LK: Effect of zeranone on expression of apoptotic and
35 cell cycle proteins in murine placentae. Toxicology, 2013; 314(1): 148-154 [(Wang et
36 al., 2013)]
- 37 15. Takemura H, Shim JY, Sayama K, Tsubura A, Zhu BT, Shimoi K: Characterization
38 of the estrogenic activities of zearalenone and zeranone in vivo and in vitro. J Steroid
39 Biochem Mol Biol, 2007; 103(2): 170-177 [(Takemura et al., 2007)]
- 40 16. Bo C, Zhao W, Jia Q, Yang Z, Sai L, Zhang F, Du Z, Yu G, Xie L, Zhang Z: Effects of

- 1 α -zearalanol on spermatogenesis and sex hormone levels of male mice. *Int J Clin*
2 *Exp Med*, 2015; 8(11): 20002-20013 [(Bo et al., 2015)]
- 3 17. JECFA: Zeranol: Evaluation of certain veterinary drug residues in food. Thirty-
4 second report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. WHO
5 Technical Report Series, 1988; 763 [TRS763]
- 6 18. EUROPEAN COMMISSION: Opinion of the scientific committee on veterinary
7 measures relating to public health. Assessment of potential risks to human health
8 from hormone residues in bovine meat and meat products. 1999 [EC opinion 1999]
- 9 19. EUROPEAN COMMISSION: Review of specific documents relating to the SCVPH
10 opinions of 30 April 99 on the potential risks to human health from hormone
11 residues in bovine meat and meat products. 2000 [EC review 2000]
- 12 20. EUROPEAN COMMISSION: Opinion of the scientific committee on veterinary
13 measures relating to public health on review of previous SCVPH opinions of 30 April
14 1999 and 3 May 2000 on the potential risks to human health from hormone residues
15 in bovine meat and meat products. 2002 [EC opinion 2002]
- 16 21. EFSA: Opinion of the scientific panel on contaminants in the food chain on a request
17 from the European Commission related to hormone residues in bovine meat and
18 meat products. *The EFSA Journal*, 2007; 510: 1-62. [EFSA Journal2007]
- 19 22. FDA: Federal Register, 2002; Vol.67,No.31: 6867 [67 FR 6867, Feb. 14, 2002]
- 20 23. FDA: Freedom of information summary, Original new animal drug application:
21 NADA141-192, Zeranol Long Acting (Ralgro® LA), 2001 [FDA: NADA_RALGRO® LA,
22 2001]
- 23 24. FDA: Title 21, Electronic Code of Federal Regulations, part 556.760, 2019 [FDA;
24 21eCFR556.760, 2019]
- 25 25. Australian Government. Australian Pesticides and Veterinary Medicines
26 Authority: Acceptable Daily Intakes (ADI) for agricultural and veterinary chemicals
27 used in food producing crops or animals. Edition 1/2019, current as of 31 March
28 2019 [Australia: ADI LIST, 2019]
- 29 26. Department of Health and Ageing (Australia): A review to update Australia's
30 position on the human safety of residues of hormone growth promotants (HGPs)
31 used in cattle. 2003 [Australia: Review, 2003]
- 32