資料２

（案）

動物用医薬品評価書

# 酢酸メレンゲステロール

２０１６年５月

食品安全委員会動物用医薬品専門調査会

目　次

## ＜審議の経緯＞

2005 年 11 月 29 日 暫定基準告示（参照 1）
2007 年 1 月 15 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（厚生労働省発食安第 0112015 号）、関係資料の接受
2007 年 1 月 18 日 第 174 回食品安全委員会（要請事項説明）
2010 年 12 月 20 日 第 129 回動物用医薬品専門調査会
2011 年 2 月 21 日 第 130 回動物用医薬品専門調査会
2016 年 5 月 30 日 第 191 回動物用医薬品専門調査会

## ＜食品安全委員会委員名簿＞

| （2009 年 6 月 30 日まで） | （2011 年 1 月 6 日まで） | （2012 年 6 月 30 日まで） |
|---|---|---|
| 見上 彪（委員長） | 小泉 直子（委員長） | 小泉 直子（委員長） |
| 小泉 直子（委員長代理*） | 見上 彪（委員長代理*） | 熊谷 進（委員長代理*） |
| 長尾 拓 | 長尾 拓 | 長尾 拓 |
| 野村 一正 | 野村 一正 | 野村 一正 |
| 畑江 敬子 | 畑江 敬子 | 畑江 敬子 |
| 廣瀬 雅雄** | 廣瀬 雅雄 | 廣瀬 雅雄 |
| 本間 清一 | 村田 容常 | 村田 容常 |
| * : 2007 年 2 月 1 日から<br>** : 2007 年 4 月 1 日から | * : 2009 年 7 月 9 日から | * : 2011 年 1 月 13 日から |

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

## ＜食品安全委員会動物用医薬品専門調査会専門委員名簿＞

（2011 年 9 月 30 日まで）

| | | |
|---|---|---|
| 三森 国敏（座長） | 天間 恭介 | 山口 成夫 |
| 寺本 昭二（座長代理） | 頭金 正博 | 山崎 浩史 |
| 石川 さと子 | 能美 健彦 | 山手 丈至 |
| 石川 整 | 福所 秋雄 | 渡邊 敏明 |
| 小川 久美子 | 舞田 正志 | |
| 寺岡 宏樹 | 松尾 三郎 | |

(2012年6月30日まで)

| | | |
|---|---|---|
| 三森 国敏（座長） | 寺本 昭二 | 舞田 正志 |
| 山手 丈至（座長代理） | 天間 恭介 | 松尾 三郎 |
| 石川 さと子 | 頭金 正博 | 山口 成夫 |
| 石川 整 | 能美 健彦 | 山崎 浩史 |
| 小川 久美子 | 福所 秋雄 | 渡邉 敏明 |

(2013年9月30日まで)

| | | |
|---|---|---|
| 山手 丈至 (座長*) | 頭金 正博 | 山崎 浩史 |
| 小川 久美子（座長代理*) | 能美 健彦 | 吉田 敏則** |
| 石川 さと子 | 福所 秋雄 | 渡邉 敏明 |
| 石川 整 | 舞田 正志 | |
| 寺本 昭二 | 松尾 三郎 | * : 2012年8月22日から |
| 天間 恭介 | 山口 成夫 | ** : 2012年10月1日から |

(2015年9月30日まで)

| | | |
|---|---|---|
| 山手 丈至（座長） | 川治 聡子 | 松尾 三郎 |
| 小川 久美子（座長代理） | 須永 藤子 | 宮田 昌明 |
| 青木 博史 | 辻 尚利 | 山崎 浩史 |
| 青山 博昭 | 寺岡 宏樹 | 吉田 和生 |
| 石川 さと子 | 能美 健彦 | 吉田 敏則 |
| 石川 整 | 舞田 正志 | 渡邉 敏明 |

(2016年3月31日まで)

| | | |
|---|---|---|
| 青山 博昭 (座長) | 須永 藤子 | 山崎 博史 |
| 小川 久美子（座長代理） | 辻 尚利 | 吉田 和生 |
| 青木 博史 | 寺岡 宏樹 | 吉田 敏則 |
| 石川 さと子 | 能美 健彦 | 渡邉 敏明 |
| 石塚 真由美 | 舞田 正志 | |
| 島田 章則 | 宮田 昌明 | |

(2016年4月1日から)

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

1

＜第 191 回食品安全委員会動物用医薬品専門調査会専門参考人名簿＞

江馬　眞　　　　山崎 浩史
奥田　潔　　　　山手 丈至
前多 敬一郎

## 要　約

ホルモン剤である「酢酸メレンゲステロール」（CAS No.2919-66-6）について、JECFAの評価書等を用いて食品健康影響評価を実施した。

評価に用いた試験成績等は、薬物動態・代謝（ウサギ、牛及びヒト）、残留（牛）、急性毒性（マウス、ラット及びウサギ）、亜急性毒性（マウス、ラット、ウサギ及びイヌ）、慢性毒性及び発がん性（マウス及びイヌ）、生殖発生毒性（ラット、ウサギ、イヌ及び牛）、遺伝毒性、ホルモン作用に関する試験（マウス、サル及び牛）等の試験成績である。

［以降は審議後に記載。］

## Ⅰ．評価対象動物用医薬品の概要

### １．用途

ホルモン剤

### ２．有効成分の一般名

和名：酢酸メレンゲステロール

英名：Melengestrol acetate

### ３．化学名

IUPAC

英名：(17R)-17-acetyl-17-hydroxy-6,10,13-trimethyl-16-methylidene-1,2,8,9,11,12,14,15-octahydrocyclopenta[a]phenanthren-3-one

CAS (No. 2919-66-6)

英名：17-(Acetyloxy)-6-methyl-16-methylenepregna-4,6-diene-3,20-dione

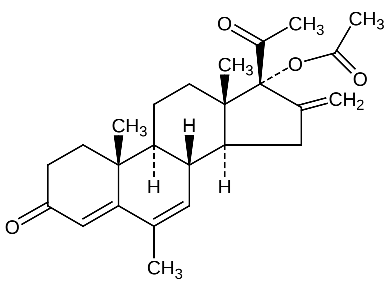
### ４．分子式

$C_{25}H_{32}O_4$

### ５．分子量

396.52

### ６．構造式



（参照 2）[Merck Index]

### ７．使用目的及び使用状況

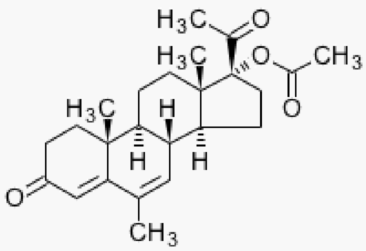
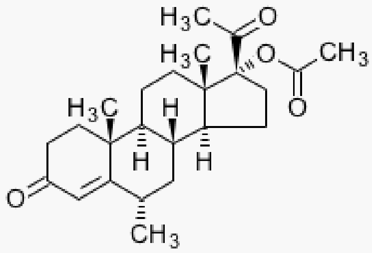
酢酸メレンゲステロールは、1960 年代前半に Upjohn 社（現：ゾエティス社）により開発された 17-アセトキシプロゲステロン誘導体である。合成プロゲステロン（プロゲストーゲン）であり、経口投与で黄体ホルモンの活性を有する。（参照 2～4）[2：Merck Index][3：JECFA FAS45 -1][4：文献（Duncan et al., 1964）] 開発者等を追記

海外では、雌の肉牛の飼料効率の改善、成長促進及び発情抑制を目的に使用されており、承認された投与量は 0.25～0.50 mg/頭/日で、肥育期及び肥育仕上げ期にかけて、通常 90～150 日間混餌投与される。本剤は単独、又は他の成長促進剤と併用して投与される。（参照 3）[JECFA FAS45 -1.] ヒト用医薬品としては、使用されていない。

日本においては、動物用医薬品及びヒト用医薬品として承認されていない。

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）

<参考>　類似構造を持つ合成プロゲステロン（ヒト用医薬品としてあり）

<table>
<tr><td>メゲストロール酢酸エステル<br>（Megestrol acetate）<br><br>D00952</td><td>メドロキシプロゲステロン酢酸エステル<br>（Medroxyprogesterone acetate）<br><br>C08150</td></tr>
<tr><td>CAS: 595-33-5<br>化学式：17-Acetyloxy-6-methylpregna-4,6-diene-3,20-dione</td><td>CAS: 71-58-9<br>化学式：17-Acetoxy-6α-methylpregn-4-ene- 3,20-dione</td></tr>
</table>

【事務局より】　記載整備：以下について、現在の評価書の記載に修正しています。
「見られた」→「みられた」
「サンプル」→「試料」
「グルクロニド」→「グルクロン酸抱合体」
「プロフィール」→「プロファイル」
「参考試験」→「参考資料」。脚注で参考資料とする理由を記載。
「LC/MS」「GC/MS」「HPLC/MS」「HPLC/UV」→「LC-MS」「GC-MS」「HPLC-MS」「HPLC-UV」とハイフンに統一。

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）

## II. 安全性に係る知見の概要

本評価書では、JECFA（2000[2]、2004 及び 2009 年）、EFSA 評価書等を基に、酢酸メレンゲステロール（MGA）の毒性に関する主な知見を整理した。（参照 3～24）

代謝物略称及び検査値等略称をそれぞれ別紙 1 及び 2 に示した。

各種薬物動態、代謝及び残留試験で用いられた MGA の放射性標識化合物については、以下の略称を用いた。

| 略称 | 標識位置 |
|---|---|
| [6-methyl-$^{3}$H]標識 MGA | 6 位のメチル基の水素を $^{3}$H で標識したもの |
| $^{3}$H 標識 MGA | $^{3}$H で標識したもので標識位置が不明なもの |
| [6-methyl-$^{14}$C]標識 MGA | 6 位のメチル基の炭素を $^{14}$C で標識したもの |
| [6-methyl/16-methylene-$^{14}$C]標識 MGA | 6 位のメチル基及び 16 位のメチレン基の炭素を $^{14}$C で標識したもの |
| $^{14}$C 標識 MGA | $^{14}$C で標識したもので標識位置が不明なもの |

【事務局より】
① 上記に標識化合物をまとめておりますので、ご確認くださいますようお願いいたします。
② 1．薬物動態試験について、前回の記載を整備しておりますので、ご確認くださいますようお願いいたします。

### 1．薬物動態試験~~（吸収・分布・代謝・排泄試験）及び代謝試験~~

#### （1）薬物動態試験（ウサギ~~、排泄、経口投与~~） 要確認

① 排泄

ウサギ（品種及び性別不明、2 匹）に[6-methyl-$^{14}$C]標識 MGA を単回強制経口投与（47 mg/匹）し、薬物動態試験が実施された。

消失率は 1 日目がピークで、7 日目では 0.1%未満であった。7 日目までに、投与された放射活性の 59%（尿中 15%及び糞中 44%）が排泄された。（参照 3、5）[3：JECFA FAS45 -2.1.1(Cooper, 1967)][5：見直し用資料(2) -3.0②]

投与後 168 時間における尿中排泄率から、吸収率は少なくと~~そ~~も 15%と算出された。

【事務局より】 L 19 に新たに吸収率を追記しましたので、ご確認くださいますようお願いいたします。

~~（2）薬物動態試験（ウサギ、分布・胎盤通過性、経口投与）~~

[2] 参照 3 の資料によれば、2000 年に JECFA に提出された毒性試験のほとんどは、1979 年以前に当時の基準に従って実施されたもので GLP を遵守していない。適正な手順及び実施基準に従ってより最近、実施された試験結果は、それらの古い試験結果と一致するものであったとのことである。（参照 3）[JECFA FAS45 -1]

② 分布及び胎盤移行

ウサギ（Dutch-Belted 種、雌 2 匹）に、妊娠 14～27 日の間、MGA を経口投与（0.5 mg/kg 体重/日、溶媒：コーンシロップ）し、その胎盤通過性が検討された。

母動物では、MGA は血漿中に 1 mL 当たりナノグラム~~/mL~~ のレベルで検出され、筋肉では 0.29 及び 0.70 ng/g、肝臓では 190 及び 160 ng/g、腎臓では 2.80 及び 2.50 ng/g 並びに脂肪（由来組織不明）では 28 及び 72 ng/g であった。胎児 4 例の対応する組織中の MGA ~~量~~濃度は、筋肉では 0.88～1.00 ng/g、肝臓では 5.10～7.10 ng/g、腎臓では 0.60～1.10 ng/g、及び脂肪では 3.10～7.10 ng/g であった。胎盤中濃度は 0.69～0.95 ng/g であった。対照群では、全ての組織で検出限界（LOD）未満であった。

本試験から、MGA は胎盤通過性を有していることが確認された。（参照 6、7）[6：FAS61 -2.1.1][7：文献(Lange et al., 2002)；Table 6] 単位修正：「μg/kg」→「ng/g」

（~~3~~ 2）薬物動態試験（牛~~、分布・排泄、混餌投与~~）① 2.(7)を移動追記：要確認

未経産牛（Angus-Hereford 種、4 頭）に MGA を 4 か月間混餌投与（約 0.5 mg/頭/日）し、その後、3 頭には[6-methyl-$^{3}$H]標識 MGA を 21 日間、他の 1 頭には[6-methyl/16-methylene-$^{14}$C]標識 MGA を 7 日間、ゼラチンカプセルで投与し、薬物動態試験が実施された。

【事務局より】 ［II.2.(2)］にあった記載を本項に加える形で移動し、分布、代謝、排泄について記載順を修正し、記載の整備を行いました。新たに追記したところは、表1になります。

① 分布

[6-methyl-$^{3}$H]標識 MGA 投与群の最終投与 6 時間後における組織~~及び器官中の MGA の分析では、組織及び器官~~中の総放射活性が液体シンチレーション~~分析法~~計測（LSC）により測定された。

結果を表 1 に示した。重要な 4 種類の臓器又は組織のうち、肝臓で最高総放射活性がみられ（~~平均~~12 ng eq/g）、次が脂肪であった（7.7 ng eq/g）。排泄器官の中では、最高濃度が消化管壁（2～11 ng eq/g）でみられ、次が唾液腺（3.0 ng eq/g）、腎臓（1.6 ng eq/g）であった。乳腺、卵管、副腎及び胸腺には、2 ng eq/g を超える~~濃度の $^{3}$H-MGA~~ 放射活性が検出されたが、他の全ての組織では約 1 ng eq/g（筋肉 0.7 ng eq/g）であった。~~検出限界（~~LOD~~）~~は、0.5 ng eq/g であった。（参照 3、5、8、9）[3：JECFA FAS45 -2.1.1][5：見直し用資料(2)-3.0, 4.0⑧][8：FAO FNP41/13 -p.75][9：文献(Krzeminski et al., 1981)；Table 1] 単位修正：「μg/kg $^{3}$H-MGAeq」→「ng eq/g」

表 1 [6-methyl-$^{3}$H]標識 MGA 投与牛における総放射活性の組織分布（ng eq/g） 追記

| 組織 | 放射活性濃度 | 組織 | 放射活性濃度 | 組織 | 放射活性濃度 |
|---|---|---|---|---|---|
| 肝臓 | 12[a] | 胸腺 | 2.8 | 十二指腸内容物 | 2.6 |
| 胆汁 | 113 | 唾液腺 | 3.0 | 空回腸内容物 | 23.4 |
| 腎臓 | 1.6 | 卵巣 | 0.7 | 大腸内容物 | 24.2 |

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| 副腎 | 2.47 | 卵管 | 3.7 | 十二指腸粘膜[b] | 2.0、8.8 |
| 筋肉 | 0.7 | 子宮 | 2.2 | 空回腸粘膜 | 4.4 |
| 腎周囲脂肪 | 7.7 | 乳腺 | 2.3 | 大腸粘膜 | 7.9 |
| 下垂体 | 0.7 | | | | |

a：3例の平均値、b：3例中2例の値

~~本試験では、被験動物は最終カプセル投与6時間後にと殺されている。$^3$H-MGAを投与した~~3頭の個体毎の組織中総~~残留結果~~放射活性濃度を表2に示した。（参照8、9）[8：FAO FNP41/13 (Krzeminski et al., 1981)][9：文献(Krzeminski et al., 1981)]

表 2　牛における[6-methyl-$^3$H]標識MGA~~を経口~~投与~~した牛~~後の組織中の総~~残留~~放射活性濃度（ng eq/g）　単位修正：「μg/kg $^3$H-MGAeq」→「ng eq/g」

| 牛 | No.1 | No.2 | No.3 | 平均 |
|---|---|---|---|---|
| 肝臓 | 12 | 15 | 9.0 | 12 |
| 腎臓 | 1.7 | 1.8 | 1.2 | 1.6 |
| 筋肉 | 0.6 | 1.0 | 0.5 | 0.7 |
| 腎周囲脂肪 | 7.5 | 7.7 | 8.0 | 7.7 |

定量限界（LOQ）：約0.5 ng eq/g

### ②　代謝

~~4頭の未経産牛に非標識MGAが混餌投与された後、$^3$H-又は$^{14}$C-MGAが経口投与され、~~脂肪、肝臓、腎臓及び筋肉のMGA代謝物がガスクロマトグラフィー（GC）法又はLSCにより分析された~~（1．（3）薬物動態試験（牛、分布・排泄、混餌投与）参照）~~。

~~投与6時間後、~~未変化のMGAが脂肪中~~の~~では総放射活性の75～86%、肝臓~~の~~では29%、筋肉~~の~~では48%、腎臓~~の~~では29%を占めた~~（表3）~~。（参照3、5、8、9）[3：JECFA FAS45-2.1.2 (Krzeminski et al., 1981)][5：見直し用資料(2)-3.0①, 4.0⑨][8：FAO FNP41/13][9：文献(Krzeminski et al., 1981); Table 2]

### ③　排泄

[6-methyl-$^3$H]標識MGA投与群では、用いた燃焼法ではトリチウムの回収率は低く、投与~~$^3$H-MGA~~放射活性の約72%が排泄された。同様のパターンが[6-methyl/16-methylene-$^{14}$C]標識MGAを投与された1頭でも認められた。糞及び尿中に排泄された放射活性比は約6：1であった。

~~試験終了時に、~~投与6時間後の~~被験動物は安楽死処置され、~~組織~~及び器官~~中の総放射活性（$^3$H）~~が液体シンチレーション分析法により測定された。~~の分布については、胆汁（平均110 ng eq/g）、空回腸内容物（~~4.4~~23.4 ng eq/g）[3]及び大腸内容物（~~7.9~~24.2 ng eq/g）[3]で高い濃度がみられた（表1）。これらの結果は、胆汁が排泄の主要経路であることを示した~~以前~~Neffらの試験（1964年）~~(Neff, 1964)~~（胆管にカニューレを挿入した未経産牛を用いた試験）結果と一致した。

牛における糞中MGAのもう一つの由来は未吸収物質であり、経口投与された非標識

3 参照3の資料が参照している参照9の資料に基づき値を記載した。

MGA の 10～17%が吸収されずに消化管を通過することが報告されている。(参照 3、5、8、9）[3：JECFA FAS45 -2.1.1 (Krzeminski et al., 1981)(Davis, 1973)][5：見直し用資料(2) -3.0, 4.0⑦][8：FAO FNP41/13 -p.75][9：文献(Krzeminski et al., 1981); Table 1] 単位修正：「μg/kg $^{3}$H-MGAeq」→「ng eq/g」

牛では、MGA の投与量の約 15%が未変化のまま尿中に排泄されたが、尿中代謝物に関する情報は得られなかった。（参照 3）[JECFA FAS45 -2.1.2 (Lauderdale, 1977a)]

### （３）薬物動態試験（牛）②

2. (5)から移動：要確認

未経産牛（Holstein 種、2 頭/群）に MGA が 8 週間混餌投与（0、0.5、1.5 又は 5 mg/頭/日）し、薬物動態試験が実施された。投与終了時の各組織又は血液が採材され、血漿中 MGA 濃度は酵素免疫法で、腎臓及び筋肉中濃度は LC-MS 法で、腎周囲脂肪中濃度は GC-MS 法により測定された。

腎周囲脂肪中の MGA 濃度は、血漿中濃度より約 200 倍高く、MGA は脂溶性で脂肪に蓄積することが示された。次に高濃度であった組織は肝臓で、血漿中濃度より約 20～40 倍高く、腎臓及び筋肉では最低量であるが、血漿中濃度より約 5 倍高かった。~~0.5、1.5 又は 5 mg/頭/日を投与した後の腎周囲脂肪中濃度は、2 頭それぞれ、6.5 及び 8.4 ng/g、24.1 及び 33.9 ng/g、56.3 及び 60.9 ng/g であった。肝臓中濃度は、それぞれ、0.8 及び 1.0 ng/g、2.3 及び 7.7 ng/g、5.1 及び 7.6 ng/g であった。腎臓及び筋肉中濃度は、3 投与群全てにおいて 2 ng/g 以下であった。~~各投与群の投与終了時の組織中 MGA 濃度を表 3 に示した。 組織中濃度：表に変更し、灰色部分削除。

別途追加された 2 頭/群に $^{3}$H 標識 MGA を 8 週間混餌投与（0.5 mg/日）し、休薬 48 時間後の腎周囲脂肪中濃度が測定されたが、休薬 0 時間後と 48 時間後の残留量にほとんど差はなかった。（参照 6、A）[JECFA FAS61 -2.1.1 (Daxenberger et al., 1999)][A：文献(Daxenberger et al., 1999)] 単位修正：「μg/kg」→「ng/g」 文献入手

表 3　牛における MGA8 週間混餌投与終了時及び休薬 48 時間後の組織中 MGA 濃度（ng/g）

| 試料 | 投与量（mg/頭/日） | | |
|---|---|---|---|
| | 0.5 | 1.5 | 5 |
| 肝臓 | 0.8、1.0 | 2.3、7.7 | 5.1、7.6 |
| 腎臓 | <2 | <2 | <2 |
| 筋肉 | <2 | <2 | <2 |
| 腎周囲脂肪（投与終了時） | 6.5、8.4 | 24.1、33.9 | 56.3、60.9 |
| 腎周囲脂肪（休薬 48 時間後） | 7.0、7.9 | ／ | ／ |

／：該当なし

### （４）薬物動態試験（ヒト~~、排泄、経口投与~~）

34～57 歳の女性 6 名に、[6-methyl-$^{14}$C]標識 MGA が単回経口投与［3 名には 3.2～

4.8 mg（以下この項で「低用量」という。1～3 μCi に相当）、他の 3 名には 93.5～95.8 mg（以下この項で「高用量」という。2.5～3.0 μCi に相当）］された~~（1.11～3.01 μCi）~~。低用量を投与された女性では投与後 3～7 日間に、高用量を投与された女性では投与後 5～12 日間に尿及び糞を採取した。

放射活性の排泄率は投与 1 日後に急速に低下し、排泄は 10 日以内に概ね完了した。尿及び糞から回収された総放射活性は 44～87%（平均 74%）であった。尿排泄率は高用量と低用量で同程度であったが、糞排泄は低用量の方が緩慢であった。半減期（$T_{1/2}$）は低用量で 3～5 日、高用量では 1 日未満であった。（参照 3、5、I）[3：JECFA FAS45 -2.1.1 (Cooper, 1967; Cooper et al., 1967)][5：見直し用資料(2) -3.0③][I：文献(Cooper et al., 1967)]

（５）代謝試験（~~ラット~~ *in vitro*）

アロクロールで誘導されたラット肝ミクロソームを用いた MGA の *in vitro* 生体内変換試験により、7 種類のモノ水酸化代謝物及び 5 種類のジ水酸化代謝物が HPLC 法で分離され、HPLC-MS 法により同定された。しかしながら、化学構造に関する情報は得られなかった。（参照 3）[JECFA FAS45 -2.1.2 (Metzler, 1999)]

（６）代謝試験（ウサギ）

［II. 1. (1)］において、[6-methyl-$^{14}$C]標識 MGA が投与されたウサギ 2 匹の尿から非抱合ステロイドがクロロホルムで抽出された。

抱合化分画が加水分解され、グルクロン酸抱合体に続いて、硫酸抱合体が得られた。種々の抱合体の亜分画を分配カラムクロマトグラフィーにより更に分離し、当時の標準に従った物理学的測定及び微量化学反応による主要代謝物の同定が試みられた。

尿中に排泄された総放射活性のうち 44%が、非抱合化分画（14%）及び抱合化分画（30%）から回収された。抱合ステロイドは主にグルクロン酸抱合体で、硫酸抱合体は僅か 4.4%であった。非抱合抽出物及びグルクロン酸抱合体の加水分解物のカラムクロマトグラフィーの溶出プロファイルから、2 種類の主要なピーク及び数多くの小さなピークが認められた。ピークの一つは、~~MGA の~~ 6-methylhydroxy-MGA ~~メチル水酸化代謝物~~（~~17-acetoxy-6-hydroxymethyl-16- methylenepregna-4,6-diene-3,20-dione；~~代謝物 C）であり、グルクロン酸抱合体及び非抱合体として排泄された。もう一つの尿中モノ水酸化代謝物は、~~17-acetoxy-2α-hydroxy-6-methyl-16-methylenepregna-4,6-diene-3,20-dione~~2α-hydroxy-MGA（~~2α-hydroxy-MGA~~ 代謝物 A）と推定されたが測定されなかった。尿中の他の放射活性ピーク及び糞中に排泄された放射活性物の同定は試みられなかった。（参照 3、5）[3：JECFA FAS45 -2.1.2 (Cooper, 1967)][5：見直し用資料(2) -3.0②]

【事務局より】　2α-hydroxy-MGA について、化学名をご確認いただきますようお願いいたします。また、別紙 1 にまとめている代謝物/分解物一覧の化学名についても、ご確認いただきますようお願いいたします。

（７）代謝試験（ヒト）

［II. 1. (4)］において、[6-methyl-$^{14}$C]標識 MGA が経口投与された女性 6 名のうち 4

例の尿について従来の加水分解法により抱合代謝物の処理がされた。

尿から回収された放射活性の 68%が親水性 MGA 代謝物抱合体で、22%が非抱合ステロイドであった。抱合体の約 25%がグルクロン酸抱合体で、14%が硫酸抱合体であった。残る加水分解物は同定されなかった。尿の非抱合化分画及び抱合化分画をセライトカラムによるクロマトグラフィーで分離したところ、22 ピークが得られ、少なくとも 13 種類の異なった代謝物が含まれていた。代謝物の一つは、~~2α-hydroxy-MGA~~ 代謝物 A と同定された。この代謝物は抱合体及び非抱合体で存在し、投与~~された $^{14}$C-MGA~~ 放射活性の約 2%を占めた。代謝物 C は検出されなかった。投与~~された $^{14}$C-MGA~~ 放射活性の約 11%に、残る 12 種類の代謝物が含まれていたが、化学構造は同定できなかった。全ての代謝物は MGA のステロイド骨格そのものを保持していると推定された。代謝物の一つは MGA より極性が低く、他はモノ、ジ又はトリ水酸化誘導体で、そのうち少なくとも 7 種類の代謝物には極性から一つ以上の水酸基が存在すると推測された。7 種類の化合物は、親化合物のもつ 4,6-dien-3-one ~~体~~及び 20-ketone ~~位ケトン体であっ~~をそのまま有していた。これらのうち 5 種類は 17α位が酢酸エステルのままであると思われたが、残りの 2 種類は明らかに 17α位が水酸基であった。極性のより高い代謝物の少なくとも一つに 21 位の水酸化が生じていると予想されたが、21 位水酸化代謝物は同定されなかった。

糞では、放射活性の 35%は非抱合体で、22%が抱合体であった。非抱合体及び抱合体加水分解物のクロマトグラフィーにより未変化の MGA の存在が示された。親水性抱合化代謝物の特徴付けはできなかった。（参照 3、5、I）[3：JECFA FAS45 -2.1.2 (Cooper, 1967; Cooper et al., 1967)][5：見直し用資料(2) -3.0③～⑤][I：文献(Cooper et al., 1967)]

（８）MGA 代謝物の同定及び代謝経路

MGA が混餌投与された牛の組織及び排泄物中の代謝物濃度は非常に低かったため、本試験では、*in vitro* 試験系で代謝物を生成及び分離する~~手法~~ことにより、MGA の代謝~~様式~~プロファイルが明らかにされた。試験系は、肉牛から調整された肝ミクロソーム、肝 S9 分画（9,000×g 上清）及び肝スライスを用いて行われた。代謝物を半定量 HPLC 法で分離し、HPLC 法、HPLC-MS 法及び核磁気共鳴（NMR）法により構造が明らかにされた。

牛肝ミクロソームからモノ水酸化代謝物 3 種類、ジ水酸化代謝物 1 種類及び痕跡量の代謝物数種類が生成された。これらの代謝物は多い順に、2β-hydroxy-MGA（代謝物 E）、~~6-hydroxymethyl-MGA（~~代謝物 C~~）~~、15β-hydroxy-MGA（代謝物 D）及び 2β,15β- dihydroxy-MGA（代謝物 B）であった。代謝物 A は痕跡量しか生成しなかったため、その構造は決められなかった。他の痕跡量の代謝物はモノ及びジ水酸化物と同定された。牛肝スライス又は牛肝 S9 分画中に MGA の抱合化物又は他の代謝物は存在しなかった。

ラットミクロソーム、ヒトミクロソーム及びヒト組換えチトクローム P450（CYP）から代謝物 B、C、D 及び E 並びに他の少数の代謝物が生成された。少数の代謝物については、モノ水酸化及びジ水酸化物と同定されたが、構造を~~決め~~同定するには量的に不十分であった。ヒトの CYP による MGA の代謝は、主に CYP3A4 ~~酵素~~によるものであった。（参照 10）[JECFA TRS925 -3.7 Metabolism]

MGA の生体内変換から提唱された代謝経路には、MGA から代謝物 C、D 及び E へのモノ水酸化が含まれる。代謝物 B は、代謝物 D の C2 位の水酸化により生成されるもので、代謝物 E からではないと推測された。このことは、代謝物 D が分離され、代謝物 E は分離されなかったミクロソームの培養物中から、代謝物 B が生成されことと一致する。（参照 11）[FAO FNP41/16 -p48]

上記の試験結果から推定される MGA の代謝経路を図 1 に示した。

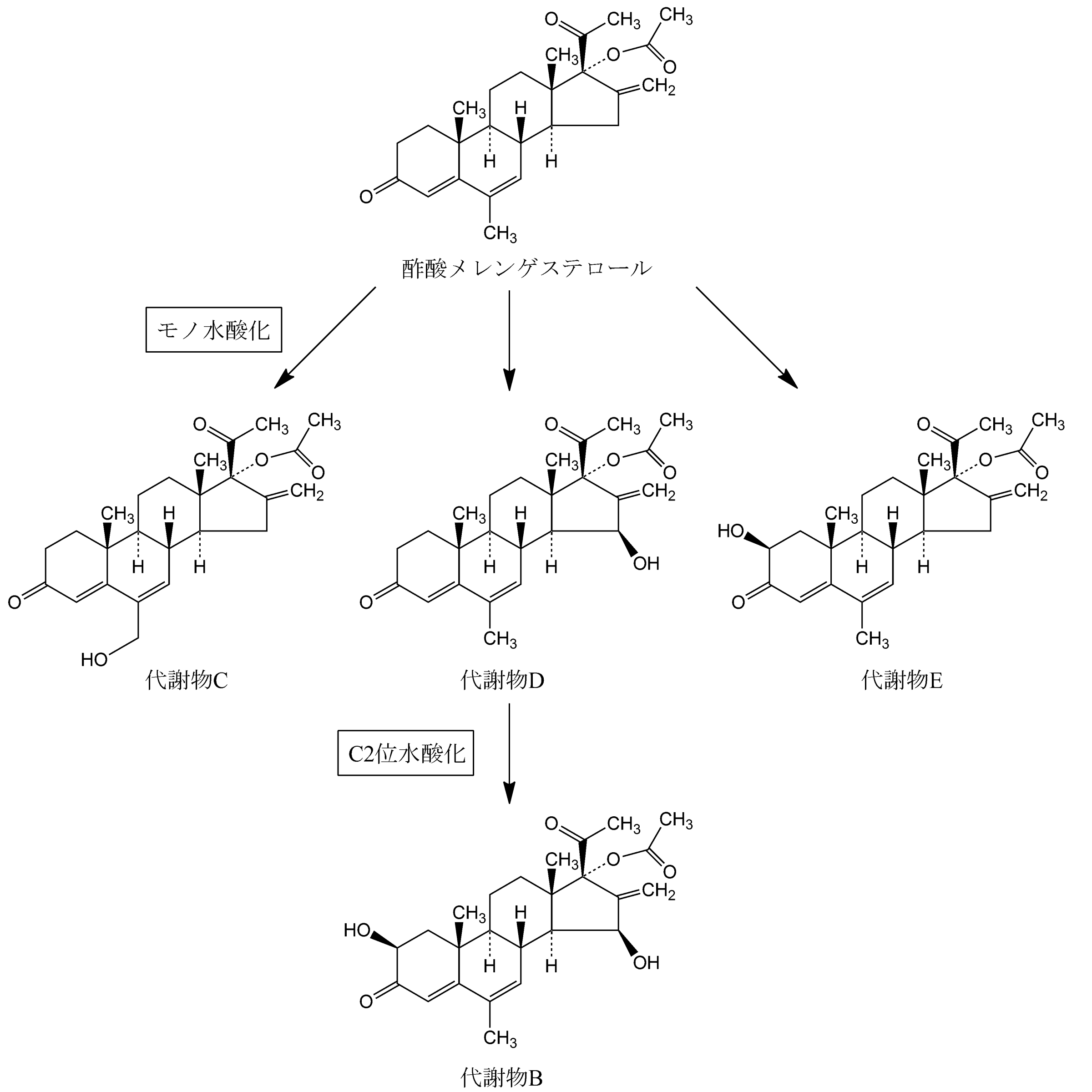



図 1　MGA の推定代謝経路

## ２．残留試験

### （１）残留試験（牛）①

未経産牛（Holstein 種、3 頭）に $^{3}$H 標識 MGA を 15 日間経口投与［4.0 mg/頭（臨

床用量の 8 倍量)］し、残留試験が実施された。投与により定常状態となった日において、1 日投与量の 83±13%が糞尿中から回収された。最終投与 1、4 又は 10 日後の可食組織中の総残留濃度が測定された。

各組織中の総残留濃度を表 4 に示した。その結果から、腎周囲脂肪、内臓脂肪及び大網脂肪中の総残留濃度は同程度であり、同じ比率で消失することが確認された。この 8 倍を過剰投与したときでも、筋肉中には~~放射活性の~~LOD を超える残留はみられなかった~~（表 2）~~。(参照 5、8) [5：見直し用資料(2) -4.0⑤][8：FAO FNP41/13 (Neff & Thornton, 1964b)]

表 4　牛における $^{3}$H 標識~~-~~MGA 経口投与後の総残留濃度（ng eq/g）

単位修正：「μg/kg」→「ng eq/g」　表の体裁修正

| 試料（n=3） | 休薬期間（日） | | |
|---|---|---|---|
| | 1 | 4 | 10 |
| 肝臓 | 43 | 14 | 4 |
| 腎臓 | 6 | LOQ | LOQ |
| 心臓 | 2 | LOQ | LOQ |
| 腰部筋肉 | LOQ [a] | LOQ | LOQ |
| 腰臀部筋肉 | LOQ | LOQ | LOQ |
| 内臓脂肪 | 43 | 22 | 6 |
| 腎周囲脂肪 | 43 | -- | 9 |
| 大網脂肪 | 42 | 22 | 4 |

a：本試験の LOQ は記載されていない。

**（2）残留試験（牛）②**

未経産牛（品種不明、試験開始時体重 234～280 kg、終了時体重 320～380 kg、5 頭）に MGA を 126 日間混餌投与（0.5 mg/頭/日）し、最終投与~~休薬~~2 日後の筋肉、肝臓、腎臓及び脂肪中の MGA 濃度を測定したところ、各組織中には定量できる残留物はみられなかった。LOQ は 25 ng/g であった。(参照 8) [FAO FNP41/13 (Krzeminsky et al., 1971a)]

単位修正：「μg/kg」→「ng/g」

**（3）残留試験（牛）③**

肉用牛（Angus 種、試験開始時平均体重 241 kg、雌雄不明、5 頭/群）に MGA を 113 日間混餌投与（10.0 mg/頭/日）し、残留試験が実施された。投与期間中の 32、61、88 日目及び投与終了 2、4、6、8、10 日後に腎周囲脂肪の生検試料が採取された。

投与終了 4 日後で 1/10 例、8 日後で 5/10 例、10 日後で 9/10 例が LOQ（25 ng/g）未満であった。（参照 5、8） [5：見直し用資料(2) -5.0④][8：FAO FNP41/13 (Krzeminsky et al., 1971d)]　単位修正：「μg/kg」→「ng/g」

**（4）残留試験（牛）④**

未経産牛（品種不明、計 79 頭）に MGA を 48 日間混餌投与（0.4 mg/頭/日）し、残留試験が実施された。投与されたうちの 47 例はその後 14 日間、同用量を投与された。残りの 32 例は、MGA を 0.25 mg/頭/日に減じた用量で 14 日間投与された。0.4 mg/頭/

日投与群については投与終了 0、1、2、4、6 日後に、0.25 mg/頭/日投与群は投与終了 0、1、2 日後に脂肪の生検試料が採取された。

いずれの試料にも LOQ（10 ng/g）を超える残留は認められなかった。（参照 5、8）[5：見直し用資料(2) -5.0② (11)][8：FAO FNP41/13 (Krzeminsky et al., 1973a)] 単位修正：「μg/kg」→「ng/g」

~~（5）残留試験（牛）⑤~~⇒1.(3) 薬物動態試験（牛）②へ移動

### （~~6~~5）残留マーカーについて

JECFA は、第 54 回会合において、牛における残留マーカーである MGA は肝臓中の総残留の 33%、脂肪中の 85%を占めると言及している。（参照 10）[JECFA TRS925 -3.7.Residue data]

~~（7）未変化体の残留（牛）~~⇒1.(2) 薬物動態試験（牛）①へ移動
~~（8）MGA 及び代謝物の生物活性~~⇒9~~10~~.(2) 薬理活性に関する知見へ移動

## ３. 遺伝毒性試験

遺伝毒性試験の結果を表 5 及び表 6 に示した。（参照 3、5、6、B、C~~、D~~）[3：JECFA FAS45 -2.2.4, Table 2][5：見直し用資料(1) -2.5 (Ref46～51)][6：JECFA FAS61 -2.3][B：文献(Metzler & Pfeiffer, 2001)][C：文献(Kayani & Parry, 2008)]~~[D：文献(Kranz et al., 2002)]~~

表 5 MGA の *in vitro* 遺伝毒性試験結果

| 検査項目 | 試験対象 | 用量 | 結果 |
|---|---|---|---|
| 復帰突然変異試験 | *Salmonella typhimurium* TA98、TA100、TA1537 | 250～3,000 μg/plate （±S9 a)） b | 陰性 |
| | *S. typhimurium* TA98、TA100、TA1535、TA1537、TA1538 | 250～2,000 μg/plate（±S9） | 陰性 |
| | *Escherichia coli*、*lacI* 遺伝子変異 | 400 μmol/mL | 陰性 |
| 前進突然変異試験 | V79 細胞（hprt 座位） | 2.5～10 μg/mL（±S9） e | 陰性 c |
| | V79 細胞（hprt 座位） | 50～~~100~~125 μmol/mL | 陰性 |
| 小核試験 | V79 細胞 | 20～100 μmol/mL d | 陰性 |
| | ヒト MCL-5 | 0～40 μg/mL | 陰性 |
| ~~DNA 付加体形成試験（$^{32}$P ポスト~~ | ~~ラット雌雄（肝スライス）~~ | ~~不明~~ | ~~陽性~~ |

| | | | |
|---|---|---|---|
| ~~ラベル法）~~ | | | |
| DNA 損傷試験（アルカリ溶出法） | V79 細胞 | 0.03～1.0 mmol/L（±S9） | 陰性[e] |
| DNA 損傷（不定期 DNA 合成）試験 | ラット初代肝細胞 | 0.25～1,000 μg/mL | 陰性[~~d~~f] |

a：S9；げっ歯類肝 9,000g 上清
b：代謝活性化系については不明。
c：S9 存在下の 5 μg/mL[4]の 1 試験で陽性、もう一つの試験では有意な影響なし。
d：75 及び 100 mmol/L でアポトーシスが誘導された。
e：S9 存在下の 1.0 mmol/L で細胞毒性有。
~~d~~f：500 μg/mL 以上で細胞毒性有。

表 6　MGA の *in vivo* 遺伝毒性試験結果

| 検査項目 | 試験対象 | 用量 | 結果 |
|---|---|---|---|
| 小核試験 | マウス骨髄 | 250～100 mg/kg 体重、24 時間間隔で腹腔内投与を 2 回。 | 陰性 |

【事務局より】　MGA の遺伝毒性に係る情報として、文献 2 報を入手し、表 5 に追記しました。
① 文献 C (Kayani & Parry, 2008)は、小核と異数性についての報告ですが、評価に用いることが可能か、ご確認をお願いいたします。
→【能美専門委員】　確認しました。評価可能です。

② 文献 D (Kranz et al., 2002)は、学会抄録のみとなっています。詳細な用量についての報告はありませんが、MGA の DNA adduct 形成に関する唯一の報告となっています。評価に用いることが可能か、ご確認をお願いいたします。
→【能美専門委員】　学会抄録なので評価には使えません。表 5 から削除しました。

~~2000 年の JECFA による評価以来、MGA の遺伝毒性について追加の *in vitro* 試験が実施されたが、詳細についてはあまり提供されなかった。追加の試験は、V79 細胞における *HPRT* 座遺伝子変異、V79 細胞における小核試験、*Escherichia coli* における *lacI* 変異であるが、いずれも陰性であった。（参照 6）[3：JECFA FAS45 -2.2.4][6：JECFA FAS61 -2.3 (Metzler & Pfeiffer, 2001)]~~ 能美専門委員修正

~~プロゲストーゲンの大部分には遺伝毒性はないが、MGA と構造的な類似性のある幾つかのプロゲストーゲン（17-hydroxy-3-oxo-pregna-4,6-diene 構造を有する）は遺伝毒性を有する可能性がある。MGA 自身についての遺伝毒性試験は一様に陰性であるため、構造的な相似性を有するそれらのものとは異なるようである。MGA には遺伝毒性はないという前回の JECFA の評価が再確認された。~~ 【第 129 回会合確認事項】

【事務局より】　以下について、ご検討いただきますようお願いいたします。

4 ~~原文~~参照 3 の資料には“5 g/mL”とあるが、“5 μg/mL”の誤り~~間違い~~と思われる。

① Progestins で遺伝毒性陽性が報告されているもの及び MGA と構造が類似しているもの（Medroxyprogesterone 等）には、DNA 付加体の形成が報告されていますが、DNA 付加体形成をどう考えてよいでしょうか。（参照 E）[E:文献（Siddique & Afzal, 2008)]
→【能美専門委員】 DNA 付加体の形成は広い意味の遺伝毒性に含まれますが、修復されたり、細胞死により生体から除去され、その毒性（突然変異や染色体異常）が娘細胞に伝わらない可能性があるので、それだけで「生体にとって特段問題となる遺伝毒性」とはなりません。*in vivo* の変異原性試験（遺伝子突然変異）や *in vivo* の試験（小核試験、トランスジェニック試験）で確認される必要があります。

③ DNA adduct 形成をもって、遺伝毒性があると判断することになるのでしょうか。一方で MGA の DNA 損傷（不定期 DNA 合成）試験は陰性の結果となっています。
→【能美専門委員】 上記したように DNA adduct 形成だけで「生体にとって特段問題となる遺伝毒性」とはなりません。

④ 表 5 及び 6 の試験結果から、「MGA は遺伝毒性を示さない」と「生体にとって問題となる」を記載しなくとも問題はないでしょうか。（追加質問事項）

【第 129 回会合】 上記の見え消し部分（赤字見え消し）については、より説明を追記した上で残す旨のご意見をいただきました。
また、以下の案 1 は石川さと子専門委員からいただいたものです。
→【能美専門委員】 DNA adduct 形成が報告されている Megestrol acetate と、MGA の違いは、MGA が 17 位のメチレンを持っていることだけなので「遺伝毒性陽性となる化合物の構造の特徴が MGA にはなく」とは、言えないのではないでしょうか？

【案 1】

標準的な遺伝毒性試験では、ほとんどのプロゲストーゲンが陰性である。しかし、17-hydroxy-3-oxo-prenga-4,6-diene 構造を持つ一部の合成プロゲストーゲンは代謝活性化を受けて遺伝毒性陽性を示す。MGA から同様の活性代謝物が生成するとの報告はこれまでにないが、あらゆる標的細胞において適切な代謝系存在下で DNA 損傷を誘発しないとは言い切ることはできない。しかしながら、遺伝毒性陽性となる化合物の構造の特徴が MGA にはなく、標準的な遺伝毒性試験で陰性であること、類似構造を持つ合成プロゲストーゲンがヒト細胞に DNA 付加体を生成した報告がないこと、プロゲストーゲンの発がん性に関するこれまでの疫学的なデータを総括して考慮すると、MGA はヒトに対する遺伝毒性物質ではないと結論付けられる。（参照 6、12、13）[6：JECFA FAS61 -4][12：文献(Joosten et al., 2004)][13：文献(Brambilla et al., 2002)] 以上のことから、MGA は生体にとって問題となる遺伝毒性は示さないと考えられた。

標準的な遺伝毒性試験では、ほとんどのプロゲストーゲンが陰性である。しかし、17-hydroxy-3-oxo-pre~~n~~gna-4,6-diene 構造を持つ一部の合成プロゲストーゲン（例えば cyproterone acetate）は代謝活性化を受けて遺伝毒性陽性を示す。しかしながら、MGA については *in vitro* 及び *in vivo* 遺伝毒性試験（表 5、6）において陰性結果を示すことから、MGA は生体にとって問題となる遺伝毒性は示さないと考えられた。JECFA も、MGA には遺伝毒性がないという前回の評価を 2009 年に再確認している。 能美専門委

員追記

## ４．単回投与毒性試験

### （１）急性毒性試験（マウス、ラット及びウサギ）

MGA の急性毒性試験が、マウス、ラット及びウサギを用いて経口、皮膚、皮下及び腹腔内投与により実施された。溶媒を大量投与しなければならないことにより限定的な試験となっているが、その結果（表 7）から、げっ歯類における経口又は腹腔内投与による MGA の急性毒性は低いことが示された。いずれの試験においても死亡例はなく、報告された唯一の反応は鎮静であった。（参照 3、4）[3：JECFA FAS45 -2.2.1][4：見直し用資料(1) -2.1.1 (Ref. 1～8)] 非 GLP 試験

表 7　MGA の急性毒性試験結果

| 種（系統） | 性別 | 投与経路 | 溶媒 | $LD_{50}$ (mg/kg 体重) |
|---|---|---|---|---|
| マウス（NR） | NR | 腹腔内 | NR | ＞2,500 |
| マウス (TUC/ICR) | 雌雄 | 腹腔内 | 水 | ＞1,000 |
| ラット (TUC/SPD) | 雄 | 腹腔内 | 水 | ＞2,000 |
| ラット (TUC/SPD) | 雄 | 皮下 | NR | ＞5,000 |
| ラット（NR） | NR | 経口 | MC | ＞8,000 |
| ラット（SD） | 雌雄 | 経口 | コーンオイル | ＞33 |
| ラット（SD） | 雌雄 | 経口 | プロピレングリコール | ＞22 |
| ウサギ（アルビノ） | 雌雄 | 皮膚（擦過） | コーンオイル | ＞22 |
| ウサギ（アルビノ） | 雌雄 | 皮膚（正常） | コーンオイル | ＞22 |
| ウサギ（アルビノ） | 雌雄 | 皮膚（擦過） | プロピレングリコール | ＞22 |
| ウサギ（アルビノ） | 雌雄 | 皮膚（正常） | プロピレングリコール | ＞22 |

NR：記載なし（not reported）

### （２）ウサギ皮膚刺激性試験

最大適用量である 22 mg/kg 体重の MGA をウサギの正常及び擦過皮膚に適用したところ、毒性反応は起きなかった。（参照 3）[JECFA FAS45 -2.2.1]

## ５．亜急性毒性試験

【事務局より】　以下の毒性試験では、混餌濃度が記載されているものは、被験物質摂取量として表の記載に変更しています。

（~~2~~1）10 日間亜急性毒性試験（マウス）<参考資料[5]>

MGA の発情抑制の最小有効~~用~~量~~（minimally effective dose）~~及び発がん性試験の用量設定を目的とした予備試験において、マウス（ICH 系、雌 5 匹/群）に MGA を 10 日間経口投与（0.033、0.166、0.33、1.3、3、5 又は 7.5 mg/kg 体重/日）し、亜急性毒性試験が実施された。無投与対照群がなく、投与法の詳細及び溶媒が記載されていない。被験動物は、体重変化及び膣垢による性周期観察のため、更に 20～23 日間飼育された。

発情抑制に対する最小有効用量は、個体差が大きく 3～5 mg/kg 体重/日であり、平均 4.2 mg/kg 体重/日と計算された。投与に関連した体重の変化及び死亡例は観察されなかった。

参照 5 の資料によれば、最小有効~~用~~量は、牛で 0.0005 mg/kg 体重/日、イヌで 0.01 mg/kg 体重/日、ヒトで 0.0416 mg/kg 体重/日であった。（参照 3、5）［3：JECFA FAS45 -2.2.2 (Goying & Kaczkofsky, 1969a)］［5：見直し用資料(1) -2.1.2 (Ref13)］ 非 GLP 試験

JECFA は本試験に無毒性量（NOAEL）等を設定していない。

~~本試験において、投与期間が短く、発情抑制に対する有意差が不明であることから、NOAEL は設定できなかった。本専門調査会では、本試験を参考試験とした。~~

【事務局より】 参照 5 の資料（Ref13）によれば、最も高い最小有効用量は、牛で 0.0005 mg/kg 体重/日、イヌで 0.01 mg/kg 体重/日、ヒトで 0.0416 mg/kg 体重/日とのことです。（追記しました。）牛での値がとても低いことから、牛では感受性が高いと考えてよいのでしょうか。（これ以上の詳細なデータは得られないとのことです。）

（~~4~~2）20 日間亜急性毒性試験（マウス）①<参考資料[6]>

性成熟したマウス（ICR 系及び C~~H~~3Han/f 系、雌 5 匹/群）に MGA を 20 日間混餌投与［混餌濃度：記載なし（0、0.25、0.5、2.5、5、10、15、20、25 又は 40 mg/kg 体重/日に相当）］し、亜急性毒性試験が実施された。終了時には、被験動物を剖検し、乳腺を顕微鏡的に調べ、乳管の分岐~~（duct branching）~~を基にその発達が調べられた。

試験を通して死亡例は、報告されなかった。

対照群と比較すると、ICR マウスでは乳管の増殖に差はなかったが、C3Han/f マウスでは 15 mg/kg 体重/日以上投与群で乳管の増殖に有意な用量相関的増加が示された。試験の報告書が不完全だったこと及び C3Han/f マウスでは対照群の乳腺発達の程度が高い~~（high grading）~~ことから、無作用量（NO~~A~~EL）は設定できなかったとされた。（参照 3、5）［3：JECFA FAS45 -2.2.2 (Charron et al., 1973)］［5：見直し用資料(1) -2.1.2 (Ref16)］ 非 GLP 試験

JECFA は本試験に NOAEL 等を設定していない。

~~本試験において、試験の詳細が示されていないことから、NOAEL は設定できなかった。本専門調査会では、本試験を参考試験とした。~~

[5] 投与期間が短く、予備試験であることから、参考資料とした。
[6] 試験の詳細が示されていないことから、参考資料とした。

（~~5~~ 3）20 日間亜急性毒性試験（マウス）② ~~＜参考資料＞~~ 要確認

離乳マウス（C3Han/f 系、雌 20 匹/群）に MGA を 20 日間混餌投与［混餌濃度：0、2.5、7.5、12.5、25、50 又は 125 ppm（被験物質摂取量は表 8 参照）］し、亜急性毒性試験が実施された。本試験では 6-methyl-8β-ergoline-acetonitrile[7]（以下「MEA」という。）の存在下及び非存在下において、血清中プロラクチン濃度及び乳腺発達に及ぼす MGA の影響が調べられた。一般状態は毎日、体重は試験の開始時及び終了時に測定されたが、観察結果は報告されなかった。終了時には、血清中プロラクチン濃度を測定し、マウスの乳管増殖を組織学的に調べ、6 段階で採点された。 被験物質摂取量を表へ変更

MGA は、全ての投与群で血清中プロラクチン濃度及び乳腺発達に統計学的に有意な上昇を誘起し（$p$<0.05）、この効果は MEA により部分的に阻害された。血清中プロラクチン濃度と乳腺発達の間に統計学的に有意な相関はなかった。著者らは NOEL を得られなかったとしている。（参照 3、5）[3：JECFA FAS45- 2.2.2 (Skinner et al., 1980)][5：見直し用資料(1) -2.1.2 (Ref15)] 非 GLP 試験

JECFA は、本試験において、NOEL は得られなかったとしている。(参照 3）[3：JECFA FAS45 -3.]

食品安全委員会動物用医薬品専門調査会は、本試験において、全ての投与群に血清中プロラクチン濃度及び乳腺発達に有意な~~増加~~上昇が~~認め~~みられたことから、NOAEL ~~は求められ~~を設定できず、最小毒性量（LOAEL）~~が~~を 0.5 mg/kg 体重/日と~~考えられ~~設定した。

表 8　20 日間亜急性毒性試験（マウス）の被験物質摂取量

| 投与群 | | 2.5 ppm | 7.5 ppm | 12.5 ppm | 25 ppm | 50 ppm | 125 ppm |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 被験物質摂取量<br>(mg/kg 体重/日) | 雌<br>雄 | 0.5 | 1.5 | 2.5 | 5 | 10 | 25 |

【事務局より】　前回までの審議で、「参考資料」としつつも LOAEL を設定していました。LOAEL が設定できるのであれば、参考資料としなくてもよいのではないかと思いますが、ご検討をお願いいたします。
【吉田敏則専門委員】　離乳時のマウスを使った、投与期間が 20 日の特殊な試験ですが、この場合でも参考資料としなくてよいかどうか。

追加の試験により、同量の MGA 及び MEA を 20 日間投与された雌 C3Han/f マウスにおいて、MGA で誘導された血清中プロラクチン濃度の上昇及び MEA によるその阻害が確認された。（参照 3、5）[3：JECFA FAS45 -2.2.2 (Lauderdale et al., 1980)][5：見直し用資料(1) -3.0 (Ref.52)]

（~~3~~ 4）20～21 日間亜急性毒性予備試験（マウス）＜参考資料[8]＞

MGA の血清プロラクチン及び成長ホルモン濃度並びに乳腺発達に対する影響を調べ

[7] プロラクチン阻害剤。
[8] 予備試験であり、組織学的検査が報告されていないことから、参考資料とした。

るため、春機発動期のマウス（C3Han/f 系、雌 5 匹/群）に MGA を 20～21 日間混餌投与［混餌濃度：記載なし（0、0.05、0.25、0.5、1.5、2.5、5 又は 25 mg/kg 体重/日に相当~~量~~)］を投与し、亜急性毒性試験の予備試験が実施された。終了時には、体重を記録し、子宮及び卵巣を組織学的に調べ、プロラクチン及び成長ホルモンの血清中濃度が~~放射免疫法~~RIA により測定された。

体重が用量依存的に増加し、対照群と比較すると 2.5 mg/kg 体重/日以上投与群で統計学的に有意であった。子宮重量の用量相関的変化は三相性で、高用量で有意な増加を示したが、卵巣重量には影響がなかった。これらの器官の組織学的な評価結果は報告されなかった。

25 mg/kg 体重/日投与群の血清プロラクチン濃度は、対照群及び他の投与群と比較して統計学的に有意に高かった。成長ホルモンの血清中濃度には変化はなかった。(参照 3)
[JECFA FAS45 -2.2.2 (Lauderdale et al., 1972)] 非 GLP 試験

JECFA は、2.5 mg/kg 体重/日以上で体重の有意な増加がみられたこと及び 25 mg/kg 体重/日でプロラクチン濃度が上昇し、卵巣重量には影響がないが子宮重量が増加したことから、NOEL を 1.5 mg/kg 体重/日と設定している。（参照 3）[JECFA FAS45 -3.]

~~本試験において、組織学的検査が報告されていないことから、NOAEL は設定できなかった。本専門調査会では、本試験を参考試験とした。~~

（~~4~~5）30 日間亜急性毒性試験（マウス） 要確認

成獣マウス（TUC-ICR 系、雌雄各 5 匹/群）に MGA を 30 日間強制経口投与［0（溶媒)、1、3、10 又は 30 mg/kg 体重/日、溶媒：0.25%MC］し、亜急性毒性試験が実施された。一般状態及び体重が毎日記録された。終了時には、Ht、Hb 及び白血球分画の測定並びに肉眼的及び組織学的検査が実施された。毒性所見を表 9 に示した。 毒性所見：表に変更、以下灰色部分削除。

3 mg/kg 体重/日投与群の体重が僅かに増加し~~、30 mg/kg 体重/日投与群の体重が対照群より低下し~~た。投与による一般状態及び血液学的な変化はみられなかった。

~~MGA のプロゲステロン作用のため、高用量で子宮及び卵巣重量が減少し、3 mg/kg 体重/日以上投与群では黄体はみられなかった。~~投与による肉眼的及び顕微鏡的病変は報告されなかった。体重抑制は MGA のコルチコステロイド活性によると思われた。著者らは NOEL を 1 mg/kg 体重/日と設定している。（参照 3、5）[3：JECFA FAS45 –2.2.2 (Goyings & Kaczkofsky, 1969b)] [5：見直し用資料(1) -2.1.2 (Ref14)] 非 GLP 試験

JECFA は、本試験において、NOEL を 1 mg/kg 体重/日と設定している。（参照 3）
[3：JECFA FAS45 –3]

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、3 mg/kg 体重/日以上投与群~~で~~の雌に黄体の欠如がみられ~~なくなっ~~たことから、NOAEL ~~は~~を 1 mg/kg 体重/日と~~考えられ~~設定した。

表 9　マウスを用いた 30 日間亜急性毒性試験の毒性所見　新規作成

| 投与量 | 雌雄 |
|---|---|

| | |
|---|---|
| 30 mg/kg 体重/日 | ・体重の低下<br>・子宮及び卵巣重量の低下（雌） |
| ~~10 mg/kg 体重/日以上~~ | |
| 3 mg/kg 体重/日以上 | ・黄体の欠如（雌） |
| 1 mg/kg 体重/日 | 毒性所見なし |

【事務局より】
① 毒性所見を表にしました。子宮及び卵巣重量の低下について、JECFA 評価書では「高用量（the high dose）」とあり、具体的な投与量については記載がありません。そのため、参照 5 の資料に基づき、30 mg/kg 体重/日投与群の所見として記載しています。
【吉田敏則専門委員】 了解しました。

【事務局より】
② 3 mg/kg 体重/日投与群でみられた僅かな体重増加について、毒性所見とせずに本文に記載したままとするか、本文からも削除するか、ご確認をお願いいたします。
【吉田敏則専門委員】 本文に記載したままでよいと思います。

### （６）28 日間亜急性毒性試験（ラット）＜参考資料[9]＞

幼若ラット（Wistar 系、雌雄各 5 匹/群）に MGA を 28 日間強制経口投与（0、1、3 又は 10 mg/kg 体重/日）し、亜急性毒性試験が実施された。一般状態及び体重が毎日記録され、摂餌量は毎週測定された。終了時には、全ての動物について血液学的パラメーター、肝臓、腎臓、生殖器官、副腎、脾臓及び胸腺の重量並びに肉眼所見が記録された。雌雄各 2 匹~~例~~/群について 18 種類の器官及び組織の病理組織学的検査が実施された。

全ての投与群において、摂餌量及び最終的な平均体重が低下し、飼料効率が増加したが、1 mg/kg 体重/日投与群では有意でなかった。

終了時の血液像は 10 mg/kg 体重/日投与群で用量相関的な Ht の増加、WBC 及びリンパ球数の絶対数の減少を示した。

雌では、対照群と比較すると、副腎、子宮及び卵巣の絶対及び相対重量が全ての投与群で有意に低下した（P 値不明）。雄では、3 及び 10 mg/kg 体重/日投与群で副腎重量が低下し、10 mg/kg 体重/日投与群で胸腺、脾臓の重量並びに肝臓、腎臓及び精巣の絶対重量（相対重量ではなく）が低下した。副腎及び雌生殖器官の萎縮を除くと、3 及び 10 mg/kg 体重/日投与群の雄の副生殖腺の縮小が、唯一の投与による肉眼的変化であった。ほとんどの投与群の雌の卵巣に黄体がみられなかった。副腎には皮質重量の低下及び帯状分化の不良が観察された。雌の胸骨骨髄に用量依存的な脂肪増加が観察された。

著者らは、これらの効果が MGA のプロゲステロン及びコルチコステロイド活性に起因するものとしているが、結果からは、MGA が全ての用量で毒性が発現しているとみなしている。NOEL は得られなかった。（参照 3、5）[3：JECFA FAS45 -2.2.2 (Webster & Frielink, 1962b)][5：見直し用資料(1) -2.1.2 (Ref18)] 非 GLP 試験

[9] 病理組織学的検査が全動物に実施されていないことから、参考資料とした。

JECFA は、本試験において、NOEL 等は得られなかったとしている。（参照 3）[3：JECFA FAS45 -3.]

~~本試験において、病理組織学的検査が全動物に行われていないことから、NOAEL は設定できなかった。~~

> 【事務局より】　NOAEL を設定できなかった試験ですが、参考資料とすべきか、ご検討をお願いいたします。（参考資料とする場合は、その理由を脚注に記載しますので、ご確認をお願いいたします。）
> 【吉田敏則専門委員】　幼若ラットを使用した試験のため、参考資料でよいと思います。
>
> 【吉田敏則専門委員】
> （波線部について）皮質のみを測定？　“帯状分化”は特殊な用語ですが、副腎皮質の 3 層構造に異常があるということ？

### （7）90 日間亜急性毒性試験（ラット）①

ラット（SD 系、雌雄各 10 匹/群）に MGA を 90 日間混餌投与［混餌濃度：0、280、2,800 又は 5,400 ppb（被験物質摂取量は表 10 参照）］し、亜急性毒性試験が実施された。 被験物質摂取量を表へ変更 毒性所見を表 11 に示した。 毒性所見：表に変更、以下灰色部分削除。

毎日の一般状態の観察では有害反応は認められず、死亡例も観察されなかった。

体重及び摂餌量に~~で~~は、投与群と対照群の間に有意な差はみられなかった。~~体重増加量及び摂餌量には、0.3 mg/kg 体重/日投与群の雌で軽度の低下がみられた。~~

血液像及び尿分析には影響はみられなかった。

~~血清 Chol.及び ALT 活性が~~0.15 及び 0.3 mg/kg 体重/日投与群の雌で ALT の上昇~~増加し~~がみられたが、~~ALT 活性は~~正常範囲であった。

~~雌では卵巣、子宮及び副腎の重量に用量依存的な低下がみられ、0.3 mg/kg 体重/日投与群で有意であった（P 値不明）。投与に関連した唯一の肉眼的所見は、全ての投与群の雌の乳腺の腫大であった。~~

病理組織学的変化としては、乳腺過形成、中程度の乳頭状子宮内膜過形成（papillary endometrial hyperplasia）、黄体形成不全及び骨髄低形成であり、~~これらの変化の発生頻度は 0.15 及び 0.3 mg/kg 体重/日投与群で有意（P 値不明）であったが、~~0.015 mg/kg 体重/日投与群では有意ではないが、複数動物に観察された。著者らは、NOEL は 0.015 mg/kg 体重/日であるが、この用量では僅~~わず~~かなホルモン影響が明らかであったとしている。（参照 3）[JECFA FAS45 -2.2.2 (Paterson & Hall, 1983)] GLP 対応試験

JECFA は、最小有効用量を 0.015 mg/kg 体重/日と設定している。（参照 3）[JECFA FAS45 -3.]

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、0.15 mg/kg 体重/日投与群において有意にみられた乳腺過形成、中程度の乳頭状子宮内膜過形成、黄体形成不全及び骨髄低形成が~~有意にみられており~~、0.015 mg/kg 体重/日投与群においても有意ではないがみられていることから毒性影響と判断し、NOAEL ~~は求められ~~を設定できず、LOAEL ~~は~~を 0.015 mg/kg 体重/日と~~考えられ~~設定した。

表 10　90 日間亜急性毒性試験（ラット）の被験物質摂取量

| 投与群 | | 280 ppb~~m~~ | 2,800 ppb~~m~~ | 5,400 ppb~~m~~ |
|---|---|---|---|---|
| 被験物質摂取量<br>（mg/kg 体重/日） | 雌雄 | 0.015 | 0.15 | 0.3 |

表 11　ラットを用いた 90 日間亜急性毒性試験の毒性所見　新規作成

| 投与量 | 雄 | 雌 |
|---|---|---|
| 0.3 mg/kg 体重/日 | 0.3 mg/kg 体重/日以下<br>毒性所見なし | ・体重増加量及び摂餌量の軽度の低下*<br>・卵巣、子宮及び副腎重量の低下 |
| 0.15 mg/kg 体重/日以上 | | ・Chol.上昇<br>・乳腺過形成、中程度の乳頭状子宮内膜過形成、黄体形成不全<br>・骨髄低形成 |
| 0.015 mg/kg 体重/日 | | ・乳腺腫大* |

*：有意差なし

【事務局より】　毒性所見を表にしました。
　剖検所見でみられた「乳腺腫大」が 0.015 mg/kg 体重/日以上でみられ、組織学的所見では「乳腺過形成」がみられておりますが、0.015 mg/kg 体重/日では有意でなかったとのことです。0.015 mg/kg 体重/日投与群でみられた乳腺腫大及び有意でない乳腺過形成について、毒性ととらえるか、ご確認をお願いいたします。（この結果により、NOAEL/LOAEL の設定についてもご確認をお願いいたします。）
【吉田敏則専門委員】　薬理的な作用か、また、乳腺の病変の程度によるので議論が必要かと思います。

**（８）90 日間亜急性毒性試験（ラット）②＜参考資料[10]＞**

［II. 7~~9~~. (1)］で MGA が子宮内暴露された $F_1$ に当たる離乳ラット（F344 系、雌雄各 25 匹/群）に MGA を 90 日間混餌投与［混餌濃度：0 又は 500 ppb（0 又は 0.055 mg/kg 体重/日に相当）］し、亜急性毒性試験が実施された。更に、終了時には、特定の雌についてプロゲステロン、プロラクチン及びエストロゲンの血清中濃度が放射免疫測定法(RIA)により調べられた。最終と殺前に、全ての雌について発情の有無が調べられた。

投与による死亡例も、一般状態、体重増加量又は摂餌量への影響も観察されなかった。

雌の血液像には Ht、RBC 及び Hb に、軽度であるが有意な増加がみられた。

血清及び尿パラメーターにおける投与による唯一の影響は、雌の尿の潜血の有意な増加であった。

雌の卵巣及び副腎重量、雄の精巣重量が有意に低下した。

ホルモン濃度、性周期及び卵巣の組織学的所見は対照と変わらなかったため、卵巣機能には投与による影響はみられなかった。

[10] 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。

他の投与による肉眼的及び組織学的変化はみられなかった。著者らは、NOELは得られなかったが、0.055 mg/kg 体重/日はNOELに近いと判断している。（参照3、5）[3：JECFA FAS45 -2.2.2 (Wood et al., 1983)][5：見直し用資料(1) -2.1.2 (Ref. 20)] GLP対応試験

JECFAは、本試験において、NOELは得られなかったとしている。（参照3）[JECFA FAS45 -3.]

~~本試験において、投与量が1用量しか設定されていないことから、本専門調査会では、本試験を参考試験とした。~~

### （９）22日間亜急性毒性試験（ウサギ）＜参考資料[11]＞

成熟ウサギ（アルビノ、雌雄各4匹/群）にMGAを22日間、隔日で筋肉内投与［50 mg/匹（20 mg/kg 体重/日に相当）］し、亜急性毒性試験が実施された。対照群には同量の溶媒が与えられた。毒性兆候、体重及び血液学的パラメーターについて中間検査が実施された。試験終了時に、血清生化学検査並びに肉眼的及び組織学的変化についての剖検が実施された。

最後の週に全ての動物が下痢、痩せ及び飲水量増加を伴う顕著な体重減少を示した。

血液学的所見は、相対的リンパ球数の顕著な減少でWBCの減少にも反映した。この影響は 11 日目の最初の出血から試験期間を通じて持続した。凝固反応の低下によって示される血小板機能の障害が認められた。

試験の最終の週に投与群の雄4匹全てが心臓穿刺による採血後、大量の心臓周囲及び胸腔内の出血により死亡した。

MGAにより、Chol.及びGluの上昇、AST、LDH及びALPの上昇、高脂血清中のカルシウム及びリンの中程度の減少を含む血清化学パラメーターに顕著な変化を引き起こした。

投与に関連する肉眼的所見は、腫大し変色した肝臓、筋肉萎縮及び副腎萎縮であった。

組織学的所見は、グリコーゲン沈着、細胞質空胞化を伴う肝細胞腫脹、副腎の球状帯の顆粒の減少及び軽度の尿細管の石灰沈着であった。著者らは、NOELを得られなかったとしている。吉田敏則専門委員：顆粒⇒空胞または脂質？（参照3、5）[3：JECFA FAS45 -2.2.2 (Goyings & Kaczkofwski, 1969c)][5：見直し用資料(1) -2.1.2 (Ref.22)] 非GLP試験

JECFAは本試験にNOAEL等を設定していない。

~~本試験において、投与量が1用量しか設定されていないことから、本専門調査会では、本試験を参考試験とした。~~

### （１０）29日間亜急性毒性試験（イヌ）

イヌ（ビーグル種、1～2歳齢、雌雄各2匹/群）にMGAをゼラチンカプセルで29日間経口投与（0、1、3又は10 mg/kg 体重/日）し、亜急性毒性試験が実施された。毒性所見を表12に示した。 毒性所見：表に変更、以下灰色部分削除。

---

[11] ~~非経口~~筋肉内投与で実施されてい~~ある~~る~~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。

死亡例はなかった。

3 ~~及び 10~~ mg/kg 体重/日以上投与群では、一過性で軽度～中程度の利尿作用がみられ、試験終了時には 10 mg/kg 体重/日投与群で尿比重の低下を伴っていた。

全ての投与動物が、~~体重の軽度の低下及び~~摂餌量の増加を示した。

~~中間時点及び終了時の血液学的検査でみられた唯一の所見は、10 mg/kg 体重/日投与群での WBC の増加であり、1 例では異常な高値を示した。~~

~~3 及び 10 mg/kg 体重/日以上投与群では、中間検査及び終了時に ALP 活性が軽度に上昇した動物がみられ、終了時には 10 mg/kg 体重/日投与群の雌に ALT 活性が中等度に上昇した。~~

臓器重量では、~~全ての投与群で、肝臓の絶対及び相対重量の用量相関的な増加並びに副腎重量の低下がみられた。~~腎臓（全ての投与群）、膵臓（3 及び 10 mg/kg 体重/日投与群）及び精巣（1 及び 10 mg/kg 体重/日投与群）の重量が増加し、子宮（10 mg/kg 体重/日）、脾臓（全ての投与群）及び肺（全ての投与群）の重量が低下したが、厳密に用量依存的ではなかった。

~~全ての投与群に病理組織学的変化がみられ、肝臓、尿細管上皮及び副腎束状層（細くみえる）に脂肪染色陰性の淡明な細胞質を有する狭小化した細胞（グリコーゲンの浸潤を示唆）がみられた。10 mg/kg 体重/日投与群の全例の骨髄に未熟赤血球の軽度の増加がみられたが、末梢血には影響はみられなかった。~~著者らは、投与に関連した影響の多くは最低用量で明らかであったことから、NOEL を得られなかったとしている。（参照 3、5）[3：JECFA FAS45 -2.2.2 (Clark & Albert, 1962), 3.][5：見直し用資料(1) -2.1.2 (Ref.19)]

非 GLP 試験

JECFA は、本試験において、NOEL は得られなかったとしている。（参照 3）[JECFA FAS45 -3.]

食品安全委員会動物用医薬品専門調査会は、本試験において、全ての投与群で肝臓の絶対及び相対重量の増加並びに副腎重量の低下がみられたことから、NOAEL ~~は~~を~~求められ~~設定できず、LOAEL ~~は~~を 1 mg/kg 体重/日と~~考えられ~~設定した。

表 12　イヌを用いた 29 日間亜急性毒性試験の毒性所見　新規作成

| 投与量 | 雌雄 |
|---|---|
| 10 mg/kg 体重/日 | ・尿比重の低下<br>・WBC 増加<br>・骨髄に未熟赤血球の軽度の増加 |
| 3 mg/kg 体重/日以上 | ・ALP 上昇 |
| 1 mg/kg 体重/日以上 | ・体重の軽度の低下<br>・肝臓の絶対及び相対重量の増加、~~。~~副腎重量の低下<br>・肝臓、尿細管上皮及び副腎束状層に脂肪染色陰性の淡明な細胞質を有する狭小化した細胞（グリコーゲンの浸潤を示唆） |

【事務局より】　毒性所見を表にしました。
①　1 mg/kg 体重/日以上投与群でみられた病理所見について、用語等ご確認をお願いいたします。
【吉田敏則専門委員】　肝臓と腎臓でよいですが、副腎の皮質でグリコーゲンの増加はないのでは。単なる脂肪滴の減少のことだと思います。

【事務局より】
②　NOAEL 設定のエンドポイントについて、臓器重量の変化を記載しておりますが、適切か、再度ご確認をお願いいたします。（肝臓の臓器重量の変化を毒性~~と病理~~所見とした方がよいでしょうか。）
【吉田敏則専門委員】　実際の重量値が確認できないと判断ができないと思われます。

【吉田敏則専門委員】
N数が少ないですが。

~~6．ホルモン作用に関する試験~~⇒ 8．ホルモン作用に関する試験へ移動

## ~~7~~ 6．慢性毒性及び発がん性試験

### （１）2年間慢性毒性試験（イヌ）

性成熟に達したイヌ（ビーグル種、年齢記載なし）に MGA をゼラチンカプセルで 2 年間経口投与（0、1、2 又は 8 μg/kg 体重/日）し、慢性毒性試験が実施された。投与量、投与期間及び動物数の詳細を表 13 に示した。8 μg/kg 体重/日投与群の雌の投与量は、投与開始 1 年後に 4 μg/kg 体重/日に減量されている（以下「高用量（8/4 μg/kg 体重/日）」という。）。試験期間中、雌には発情期の 120 日後に投与を開始した。本試験の目的は、雌で発情を抑制する投与量付近での MGA の影響を調べることである。本試験は、イヌを用いた 1 世代繁殖試験［II. 7~~9~~. (4)］と同時に行われている。毒性所見を表 14 に示した。 毒性所見：表に変更、以下灰色部分削除。

1 及び 2 μg/kg 体重/日投与群の雌雄又は~~高用量~~8 μg/kg 体重/日投与群の雄では、投与による有害作用はみられなかった~~が、MGA は、高用量（8/4 μg/kg 体重/日）投与群の全ての雌で発情を抑制した。高用量（8/4 μg/kg 体重/日）投与群では、2 年目に子宮蓄膿症が観察された~~。吉田敏則専門委員："有害作用" で適切？

血清生化学及び尿検査が、投与期間中、~~の~~8 回の間隔をおいて行われ、1 及び 2 μg/kg 体重/日投与群の雌雄に統計学的に有意な異常~~は~~を示さ~~れ~~なかった~~が、最終の 2 回の採材において高用量（8/4 μg/kg 体重/日）投与群の雌に血清 ALP 活性の有意な上昇がみられた~~。血清生化学又は尿検査の他の測定項目は、用量依存的又は経時的な関係はみられないか、正常範囲内に留まった。

~~血液学的検査では、18 か月後の高用量（8/4 μg/kg 体重/日）投与群の雌のみに有意な影響がみられた。これらの影響は、分葉核好中球（segmented neutrophils）による WBC の増加、RBC、Hb 及び Ht の減少であった。これらの変化のほとんどは、MGA で誘導された生殖器異常を有する雌に起こっていた。~~

剖検により、対照群と比較すると全ての MGA 投与群で、子宮頸部の重量に用量相関的な増加が認められた。この変化はその動物の生殖状態と関連付けられるものと考えら

れた。その他の器官重量には~~有意な~~投与による有意な影響は観察されなかった。雄に観察された変化は投与に関連したものではなかった。

肉眼的及び顕微鏡的検査により、触診可能な乳腺腫瘤~~（mammary nodule）~~が対照群、1 及び 2 μg/kg 体重/日投与群の雌各 1 例に明らかとなった。組織学的には、これらの腫瘤は、悪性又は前腫瘍性変化を伴わない正常な小葉腺房組織で構成されてい~~るようにみえ~~た。プロゲステロンに感受性のある雌において、MGA は、8 μg/kg 体重/日で乳腺に腫瘍性変化を誘起することはなかった。吉田敏則専門委員修文

~~高用量（8/4 μg/kg 体重/日）投与群の雌にみられた唯一の投与による病理組織学的変化は、プロゲステロン様物質に特徴的な子宮内膜の変化であった。~~なお、一般状態、血液学的検査、血清生化学検査、尿検査、臓器重量並びに肉眼的及び病理組織学的検査について、1 及び 2 μg/kg 体重/日投与群の雌雄並びに~~高用量~~8 μg/kg 体重/日投与群の雄に、対照群との差はみられなかった。著者らは、ホルモン影響に対する NOEL を 1 μg/kg 体重/日と設定し、発がん性のエビデンスはないとしている。（参照 3、5、15）[3：JECFA FAS45 -2.2.3 (Goyings, 1973)][5：見直し資料(1) -2.1.1 (Ref.27)][15：文献(Goyings, et al., 1977)]

非 GLP 試験

JECFA は、本試験において、ホルモン影響に対する NOEL を 1 μg/kg 体重/日と設定している。（参照 3）[JECFA FAS45 -3.]

本試験において、高用量（8/4 μg/kg 体重/日）投与群の雌に、投与 2 年目に子宮蓄膿症がみられ、血清 ALP ~~活性が増加し~~の上昇、投与 18 か月後には WBC の~~増加~~上昇、RBC、Hb 及び Ht の~~減少~~低下がみられた。また、プロゲステロン活性に特徴的な子宮内膜の変化も観察されている。1 及び 2 μg/kg 体重/日投与群の雌雄並びに~~高用量~~8 μg/kg 体重/日投与群の雄に対照群との差はみられなかったことから、食品安全委員会動物用医薬品専門調査会は、本試験における NOAEL ~~は~~を 2 μg/kg 体重/日と~~考えられ~~設定した。

表 13　イヌの慢性毒性試験における投与量、投与期間及び動物数

| 投与量（μg/kg 体重/日） | 投与期間 | 動物数 |
|---|---|---|
| 0 | 2 年間 | 雄 3 匹、雌 10 匹 |
| 1 | | 雄 3 匹、雌 20 匹 |
| 2 | | 雄 3 匹、雌 10 匹 |
| 8 | | 雄 3 匹 |
| 高用量（8/4） | 各 1 年間※ | ~~雄 3 匹、~~雌 10 匹 |

※　8 μg/kg 体重/日を 1 年間投与後、引き続き 4 μg/kg 体重/日を 1 年間投与した（計 2 年間）。

表 14　イヌを用いた 2 年間慢性毒性試験の毒性所見　新規作成

| 投与量 | 雄 | 雌 |
|---|---|---|

| | | |
|---|---|---|
| 8（雄）、8/4（雌）μg/kg 体重/日 | 8 μg/kg 体重/日以下<br>毒性所見なし | ・発情抑制<br>・分葉核好中球による WBC 上昇並びに~~、~~ RBC、Hb 及び Ht の低下（投与 18 か月後、生殖器異常を有する雌）<br>・ALP 上昇<br>・子宮蓄膿症（2 年目）<br>・子宮内膜の変化 |
| 2 μg/kg体重/日以下 | | 2 μg/kg 体重/日以下<br>毒性所見なし |

| |
|---|
| 【事務局より】　毒性所見を表にしました。<br>【吉田敏則専門委員】　了解しました。 |

~~８．発がん性試験~~

### （~~１~~２）24.5 か月間発がん性試験（マウス）　要確認

幼若マウス（ICR 交雑系、雌雄各 61～71 匹/群）に MGA を 24.5 か月間混餌投与（0、0.017 又は 17 mg/kg 体重/日）し、発がん性試験が実施された。一般状態、死亡及び体重増加が調べられ、また、死亡動物、中間と殺動物及び終了時の生存動物について、肉眼的及び顕微鏡的検査が実施された。

全ての~~重量~~体重測定時点に~~つ~~おいて、17 mg/kg 体重/日投与群の雌雄は対照群及び 0.017 mg/kg 体重/日投与群に比べ有意に重かった。

17 mg/kg 体重/日投与群の雌の生存率は 746 日目で 4.4%と、対照群の 21%より有意な低下を示した。

良性及び悪性腫瘍の発生数について、投与群の雄では変化はなかったが、雌では対照群の 28%から、0.017 mg/kg 体重/日投与群で 12%、17 mg/kg 体重/日投与群では 18%に低下した。17 mg/kg 体重/日投与群の雌の腫瘍による死亡率は対照群より低かった。乳腺がんが全群において数例の雌に観察されたが、17 mg/kg 体重/日投与群で最も多かった（対照群で 2/71 例、0.017 mg/kg 体重/日投与群で 1/61 例、17 mg/kg 体重/日投与群で 4/68 例）。他の腫瘍又は肉眼的及び病理組織学的な非腫瘍性病変には、投与による増加はみられなかった。著者らは、この試験条件下では MGA に発がん性はないと結論づけたが、確固たる結論を導くことはできなかった。（参照 3、5）[3：JECFA FAS45 -2.2.3 (Lauderdale & Goyings, 1972)][5：見直し用資料(1) -2.2.2 (Ref.28)]　非 GLP 試験

JECFA は、ICR マウスにおける MGA の発がん性について、確固たる結論は得られなかったと判断している。（参照 3）[JECFA FAS45 -3.]

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 17 mg/kg 体重/日投与群で有意な生存率の低下がみられたことから、NOAEL を 0.017 mg/kg 体重/日と設定した。　NOAEL 等の設定の検討　また、17 mg/kg 体重/日投与群に乳腺がんが、僅かで有意ではない増加が観察されたが、2 用量での実施及び公比が大きいことから、ICR マウスにおける MGA の発がん性について確かな結論は導き出せな~~かっ~~いと判断した。

| |
|---|
| 【事務局より】 |

① 発がん性の結論について、上記の案では、「有意でない増加が観察されたこと」が理由となっていますが、結論が出せない理由は、2 用量で実施されており、また公比が大きいことが理由ではないかと思いますので、理由を追記修正しました。ご確認をお願いいたします。
【吉田敏則専門委員】 マウスの他の発がん性試験で NOAEL が確認できているので、ここでは設定不要では。

【事務局より】
② 発がん性試験であっても、可能であれば NOAEL 等を設定することとしています。
本試験について、臨床症状や非腫瘍性病変の内容から、本試験に NOAEL 等を設定できるか、ご検討をお願いいたします。（案を追記しています。）

**（３）27 か月間発がん性試験（マウス）**

5 種類の日齢からなる春機発動後のマウス［C3Han/f 系、雌 80 匹/投与群（雌 16 匹/日齢/群）］に MGA を 27 か月間混餌投与［混餌濃度：0、2.5、5、7.5、12.5、25、50、75 又は 125 ppm[12]（被験物質摂取量は表 15 参照）］し、発がん性試験が実施された。投与開始時の日齢は 63～84、77～91、84～105、98～112、119～126 日齢であった。以前の試験結果（データの提出なし）から、44 日齢の雌 C3Han/f マウスは 100 日齢よりも血清中プロラクチン濃度が高いことが示されている。本試験では、若齢時より MGA を投与されたマウスは、プロラクチンに対する感受性がより高く、乳腺発達がより顕著であり、乳腺腫瘍ウイルス等の乳腺腫瘍形成に関わる他の因子による相互作用を受けやすいことを示唆している。本試験は死亡率が 90%に達した 27 か月で終了した。 被験物質摂取量を表へ変更

~~投与による~~一般症状について、投与による影響は観察されず、投与群間の体重は同程度であった。

全ての腫瘍及び乳腺腫瘍の発生に、有意な日齢の影響がみられ、投与群及び対照群の両方とも、最も日齢の若い群に、より高い発生率が認められた。全ての対照群の乳腺腫瘍の平均発生率は 3.8%であり、試験開始時の日齢が若い同じ系統のマウス（42~44 日齢）を用いて行われた別の Lauderdale & Goyings の試験（1972 年）の 25%より著しく低かった。~~腫瘍又は乳腺腫瘍を有するマウス数に、~~最も高い腫瘍発生率が 10 mg/kg 体重/日投与群でみられ、次~~が~~に 1.5、5、2.5、25 mg/kg 体重/日投与群の順であったことから、腫瘍又は乳腺腫瘍を有する動物数に用量相関性はみられなかった。和訳修正 最も若い日齢群における発生~~は、~~率に対照群より有意な差が認められた。全ての腫瘍の発生率が高くなったのは乳腺腫瘍数の増加によるものである。15 mg/kg 体重/日投与群における発生率が低い原因は特定されなかった。最初の腫瘍の検出時期に MGA の影響はみられなかった。

子宮の変化を除くと、報告された他の肉眼的及び顕微鏡的病変は自然発生的であると考えられ、投与によらず全ての群に観察された。対照群と比較すると 5 mg/kg 体重/日以上投与群で検出された内膜炎を伴う嚢胞状子宮内膜過形成の有意な増加は、プロゲステロン作用であることが示唆された。著者らは、生物学的影響に対する最小有効用量を 5

12 参照 3 の資料が参照している参照 5 の資料に基づき、単位を "ppm"と記載した。

mg/kg 体重/日とし、乳腺腫瘍に対する NOEL を 1 mg/kg 体重/日と設定している。（参照 3、5）[3：JECFA FAS45 -2.2.3 (Goying et al., 1976)][5：見直し用資料(1) -2.2.2 (Ref.30)]

非 GLP 試験

JECFA は、乳腺腫瘍の誘導に対する NOEL を 1 mg/kg 体重/日と設定している。（参照 3）[3：JECFA FAS45 -3.]

本試験において、プロラクチンに感受性の高い若齢群により高い腫瘍の発生がみられている。これは、MGA は、直接作用する発がん性物質ではなく、放出されたプロラクチンが腫瘍の原因となっていることを示唆している。これらのことから、食品安全委員会動物用医薬品専門調査会は、乳腺腫瘍に対する NOAEL ~~は、~~を 1 mg/kg 体重/日と~~考えられ~~設定した。

表 15　27 か月間発がん性試験（マウス）の被験物質摂取量

| 投与群 | | 2.5 ppm | 5 ppm | 7.5 ppm | 12.5 ppm | 25 ppm | 50 ppm | 75 ppm | 125 ppm |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 被験物質摂取量（mg/kg 体重/日） | 雌<br>雄 | 0.5 | 1 | 1.5 | 2.5 | 5 | 10 | 15 | 25 |

~~（４）乳腺増殖性病変の修飾作用に関する特殊試験（マウス）~~⇒~~8~~9.(6)へ移動

（~~５~~４）29 か月間発がん性試験（マウス）

マウスの乳腺腫瘍の発生率の増加は、MGA によって誘導された血清プロラクチン濃度の上昇によるものであるという仮説を調べるために、マウス（C3Han/f 系、44 日齢、雌 80 匹/群）に MGA を最大 29 か月間混餌投与［混餌濃度：0、2.5、7.5、12.5、25、50 又は 125 ppm（被験物質摂取量は表 16 参照。以下この項において「MGA 単独投与群」という。）］し、発がん性試験が実施された。また、0、5、10 又は 25 mg/kg 体重/日を混餌投与する追加群を設定し、この追加群には、乳腺腫瘍の形成増加がプロラクチン阻害剤の存在によって低下するはずであるという仮定に基づき、MEA が 100 µg/匹の用量で連日皮下投与（以下この項において「MGA＋MEA 投与群」という。）された。各群の構成を表 17 に示した。雌 80 匹/群の死亡率が 90%に達するまで最大 883 日間投与された。　被験物質摂取量を表へ変更

1 年目では、体重増加量が MGA 濃度の増加とともに直線的に増加し、~~MGA~~ 15 ppm[13] 投与群で対照群より有意な差を示した。2 年目では、全ての ~~MGA~~ 投与群で体重増加量が低下し、MEA はこの変化に有意な影響を示さなかった。

生存率は、MGA 単独投与群及び MGA＋MEA 投与群の両方において、MGA 濃度が増加すると直線的に減少しており、死亡率が 90%に達した時点は、対照群及び ~~MGA~~ 0.5 mg/kg 体重/日~~を~~投与~~した~~群の 30 か月~~から~~に対し、~~MGA~~ 25 mg/kg 体重/日~~を投与した~~の MGA 単独投与群では 21 か月、~~MGA~~ 25 mg/kg 体重/日の~~を投与した~~ MGA＋MEA 投

13 kg 体重当たりの投与量は不明。参照 3 及び 5 の資料に基づき記載した。

与群では25か月~~となっ~~であった。22 ppm[14]投与群で対照群と有意な差がみられた。MGA＋MEA 投与群の生存期間は、対応する MGA 単独投与群より大幅に延長した。

投与による非腫瘍性病変は生殖器に限局しており、全ての投与群で卵巣嚢腫~~（全てのMGA 投与群、MGA 24 ppm（投与群で有意）~~及び嚢胞性子宮内膜腺~~(cystic endometrial glands)（全ての MGA 投与群、MGA 4 ppm 投与群で有意）~~の減少（それぞれ 24 及び 4 ppm 投与群で有意）[15]、嚢胞性子宮内膜過形成~~(cystic endometrial hyperplasia)~~（~~全ての MGA 投与群、MGA~~1.5～2.5 mg/kg 体重/日投与群で有意）、子宮腺筋症の増加（全ての ~~MGA~~ 投与群で有意）、~~及び~~25 mg/kg 体重/日投与群で急性子宮筋層炎~~（MGA 25 mg/kg 体重/日投与群）~~の増加~~であっ~~がみられた。MEA はこれらの影響を抑制することは出来なかった。 単位変更：「mg/kg 飼料」→「ppm」

乳腺では、種々の分化の程度の腺がん及び時折良性腺腫が確認された。MGA は 1 群当たりの乳腺腫瘍数及び腫瘍を持つ動物数に有意な影響を及ぼした。MGA 投与量と腫瘍発生の増加に用量反応パターンがみられ、1.5 mg/kg 体重/日投与群で対照群との間に統計学的有意差が認められた。MEA は、乳腺腫瘍の発達を部分的に阻害し、投与群及び対照群において腫瘍発生を減少~~し~~させた。各投与群及び対照群から選抜した動物の乳腺腫瘍の電子顕微鏡検査からマウス乳腺腫瘍ウイルスに共通するウイルス粒子が明らかにされた。MGA は、MEA 投与の有無に関わらず卵巣の管状腺腫の発達を抑制し、発生率を用量相関的に減少~~し~~させ、有効投与量は 5～10 mg/kg 体重/日であった。

肝細胞腺腫の発生率の有意な用量相関的増加が、MEA 投与の有無に関わらず 5 mg/kg 体重/日以上投与群でみられた。1.5 mg/kg 体重/日投与群で腫瘍発生率が増加したが、5 mg/kg 体重/日まで用量反応関係は一定でなかった。肝細胞の過形成結節又は肝細胞がんの発生率に投与による影響はみられなかった。著者らは、投与群でもプロラクチンを抑制された動物では、乳腺腫瘍の発生率が減少したことから、MGA はプロラクチン分泌を促進することにより、雌 C3Han/f マウスの乳腺腫瘍発生を間接的に修飾していると結論づけた。乳腺腫瘍に対する NOEL を 0.5 mg/kg 体重/日と設定したが、卵巣及び子宮の変化に対する NOEL は設定できなかった。肝細胞腺腫の発生に対する最小有効用量を 5 mg/kg 体重/日と設定している。（参照 3、5）[3：JECFA FAS45 -2.2.3 (Raczniak et al., 1985)][5：見直し用資料(1) -2.2.2 (Ref.31)] GLP 対応試験 メーカー追加詳細データあり。

JECFA は、MGA は恐らくプロラクチンの分泌を促進することにより、雌 C3Han/f マウスの乳腺腫瘍発生を間接的に修飾していると結論した。卵巣及び子宮に係る MGA のホルモン影響に対する NOEL は得られなかったが、乳腺の腫瘍発生に関する NOAEL は 0.5 mg/kg 体重/日であったとしている。また、肝細胞腺腫の最小~~誘発~~有効~~用~~量は 5 mg/kg 体重/日であったとしている。（参照 3~~、4~~）[3：JECFA FAS45, -3.]

本試験において、MEA は乳腺腫瘍形成を部分的に阻害し、腫瘍発生を減少させたことから、MGA がプロラクチンの分泌を促進することにより、乳腺腫瘍発生を間接的に修飾すると考えられた。食品安全委員会動物用医薬品専門調査会は、~~MGA~~1.5 mg/kg 体重/日投与群で乳腺腫瘍の有意な増加が認められたことから、乳腺腫瘍発生に~~関~~対する

[14] kg 体重当たりの投与量は不明。参照 3 及び 5 の資料に基づき記載した。
[15] kg 体重当たりの投与量は不明。参照 3 及び 5 の資料に基づき記載した。

NOAEL ~~は、~~を 0.5 mg/kg 体重/日と~~考えられ~~設定した。5 mg/kg 体重/日以上投与群で肝細胞腺腫が増加した。C3Han/f 系を用いたの他の長期投与した試験［II. 6. (3) 及び (5)］ではみられていない。しかし、完全には否定できないことから、肝細胞腺腫に対する NOAEL を 2.5 mg/kg 体重/日と設定した。

表 16　29 か月間発がん性試験（マウス）の被験物質摂取量

| 投与群 | | 2.5 ppm | 7.5 ppm | 12.5 ppm | 25 ppm | 50 ppm | 125 ppm |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 被験物質摂取量（mg/kg 体重/日） | 雌<br>雄 | 0.5 | 1.5 | 2.5 | 5 | 10 | 25 |

表 17　29 か月間発がん性試験（マウス）における群構成

| 群構成 | MGA 投与量（mg/kg 体重/日） | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 0 | 0.5 | 1.5 | 2.5 | 5 | 10 | 25 |
| MGA 単独投与群 | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ |
| MGA＋MEA 投与群 | ○ | | | | ○ | ○ | ○ |

○：設定、／：非設定

【事務局より】
① 肝細胞腺腫は、他の C3Han/f マウスを用いた長期投与試験では報告がありません。偶発的なものとみることはできますでしょうか。
【吉田敏則専門委員】　実際の頻度がわからいのであれば、原案でよいと思います。

【事務局より】
② 事務局案として、肝細胞腺腫に対する NOAEL を記載しましたので、ご確認をお願いいたします。
【吉田敏則専門委員】　了解しました。

（~~2~~ 5）33 か月間発がん性試験（マウス）

離乳未成熟マウス（C3Han/f 系、雌雄各 64～71 匹/群）に MGA を最大 33 か月間混餌投与（0、0.017 又は 17 mg/kg 体重/日）し、発がん性試験が実施された。以前に行われた Lauderdale らの短期試験~~［II. 5. (4)］~~（1972 年）から、この系統のマウスは ICR マウスよりも、高用量の MGA の乳腺発達に対するホルモン作用の影響への感受性が高いことが示されている。［5.(4)］では ICR マウスの報告はなく、この Lauderdale らの試験が［5.(4)］を指すか確認が取れないことから削除しました。

対照群と比較すると、17 mg/kg 体重/日投与群では最初の 24 か月間の雌の体重が有意に増加し、寿命が短縮された。

雄では、悪性腫瘍数には影響せず良性腫瘍発生率が低下した。雌では、対照群（27/71 例）と比較すると悪性腫瘍発生率が 0.017 mg/kg 体重/日投与群（19/66 例）で減少し、17 mg/kg 体重/日投与群（41/66 例）では有意に増加した。悪性腫瘍の高発生は乳腺がんの増加によるものであった（対照群の 8/71 例から 0.017 mg/kg 体重/日投与群の 10/66 例及び 17 mg/kg 体重/日投与群の 35/66 例）。良性腫瘍発生率は投与群で僅かに減少した。非腫瘍性の肉眼的及び病理組織学的な唯一の病変は、17 mg/kg 体重/日投与群の雌

4 例の子宮内膜過形成であったが、統計学的には有意差はなかった。（参照 3、5）[3：JECFA FAS45 -2.2.3 (Lauderdale & Goyings, 1972)][5：見直し用資料(1) -2.2.2 (Ref29)] 非GLP 試験

JECFA は、本試験でみられた腫瘍発生率の増加は MGA の直接的な影響によるものではなく、プロラクチン濃度の上昇によるプロモーション作用によるものと推測している。（参照 3）[JECFA FAS45 -3.]

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、17 mg/kg 体重/日投与群の雄では投与の影響がみられず、雌で寿命の短縮がみられたことから、雄における NOAEL を最高用量の 17 mg/kg 体重/日、雌における NOAEL を 0.017 mg/kg 体重/日と設定した。発がん性が示唆された。

【第 130 回会合以降】 公比が 1000 ととても大きいです。NOAEL の設定、発がん性の判断についての記載を検討願います。サルの投与試験［8.(1)］のように、0.017～17 mg/kg 体重/日と設定することは可能でしょうか。
【吉田敏則専門委員】 他のマウスの試験で設定できているので、ここであえて設定しなくてもよいのではないでしょうか。

### （６）発がん性に関するその他の知見

プロゲステロン受容体 (PR) ノックアウトマウスを用いた動物モデルから、~~プロゲステロン受容体~~ PR は乳腺の成長促進及び腫瘍プロモーションの役割を果たしている (the progesterone receptor has a role in growth stimulation and tumour promotion in mammary carcinogenesis) ことが示されている。動物園のネコ科動物は乳がんのリスクが高いが、避妊用インプラントに MGA を使用するとリスクが更に増加すること、また、ほとんどのネコ科動物の乳腺腫瘍においてエストロゲン受容体 (ER) の発現は低いが~~プロゲステロン受容体~~ PR の発現は維持されていることが注目されている。（参照 6、16、17）[6：JECFA FAS61 -2.2.1 (Schairer, 2002; Conneely et al., 2003)(Munson & Moresco, 2007)][16：文献(Schairer, 2002)][17：文献(Conneely et al., 2003)]

【事務局より】 波線部の訳のご確認をお願いいたします。

## ~~9~~ 7. 生殖発生毒性試験

2 世代繁殖毒性試験は実施されていない。

### （１）１世代繁殖毒性試験（ラット~~、投与期間：交配前～離乳~~）

ラット（F344 系、雄 15 匹及び雌 30 匹/群）に MGA を混餌投与［混餌濃度：0、500、1,000、2,000、4,000 又は 8,000 ppb（被験物質摂取量は表 18 参照）］し、1 世代繁殖毒性試験が実施された。雄は交配前 60 日間、雌は交配前 14 日間混餌投与され、交配、妊娠、哺乳及び離乳を通じて更に 55 日間継続して投与された。 被験物質摂取量を表へ変更

毒性所見を表 19 に示した。 毒性所見：表に変更、以下灰色部分削除。

毎日の一般状態の観察では、投与による有害作用はみられなかった。

交配前の体重増加には有意な影響はみられなかった。交配前に行った膣の細胞学的検

査では、~~0.13 mg/kg 体重/日以上投与群で発情が抑制されたが、~~0.06 mg/kg 体重/日以下投与群では 1 例を除き全例が発情周期に入った。※~~母動物~~交配が成功した雌の数は対照群及び0.03 mg/kg 体重/日投与群で少なくとも25例、0.06 mg/kg 体重/日投与群で7例、0.13 mg/kg 体重/日以上投与群では 0 又は 1 例であった。 ※原文では "dam" とありますが、次のパラグラフで妊娠率に触れており、分かりづらいことから修正しました。ご確認をお願いいたします。

母動物の受胎率及び妊娠率は、0.03 mg/kg 体重/日投与群で対照群との間に有意差はなく、0.06 mg/kg 体重/日投与群で 1 例のみが妊娠した。対照群及び 0.03 mg/kg 体重/日投与群の 10 例の受精動物を妊娠 13 日に安楽死処置したが、着床率（着床痕の数/黄体数）に差はみられず、胚吸収数は 0.03 mg/kg 体重/日投与群で対照値の 2 倍であった。妊娠期間は投与に影響されなかった。同腹児数、出生児数及び児の性比に投与に関連した変化はみられなかった。 吸収胚数 2 倍について→ボックス参照

新生児に外見上の異常は観察されなかった。哺乳 0、4、14 及び~~-~~21 日の児の体重に有意な差はみられなかった。哺乳期間中の児の死亡率は投与により影響されなかった。

$F_0$ 動物は終了検査時~~に採血し、血液学的検査（雌雄）、血清生化学検査（のみ）、及び血清プロラクチン、プロゲステロン及びエストロゲン濃度の測定（雌のみ）を行った。~~の血液学的検査値（雌雄）及び血清生化学検査値（雄のみ）に投与の影響はみられなかった。雌の血清エストロゲン濃度に影響はみられなかった~~が、0.06 mg/kg 体重/日以上投与群で血清プロラクチン濃度が有意に増加上昇し、0.13 mg/kg 体重/日以上投与群でプロゲステロン濃度が有意に低下した。~~

~~全ての投与群の雌で副腎、卵巣及び子宮の重量が直線的で用量依存的に低下し、0.06 mg/kg 体重/日投与群で対照群との間に有意差がみられた。~~雄の副腎又は生殖器官の重量に投与による影響はみられなかった。剖検で唯一認められた所見は、1 mg/kg 体重/日投与群の雌における副腎の小型暗色調であった。 剖検所見について取扱いをご検討ください。

組織学的検査から、~~投与母動物の卵巣及び子宮に、用量相関的な排卵抑制、黄体発達の抑制及び乳頭状子宮内膜過形成等の特徴的なプロゲステロン作用が明らかであった。これらの変化は、0.13 mg/kg 体重/日以上投与群で有意であった。これらの作用は、MGA のホルモン活性に関連したものと考えられた。~~雄の生殖器官には投与による形態的な変化はみられなかった。著者らは、母体毒性、雄の繁殖能及び児の発達に対する NOEL は 0.03 mg/kg 体重/日であったが、この濃度ではまだホルモン的な影響を有するとしている。（参照 3、5）[3：JECFA FAS45 -2.2.5.a (Raczniak et al., 1983)][5：見直し用資料(1) -2.3 (Ref32)] GLP 対応試験

JECFA は、生殖毒性に係る NOEL を 0.03 mg/kg 体重/日と設定している。（参照 3）[JECFA FAS45 -3.]

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、雌動物では 0.06 mg/kg 体重/日以上投与群で妊娠率の低下、血清プロラクチン濃度の有意な増加、副腎、卵巣及び子宮重量の有意な低下がみられたことから、雌動物における NOAEL ~~は~~を 0.03 mg/kg 体重/日、雄では、投与に関連した影響がみられなかったことから、NOAEL ~~は~~を最~~大~~高~~投与~~用量である 1 mg/kg 体重/日と~~考えられ~~設定した。また、児動物の得られた 0.03 mg/kg 体重/日投与群では投与に関連した影響がみられなかったことから、児動物に対す

る NOAEL ~~は~~を 0.03 mg/kg 体重/日と~~考えられ~~設定した。

表 18　1 世代繁殖毒性試験（ラット）の被験物質摂取量　単位修正

<table>
<tr><td colspan="2">投与群</td><td>500<br>~~ppm~~ppb</td><td>1,000<br>~~ppm~~ppb</td><td>2,000<br>~~ppm~~ppb</td><td>4,000<br>~~ppm~~ppb</td><td>8,000<br>~~ppm~~ppb</td></tr>
<tr><td>被験物質摂取量<br>(mg/kg 体重/日)</td><td>雌<br>雄</td><td>0.03</td><td>0.06</td><td>0.13</td><td>0.25</td><td>1</td></tr>
</table>

表 19　1 世代繁殖毒性試験（ラット）における毒性所見　新規作成

<table>
<tr><td rowspan="2">投与群</td><td colspan="2">親動物</td><td rowspan="2">児動物</td></tr>
<tr><td>雄</td><td>雌</td></tr>
<tr><td>1 mg/kg 体重/日</td><td rowspan="5">1 mg/kg 体重/日以下<br>毒性所見なし</td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>~~0.25 mg/kg 体重/日以上~~</td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>0.13 mg/kg 体重/日以上</td><td>・発情抑制<br>・血清プロゲステロン濃度低下<br>・排卵抑制、黄体発達抑制、乳頭状子宮内膜過形成</td><td></td></tr>
<tr><td>0.06 mg/kg 体重/日以上</td><td>・血清プロラクチン濃度上昇<br>・~~雌：~~副腎、卵巣及び子宮重量の低下（0.06 mg/kg 体重/日）</td><td></td></tr>
<tr><td>0.03 mg/kg 体重/日</td><td>~~0.03 mg/kg 体重/日以下~~<br>毒性所見なし</td><td>~~0.03 mg/kg 体重/日以下~~<br>毒性所見なし</td></tr>
</table>

【リスク管理機関からの回答】

妊娠 13 日の吸収胚数（Resorption sites/dam）について、統計学的な解析は行っておりません。

しかしながら、報告書 本文の Abstract の 2 枚目の第 3 パラグラフ、本文 page 12 の”G. Statistical analysis”の第 4 パラグラフ、本文 page 16～17 の”H. Thirteen day gestational Sacrifice”の第 1 パラグラフ、本文 page 21 の”G. Conclusion”の第 3 パラグラフ、に記載されているように(添付 PDF ファイルの赤線囲い部分)、黄体数、生存胎児数については統計学的処理を行い、有意差は認められておりません。

ご存知のとおり、そもそも、吸収胚数は、「黄体数」－「生存胎児数」で計算されます。

今回、対照群の黄体数、生存胎児数がそれぞれ 11.8、10.9 で、500 μg/kg 投与群の黄体数、生存胎児数がそれぞれで 13.3、11.3 といずれも対照群より統計学的な有意差はみられないものの多い値になっております。したがって、必然的に、吸収胚数が対照群で 0.88、500 μg/kg 投与群で 2.0 となります。しかしながら、黄体数、生存胎児数に統計学的な有意差が認められていないことから、この吸収胚数の差については、毒性学的な意義はないと判断されます。

【江馬専門参考人】

「吸収胚」の意味について混乱があるようです。

評価書では、吸収胚数（黄体数―生存胎児数）とありますが、

黄体数―生存胎児数は、着床前胚死亡数と着床後胚・胎児死亡数の合計。

着床前胚死亡数は、黄体数―着床痕数。

着床後胚・胎児死亡数は、着床数－生存胎児数。

### （２）１世代繁殖毒性試験（イヌ~~、投与期間：240 日間又は発情まで~~）＜参考資料[16]＞

イヌ（品種及び年齢不明、雌 4 匹/群）に MGA を 240 日間又は発情が起きるまで経口投与［混餌濃度：10、50、100、200、400 又は 800 μg/匹/日（被験物質摂取量は表 20 参照）］し、1 世代繁殖毒性試験が実施された。対照群は設けられなかった。被験物質が生殖能に及ぼす影響を評価するため、投与期間中又は投与終了後に発情を観察し、発情期に交配が行われた。 被験物質摂取量を表へ変更

20 μg/kg 体重/日以上投与群の全ての雌で発情が抑制された。低用量では、発情に対し影響がみられたとしても一部にすぎないか、又は無影響であった。1 匹を除き全動物が投与期間中又は投与終了後に性周期を示したが、性周期が抑制された動物は、10 μg/kg 体重/日投与群の 42 日から 40 μg/kg 体重/日投与群の 157 日まで、投与量の増加に従って次第により長い間隔の性周期を示した。性周期を示した雌は全て交配され、正常な児を分娩した。著者らは、この試験は生殖毒性に対する NOEL を設定するためには不十分であったとしている。（参照 3、5）[3：JECFA FAS45 -2.2.5a（Sokolowski & Van Ravenswaay, 1969a）][5：見直し用資料(1) -2.3（Ref33）] 非 GLP 試験

JECFA は本試験に NOAEL 等を設定していない。

表 20　1 世代繁殖毒性試験（イヌ）の被験物質摂取量

| 投与群 | | 10 μg/匹/日 | 50 μg/匹/日 | 100 μg/匹/日 | 200 μg/匹/日 | 400 μg/匹/日 | 800 μg/匹/日 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 被験物質摂取量（μg/kg 体重/日） | 雌<br>雄 | 1 | 5 | 10 | 20 | 40 | 80 |

### （３）１世代繁殖毒性試験（イヌ~~、投与期間：分娩予定前 5～16 日間又は妊娠期間中~~）＜参考資料[17]＞

イヌ（品種不明、雌 6 匹）に分娩予定前の 5～16 日間又は交配日から全妊娠期間中、発情を抑制する最低有効量 100 μg/匹の MGA を連日経口投与し、MGA の受胎及び妊娠に及ぼす効果が検討された。

被験物質を全妊娠期間中投与した場合に妊娠期間が僅かに延長したが、受胎、妊娠又は分娩には投与による影響はみられなかった。雌は全て正常に分娩し、出生児及び死産児の数は 2 群で同じであった。児は全て外見正常で、同時期に分娩した無処置対照群の雌からの児（雄 277 g、雌 286 g）と比較するとより重かった（分娩前 5～16 日間投与群の平均が雄 314 g、雌 293 g；全妊娠期間中投与群の平均が雄 342 g、雌 325 g）。

全妊娠期間中に MGA が投与された群の性比（雄/雌）が高かったが、偶発的なものと考えられた。（参照 3、5）[3：JECFA FAS45 -2.2.5a（Sokolowski & Van Ravenswaay, 1969b）][5：見直し用資料(1) -2.3（Ref34）] 非 GLP 試験

JECFA は本試験に NOAEL 等を設定していない。

[16] 対照群が設けられていないことから、参考資料とした。
[17] 投与群が 1 用量のみの設定であることから、参考資料とした。

（４）１世代繁殖毒性試験（イヌ~~、投与期間；交配を含む２年間~~）

イヌ（ビーグル種、年齢不明~~記載なし~~）にMGAをゼラチンカプセルで２年間経口投与（0、1、2又は8 μg/kg体重/日）し、１世代繁殖毒性試験が実施された。雌には発情期の120日後に投与を開始した。雄は同じ投与群の雌と試験期間中２回交配し、~~高用量~~8 μg/kg体重/日投与群の雄は1 μg/kg体重/日投与群の雌ともう一度交配した。~~高用量~~8 μg/kg体重/日投与群の雌は、１年目に発情が誘起されなかったため、発情がみられるまで投与を中止し、最初の交配5日後に、4 μg/kg体重/日の投与を再開した（以下「高用量（8/4 μg/kg体重/日）」という。）。投与量、投与期間及び動物数の詳細を表21に示した。交尾、受胎、妊娠、分娩等の受胎率生殖能に関する指標及び同腹児の一般状態が調べられた。本試験は、イヌを用いた慢性毒性試験［II. 6. (1)］の一部である。毒性所見を表22に示した。 毒性所見：表に変更、以下灰色部分削除。

中間及び終了時に、高用量（8/4 μg/kg体重/日）投与群で発情が抑制されたが、全例で投与終了後12～201日以内に発情が戻った。1及び2 μg/kg体重/日投与群の全ての雌が受胎し、分娩した~~が、高用量（8/4 μg/kg体重/日）投与群の平均妊娠数は、受胎数が減少したこと及び交尾数が限られていたことの両方の理由により低下した~~。妊娠期間に影響はみられなかった。

繁殖成績に関しては、１年目では、8 μg/kg体重/日までの投与群において、分娩及び同腹児のパラメーターに変化はなかった~~が、２年目の交配後、高用量（8/4 μg/kg体重/日）投与群で分娩が障害された結果、死亡児数が有意に増加した~~。児に異常はみられなかった。高用量（8/4 μg/kg体重/日）投与群で、雄の児の割合及び平均出生時重量が軽度に低下したが有意差はなかった。全ての群で平均離乳時体重は同程度であった。著者らは、MGAの雄の受胎生殖能に対する有害作用は認められず、~~なかった。~~また、雌の生殖毒性に対するNOELは2 μg/kg体重/日であるとしている。（参照3、5）[3：JECFA FAS45 -2.2.5.a (Sokolowski & Goyings, 1972), 3.][5：見直し用資料(1) -2.3 (Ref35, 36)] 非GLP試験

JECFAは、MGAは~~に~~雄の繁殖能に影響を示さないとしている。また、繁殖能に対するNOELを2 μg/kg体重/日と設定している。（参照3）[JECFA FAS45 -3.]

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、高用量（8/4 μg/kg体重/日）投与群の雌に~~おいて、~~発情抑制~~、~~及び分娩障害がみられたことから、雌動物に対するNOAEL~~は、~~を2 μg/kg体重/日と~~考えられ~~設定した。雄及び児動物に対しては、投与に関連する影響がみられなかったことから、雄動物に対するNOAELを8 μg/kg体重/日、児動物に対するNOAEL~~は~~を4 μg/kg体重/日と~~考えられ~~設定した。

表21　イヌの１世代繁殖毒性試験における投与量、投与期間及び動物数

| 投与量（μg/kg体重/日） | 投与期間 | 動物数 |
|---|---|---|
| 0 | ２年間 | 雄3匹、雌10匹 |
| 1 | | 雄3匹、雌20匹 |
| 2 | | 雄3匹、雌10匹 |
| 8 | | 雄3匹 |
| 高用量（8/4） | 各1年間※ | ~~雄3匹、~~雌10匹 |

※　8 μg/kg 体重/日を 1 年間投与後、引き続き 4 μg/kg 体重/日を 1 年間投与した（計 2 年間）。

表 22　イヌを用いた 1 世代繁殖毒性試験の毒性所見　新規作成

| 投与量 | 雄 | 雌 | 児動物 |
|---|---|---|---|
| 8（雄）、8/4（雌）μg/kg 体重/日 ~~（雌）~~ | 8 μg/kg 体重/日以下<br>毒性所見なし | ・発情抑制<br>・受胎数の減少及び交尾数の限定による妊娠数の低下<br>・分娩障害及び死産数の増加（2 年目） | 4 μg/kg 体重/日以下<br>毒性所見なし |
| 2 μg/kg 体重/日 | | 2 μg/kg 体重/日以下<br>毒性所見なし | |

【第 130 回会合】　イヌの慢性毒性試験と合わせて NOAEL を設定するか検討。
【江馬専門参考人】
雄の使用数が少数（3/群）なので、雄の NOAEL 設定には無理があると思います。

**（５）1 世代繁殖毒性試験（牛~~、投与期間：妊娠 90 日から分娩後 35 日までの 236 日間~~）**

**＜参考資料[18]＞**

未経産の妊娠牛（ホルスタイン種、体重不明、雌 63 頭）に MGA を混餌投与（0 又は 2 μg/kg 体重/日）し、1 世代繁殖毒性試験が実施された。投与は妊娠 90 日から分娩後 35 日までの 236 日間実施された。

妊娠、分娩、死産数及び子牛の分娩時体重に MGA の影響は認められなかった。雌牛 8 頭及び子牛 4 頭/群の肉眼的及び顕微鏡的観察では、MGA が関与する異常はみられなかった。子宮及び卵巣の所見は正常範囲内であった。（参照 3、5）[3：JECFA FAS45 -2.2.5a (Goyings et al., 1966)][5：見直し用資料(1) -2.3 (Ref37～39)]　非 GLP 試験

同様な試験計画で、未経産又は経産牛［複数の品種、計 134 頭（対照群 79 頭及び投与群 55 頭）］に MGA を 889、736 又は 371 日間混餌投与（0 又は 2 μg/kg 体重/日）し、1 世代繁殖試験が実施された。混餌飼料を除去して分娩させたため、MGA は 297～655 日間、群によって試験期間の 67～74%に当たる期間投与された。

最終投与後の発情期にみられた一時的な受胎率の低下を除き、発情、受胎率及び妊娠率で調べられた繁殖能には投与による影響はみられなかった。MGA が投与された雌牛から生まれた子牛の平均重量（33 kg）は対照群（35 kg）より低下したが、離乳時体重は同程度であった。投与群及び対照群から無作為に選び、終了時に安楽死処置した 46 例には、卵胞又は黄体のいずれの発達にも投与による影響はみられなかった。（参照 3、5）[3：JECFA FAS45 -2.2.5a (Lauderdale, 1971a)][5：見直し用資料(1) -2.3 (Ref37～39)]

JECFA はこれらの試験に NOAEL 等を設定していない。

18 投与群が 1 用量のみの設定であることから、参考資料とした。

【事務局より】　JECFA の評価書では、本試験(2 試験)及び(6)の試験を、“2.2.5 Reporouctive toxicity (a) one-generation studies”の項に記載しています。牛に対する安全性試験ともみえるのですが、この 2 試験の取扱いについて、ご確認をお願いいたします。
　また、牛を用いた試験であることから、参考資料とするか、ご検討をお願いいたします。
【江馬専門参考人】
参考資料でよろしいと思います（体重不明、未経産又は経産牛、複数の品種等の実験条件、記載の不備があるため)。

**（６）１世代繁殖毒性試験（牛~~、投与期間：約 210～774 日齢~~）＜参考資料[19]＞**

　子牛［複数の品種、雄、計 38 頭（対照群 21 頭及び投与群 17 頭)］に MGA を約 210 日齢の離乳から 774 日齢まで混餌投与（0 又は 1 mg/頭~~（17 頭)~~）し、雄牛の受胎能に対する影響が検討された。投与 655～745 日後に繁殖を開始し、MGA 1 mg/頭/日が投与された 2 頭の雌と交配させた。

　対照群と比較して、投与群ではより高い割合で雄が初回の雌への乗駕を拒否した。対照群の雄牛と交配した雌牛の受胎率は初回が 77%、2 回目が 43%であり、投与群の雄牛と交配した雌牛ではそれぞれ 74%と 86%であった。対照群の雄牛と交配した雌牛では交配 43 日後の妊娠率は 85%で、投与群の雄牛と交配した場合は 91%であった[20]。

　MGA が投与された雄牛の精子容積、総精子数、運動精子の割合、精子運動性の程度及び射精までに要した時間は対照群と同等であった。

　投与終了 32 日後のと殺時、投与群の雄牛 14 例の平均精巣重量は 657 g で対照群 17 例は 668 g であった。

　試験結果から、雄牛の受胎能に明らかな有害作用はないことが示されている。(参照 3、5）[3：JECFA FAS45 -2.2.5a (Lauderdale, 1970)][5：見直し用資料(1) -2.3 (Ref.41)]

　JECFA は本試験に NOAEL 等を設定していない。

**（~~11~~７）生殖毒性試験（ウサギ~~、投与期間：妊娠/授乳期、幼若期又は成獣期~~）＜参考資料[21]＞**

　ウサギ（品種及び匹数不明）に MGA を種々の期間経口投与（0.5 mg/kg 体重/日、溶媒：コーンシロップ）し、発生影響が検討された。本試験の目的は、成熟時の精巣機能及び性機能を調べることである。比較群には、酢酸トレンボロン又はゼラノールが皮下投与された。各投与期間において検査された雄の匹数/群を~~、妊娠/授乳期（妊娠 15 日～分娩後 4 週まで）で 10 匹/群、幼若期（分娩後 4～12 週）で 10 匹/群、成獣期（1～2 年目の 12 週間投与）で 8 匹/群で、妊娠/授乳期に雄を産んだ母動物の数は記載されていない~~表 23 に示した。妊娠/授乳期及び幼若期試験では、生後 25 週齢で産児が検査された。

　対照群と比較すると、幼若期に MGA が投与された雄では、体重及び器官重量が有意に増加した。妊娠/授乳期に MGA が投与された雄の精巣重量が有意に小さかった。MGA 投与群には停留睾丸はみられなかったが、妊娠/授乳期又は幼若期に酢酸トレンボロン又

19 投与群が 1 用量のみの設定であることから、参考資料とした。
20 参照 4 の資料に基づいた値を記載した。
21 投与群が 1 用量のみの設定であることから、参考資料とした。

はゼラノールが投与された動物の 4 例には停留睾丸がみられた。

成獣期に MGA が投与された雄の精巣に軽度の精上皮脱落がみられた。

幼若期に MGA が投与された雄では、FSH 及び LH の基準濃度が 6 週齢ではより低かったが 12 週齢では低下せず、エストロンは 6 及び 12 週齢で有意に上昇した。幼若期に MGA が投与された雄では、精巣上体尾部の貯留精子が低下したが、これは 1 例での所見であり、射精液の精子容積、精子濃度若しくは精子運動性又は精子産生に変化はみられなかった。（参照 6）[JECFA FAS61 -2.4 (Rajpert-De Meyts et al., 2001)]

JECFA は本試験に NOAEL 等を設定していない。

表 23　各投与期間における雄の検査匹数　追記

| 投与期間 | 検査匹数 |
|---|---|
| 妊娠/授乳期（妊娠 15 日～分娩後 4 週まで） | 10 匹/群 [a] |
| 幼若期（分娩後 4～12 週） | 10 匹/群 |
| 成獣期（1～2 年目の 12 週間投与） | 8 匹/群 |

a：由来の母動物数は不明。

### （~~7~~ 8）発生毒性試験（ラット~~、投与期間：妊娠 9～20 日~~）＜参考資料[22]＞

ラット（SD 系、雌 10 匹/群）に MGA を皮下投与（2 mg/kg 体重/日、溶媒記載なし）し、発生毒性試験が実施された。投与は妊娠 9～20 日に行われ、妊娠 20 日に母動物は検査された。

8 例/群の雌が妊娠した。母動物の体重、着床痕の数（吸収又は死亡胎児数）、同腹児の重量、胎児の数/腹及び性比に投与による影響はみられなかった。胎児の生存率、一般状態及び黄体数は報告されなかった。

本試験から MGA の発生毒性について結論は得られなかった。（参照 3、5）[3：JECFA FAS45 -2.2.5b (Clark et al., 1963)][5：見直し用資料(1) -2.4 (Ref.42)]　非 GLP 試験

JECFA は本試験に NOAEL 等を設定していない。

### （~~8~~ 9）発生毒性試験（ラット~~、投与期間：妊娠 6～20 日~~）＜参考資料[23]＞

ラット（TUC/SPD 系、10 匹/群）に MGA の持続性徐放製剤が皮下投与［0（溶媒；2 群設定）、15、25、50 又は 100 mg/kg 体重］し、発生毒性試験が実施された。~~10 匹/群の 2 群には溶媒のみが投与された。~~投与は妊娠 6 日に行われ、妊娠 20 日に母動物は検査された。

母動物の臨床的行動、体重変化及び摂餌量は記録されず、母体毒性は評価できなかった。

同腹児重量及び平均胎児体重は、25 mg/kg 体重以上投与群で有意に低かった。吸収胚数は、100 mg/kg 体重投与群で有意に増加した。骨格異常が 100 mg/kg 体重投与群の各同腹児に有意に高い割合でみられた。50 及び 100 mg/kg 体重投与群の児の多くに、胸骨分節の小型化、欠損等の胸骨分節変異、恥骨未骨化、切歯孔開存等の発育遅滞がみら

[22] 皮下投与で実施されていることから、参考資料とした。
[23] 徐放製剤を用いて皮下投与により実施されていることから、参考資料とした。

れた。永続性臍ヘルニア等の内臓異常が25 mg/kg体重投与群で増加し、100 mg/kg体重投与群で最も重篤であったが、50 mg/kg 体重投与群ではそのような異常は記録されなかった。肋骨弯曲異常が100 mg/kg体重投与群の6例と50 mg/kg体重投与群の1例に、短尾が100 mg/kg体重投与群の2例に発生したことについても、MGAの催奇形作用によると考えられた。

以上より~~のごとく~~、25 mg/kg体重以上投与群で、胎児毒性及び催奇形性に関して直線的な用量反応関係がみられた。（参照3、5）[3：JECFA FAS45 -2.2.5b (Bollert & Highstrete, 1969)][5：見直し用資料(1) -2.4 (Ref.43)] 非GLP試験

JECFAは、持続性徐放製剤のトキシコキネティクスに関する情報がないことから、NOELを得られなかったとしている。（参照3）[JECFA FAS45 -3.]

~~NOAELは、持続性徐放製剤のトキシコカイネティクスの情報がないため、設定することができなかった。~~

（~~9~~１０）発生毒性試験（ウサギ~~、投与期間：妊娠6～18日~~）

ウサギ（Dutch belted種、8匹/群）にMGAを混餌投与［混餌濃度：0、0.25、1、2.5、6.25、12.5、25、50又は100 ppm（被験物質摂取量は表24参照）］し、発生毒性試験が実施された。投与は妊娠6～18日に行われた。陽性対照群には、MGA 10 mg/匹が同じ期間、毎日皮下投与された。母動物について一般状態が毎日、摂餌量及び体重増加量が毎週観察された。胎児を妊娠28日に外科的に摘出し、妊娠率、吸収痕胚及び浸軟胎児の数、同腹児及び胎児の重量、総胎児数及び生存胎児数、性比、外表異常並びに内臓及び骨格奇形を基に生殖及び発生への影響が調べられた。 被験物質摂取量を表へ変更 毒性所見を表25に示した。 毒性所見：表に変更、以下灰色部分削除。

母動物の体重は、0.16 mg/kg 体重/日以下投与群で増加したが、より高用量では低下する傾向がみられ~~、対照群と比較すると 1.6 mg/kg 体重/日以上投与群で有意に低かっ~~た。母動物に関する他の指標には影響はみられなかった。

~~MGAは、0.8 mg/kg体重/日以上投与群で胎児毒性を示し、吸収胚数、浸軟及び死亡胎児数が大幅に増加した。~~胚死亡率は、3.2 mg/kg体重/日以上投与群で100%に達した。~~同腹児数は1.6 mg/kg体重/日で減少した。生存胎児数、平均同腹児及び胎児の重量は、対照群と比較して0.8 mg/kg体重/日以上投与群で有意に低下した。~~

口蓋裂、弯曲足、臍ヘルニア及び不完全骨化等の顕著な催奇形作用が、0.8 及び 1.6 mg/kg体重/日でみられた。実験動物、特にウサギではコルチコステロイドは胎児毒性及び催奇形性を持つことが示されていることから、本試験で認められた胎児に対する影響は、MGAのコルチコステロイド活性に起因すると考えられる。~~1.6 mg/kg体重/日投与群で雄/雌比が36%に低下した。~~著者らは発達毒性に対するNOELを0.4 mg/kg体重/日と設定している。（参照3、5）[3：JECFA FAS45 - 2.2.5b (Walker, 1967)(Goyings et al., 1975)][5：見直し用資料(1) -2.4 (Ref.44)] 非GLP試験

JECFAは、胚毒性及び催奇形性に対するNOELを0.4 mg/kg体重/日と設定している。（参照3）[JECFA FAS45 -3.]

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、1.6 mg/kg体重/日以上投与群の母動物に体重低下が、~~胎児で3.2 mg/kg体重/日以上投与群で胚死亡率が100%~~

~~に達し、~~0.8 mg/kg 体重/日以上投与群に~~おいて、~~生存胎児数、平均同腹児及び胎児の重量~~が有意に~~の低下~~したこと~~がみられたことから、母動物に対する NOAEL を 0.8 mg/kg 体重/日、胎児に対する NOAEL ~~は、~~を 0.4 mg/kg 体重/日と~~考えられ~~設定した。

表 24　発生毒性試験（ウサギ）の被験物質摂取量

| 投与群 | | 0.025 ppm | 1 ppm | 2.5 ppm | 6.25 ppm | 12.5 ppm | 25 ppm | 50 ppm | 100 ppm |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 被験物質摂取量(mg/kg 体重/日) | 雌 | 0.016 | 0.064 | 0.16 | 0.4 | 0.8 | 1.6 | 3.2 | 6.4 |

表 25　発生毒性試験（ウサギ）の毒性所見　新規作成

| 投与群 | 母動物 | 胎児 |
|---|---|---|
| 1.6 mg/kg 体重/日以上 | ・体重低下 | ・同腹児数の減少（1.6 mg/kg 体重/日）<br>・性比低下（1.6 mg/kg 体重/日） |
| 0.8 mg/kg 体重/日以上 | 0.8 mg/kg 体重/日以下<br>毒性所見なし | ・吸収胚数、浸軟及び死亡~~脂肪~~胎児数の増加<br>・生存胎児数、平均同腹児体重及び胎児体重の低下<br>・口蓋裂、彎曲足、臍ヘルニア、不完全骨化等（0.8 及び 1.6 mg/kg 体重/日） |
| 0.4 mg/kg 体重/日 | | 0.4 mg/kg 体重/日以下<br>毒性所見なし |

【第 130 回会合以降のご確認】　本試験では、母動物に対する NOAEL は設定できますでしょうか。
【江馬専門参考人】
母動物に対する NOAEL は 0.8 mg/kg 体重/日だと思います。

**（~~１０~~１１）発生毒性試験（ウサギ~~、投与期間：妊娠６日~~）＜参考資料[24]＞**

① 筋肉内投与①

ウサギ（Dutch belted 種、雌 16 匹/群）に MGA の持続性徐放製剤を~~単回~~筋肉内投与[25]（0、25 又は 50 mg/kg 体重/日）し、発生毒性試験が実施された。投与は人工授精後 6 日目に行われ、母動物は妊娠 28 日に剖検された。

各投与群の 3、4、7 例のみが妊娠していた。投与群の胚は全て死亡し吸収されていたが、溶媒対照群は平均 4 生存胎児及び 1 吸収胚/腹がみられた。（参照 3、5）[3：JECFA FAS45 -2.2.5b][5：見直し用資料(1) -2.4 (Ref45)]　非 GLP 試験

[24] 徐放製剤を用いて筋肉内投与により実施されていることから、参考資料とした。
[25] ~~資料~~参照 5 の資料に基づき、筋肉内投与と記載した。

② 筋肉内投与②

ウサギ（Dutch belted 種、雌 20 匹/群）に MGA の持続性徐放製剤を~~単回~~筋肉内投与（0、5 又は 15 mg/kg 体重）し、発生毒性試験が実施された。投与は人工授精後 6 日目に行われ、胎児は妊娠 28 日に外科的に摘出された。

15 及び 5 mg/kg 体重~~/日~~投与群では、妊娠 28 日にそれぞれ 12 及び 14 例が妊娠していた。15 mg/kg 体重~~/日~~投与群では、調べた 12 腹のうち 1 例だけが生存していたが通常より小さい胎児であり、平均吸収数/腹及び浸軟胎児数/腹は、それぞれ、2.5 と 1.8 であった。死亡胎児の形態的な日齢は約 16 日であった。5 mg/kg 体重投与群では、調べた 14 腹のうち 2 腹で 5 例が生存していたが通常より小さい胎児であり、1.2 吸収数/腹及び並びに 2.6 浸軟及び死亡胎児数/腹で、死亡胎児の形態的な日齢は 20 日であった。

5 及び 15 mg/kg 体重投与群の母動物の生存及び死亡胎児の検査から、34/36 例に口蓋裂[26]、18/62 例に外脳症、6/62 例に両側性水晶体欠損、3/62 例に不規則な脳形態、2/62 例に臍ヘルニア及び無眼瞼並びに 9/62 例に肥大肝が観察された。脊椎破裂が数例の胎児に示された。

MGA は 15 mg/kg 体重以上で胚致死性を、5 mg/kg 体重で胎児毒性を示す。胚毒性及び発生毒性は、MGA のコルチコステロイド活性に関与するものであると思われた。母動物の一般状態は報告されなかった。（参照 3、5）[3：JECFA FAS45 -2.2.5b (Bollert et al., 1970b)][5：見直し用資料(1) -2.4 (Ref45)] 非 GLP 試験

JECFA は、これらの試験は NOEL を設定するには適切ではないとしている。（参照 3、5）[3：JECFA FAS45 -2.2.5b][5：見直し用資料(1) -2.4 (Ref45)]

~~以上の 2 試験について、NOAEL は設定できなかった。妊娠 6～18 日間の感受性の高い時期の母動物の全身性暴露を評価する上で必要な MGA の持続性徐放製剤のトキシコキネティクスについての情報が得られていない。（参照 3、5）[3：JECFA FAS45 -2.2.5b][5：見直し用資料(1) -2.4 (Ref45)]~~

## ~~6~~ 8．ホルモン作用に関する試験

### （1）1 月経周期投与試験（サル）①

予備的用量設定試験において、性成熟に達したアカゲザル（雌 8 頭/群）に、0、1.5、15、75 又は 150 μg/kg 体重/日の MGA が注入されたリンゴが月経後の 2 日目から 36 日目まで 1 月経周期の間、与えられた。一般状態、排卵及び月経周期について調べられた。血清中の黄体形成ホルモン（LH）及び卵胞刺激ホルモン（FSH）の濃度が、ベースラインとしての開始時、及び LH ピークが通常起きる月経周期中の 8～16 日に測定された。プロラクチンは分析されなかった。血清中の性腺ステロイド（エストラジオール、エストロン及びプロゲステロン）については、月経周期中の 6～16 日は隔日に、その後試験終了までは 4 日毎に測定された。血液学的検査及び血清生化学検査（エネルギー代謝及び肝機能の 8 種類の指標）のための血液試料が、投与開始前及び排卵後に採取された（23

[26] 参照 5 の資料の値を記載した。

及び 35 日）。試験終了時には、それぞれのサルについてグルコース負荷試験が実施された。排卵日は、エストロゲン低下を伴う周排卵期の LH サージの日と決められ、排卵は、月経周期の 20 日目に腹腔鏡検査により確認された。

投与期間中に排卵したサルの割合は、15、75 及び 150 μg/kg 体重/日投与群でそれぞれ 38%、25%及び 12%であり、~~88%（~~対照群及び 1.5 μg/kg 体重/日投与群の 88%~~）から~~に対し、~~他の投与群の 38%、25%、12%にまで~~有意な低下を示した。月経周期については、対照群（31 日）及び低用量 2 群（29 日）と比較すると、2 高用量群で 36 日及び 38 日に延長した。全てのサルについて、FSH ではなく LH の変化パターンが、排卵の出現及び月経周期の期間と一致した。投与群の違い、月経周期の時期の違い又は排卵の有無による、エストロゲン又はプロゲステロン分泌に対する有意な影響はみられなかった。

投与群と対照群の間又は各群のベースラインと終了時の試料の間に、血清生化学検査、グルコース負荷試験及び血液学的検査の結果に有意な差はみられなかった。LH サージの変化及び排卵抑制が最も感度の高いエンドポイントであった。著者らは、排卵抑制に対する NOEL を 1.5 μg/kg 体重/日と設定している。（参照 3、5）[3：JECFA FAS45 -2.2.2 (Hobson et al., 1976)][5：見直し用資料(1) -2.1.2 (Ref23)] 非 GLP 試験

JECFA は、排卵抑制に対する NOEL を 1.5 μg/kg 体重/日と設定している。（参照 3）[JECFA FAS45 -3.]

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、15 μg/kg 体重/日以上投与群で、排卵抑制が有意にみられたことから、NOAEL ~~は~~を 1.5 μg/kg 体重/日～15 μg/kg 体重/日未満と~~考えられ~~設定した。

【事務局より】　本試験において、1.5 μg/kg 体重/日の次が 15 μg/kg 体重/日、すなわち公比が 10 ととても大きいことから、第 129 回会合の議論の結果、NOAEL を 1.5～15 μg/kg 体重/日と設定しています。

【江馬専門参考人】

NOAEL は 1.5μg/kg（NOAEL は有害影響がみられない最大投与量なので、1.5～15 μg/kg のような表現はしない）。

### （２）1 月経周期投与試験（サル）②

性成熟に達したカニクイザル（雌 6 頭/群）に MGA を経鼻胃チューブにより 1 月経周期（35 日目まで）経口投与［0（溶媒）、2.5、5 又は 10 μg/kg 体重/日、溶媒：プロピレングリコール］し、投与試験が実施された。一般状態及び月経が毎日観察され、血液試料が採取された。~~放射免疫分析~~RIA により、ゴナドトロピン（LH 及び FSH）、生殖腺ステロイド（エストラジオール及びプロゲステロン）及びコルチゾールが測定された。排卵が、エストラジオール及びプロゲステロンの血清プロファイル並びに LH サージから判定された。

5 及び 10 μg/kg 体重/日投与群の 2 例以外全てが投与期間中に排卵した。対照群の 1 例、2.5 μg/kg 体重/日投与群の 2 例、5 μg/kg 体重/日投与群の 1 例及び 10 μg/kg 体重/日投与群の 2 例が卵胞期の延長を示し、対照群より長い月経周期を示した（$P$<0.06）。

FSH 及びプロゲステロンの毎日の平均濃度及び最高濃度の経時的変化、並びに血中濃

度時間曲線下面積（AUC）について、投与に関連した影響はみられなかった。一方、黄体期相の LH の AUC は、2.5 及び 5 μg/kg 体重/日投与群で低下した（10 μg/kg 体重/日投与群では低下はみられなかった）。5 及び 10 μg/kg 体重/日投与群で血清エストラジオール濃度が黄体期及び卵胞期に抑制されたが、排卵期までに対照濃度にまで達した。全ての群においてコルチゾール濃度は投与期間中徐々に増加し、霊長類で生殖過程を妨げることが知られているストレスが誘発されていることが示唆された。著者らは、MGA は月経周期に微妙な影響を及ぼしている可能性があるとしている。（参照 3、5）[3：JECFA FAS45 -2.2.2 (Chenault et al., 1990)][5：見直し用資料(1) -2.1.2 (Ref24)] 非 GLP 試験

JECFA は本試験に NOAEL 等を設定していない。

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、2.5 及び 5 μg/kg 体重/日投与群で黄体期相にみられた LH の AUC の低下が~~みられているが~~、最高用量である 10 μg/kg 体重/日投与群ではみられず、有意差等が不明であることから、NOAEL ~~は~~を設定できなかった。

【事務局より】　NOAEL を設定できなかった試験ですが、参考資料とすべきか、ご検討をお願いいたします。(参考資料とする場合は、その理由を脚注に記載しますので、理由のご確認をお願いいたします。)
【江馬専門参考人】
NOAEL を設定できなかった試験は参考資料としているのでしょうか。そうであれば、参考資料とする。そうでなければ、参考資料にしなくてもよろしいかと思います。

（３）3 月経周期投与試験（サル）~~③~~

成獣カニクイザル（5～11 歳齢、雌 8 頭/群）に MGA を 3 ~~連続~~月経周期（最大 105 日）にわたって経口投与（0、5、10 又は 25 μg/kg 体重/日）し、投与試験が実施された。~~放射免疫法~~RIA による血清中のエストラジオール、プロゲステロン、LH、FSH 及びコルチゾールの濃度測定のため、投与前の最終月経周期及び投与期間の最終周期（第 3 周期）に血液試料が毎日採取された。プロゲステロン濃度のみについては、投与開始後の第 1 周期では 2 日毎に、第 2 周期以降は 3 日毎に測定された。排卵の有無は血清プロゲステロン 2 ng/mL 以上の増加により、排卵時期は排卵期の LH サージ、エストラジオールのピーク及び黄体期のプロゲステロンの上昇により決められた。

25 μg/kg 体重/日投与群で月経及び排卵を示したものは有意に少なかった（3/8 例）。10 μg/kg 体重/日投与群（5/7 例）及び 25 μg/kg 体重/日投与群（5/8 例）では周期の変化が有意に多くみられた。用量相関的な第 1 周期の延長は、他の周期における動物においては統計学的有意性には至らなかった。

血清中の FSH 及びコルチゾールの濃度は MGA により影響されなかった。いずれのホルモン作用パラメーターについても、5 μg/kg 体重/日投与群では、生物学的な意義のある影響はないと著者らは結論付けたが、最低用量（5 μg/kg 体重/日）の影響は、統計学的な有意差はないが、高用量投与群でみられたホルモン反応と一致していた。(参照 3、5) [3：JECFA FAS45 -2.2.2 (Chenault et al., 1993)][5：見直し用資料(1) -2.1.2 (Ref25)] GLP 対応試験

5 μg/kg 体重/日でみられた影響は、統計学的な有意差はなかったが、高用量のホルモン作用と一致するものであることから、JECFA は、5 μg/kg 体重/日が最小有効用量であり、ホルモン作用に対する NO~~A~~EL に近いとみなしている。（参照 3）［JECFA FAS45 -3.］

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、5 μg/kg 体重/日でみられた影響は、統計学的な有意差は~~みられ~~ないが、高用量投与群でみられた作用と同じであることから、LOAEL ~~は~~を 5 μg/kg 体重/日と~~考えられ~~設定した。

【松尾専門委員】　LOAEL について：有意差の示されていないホルモン作用を対象に LOAEL とする根拠を明確にする必要があります。牛での排卵抑制作用と関連します。“霊長類で示された adverse な作用”と判断するのでしょうか。

【小川専門委員】　全臓器に対する影響を見た試験ではないので、「NOAEL、LOAEL は設定できない。」とするか、「ホルモン作用に対する LOAEL は 5 μg/kg 体重/日と考えられた。」としてはいかがでしょうか。

【事務局より】　プロゲストーゲンであることから、ホルモンへの影響が最も鋭敏なエンドポイントではないかと考えます。したがって、他の臓器に対する影響をみていなくても、本試験には NOAEL 又は LOAEL が置けるのではないかと考えますが、いかがでしょうか。

【江馬専門参考人】

LOAEL は設定できると思います。

（４）投与試験（牛）①＜参考資料[27]＞

未経産牛（品種不明、推定体重 400 kg ~~体重~~、4～5 頭/群）に MGA を発情後 15 日目から 16 日間、混餌投与［0.625、0.125、0.25、0.5、1、2、4 又は 8 mg/頭/日（0.16、0.31、0.63、1.3、2.5、5、10 又は 20 μg/kg 体重/日に相当）］し、MGA のプロゲステロン作用が検討された。

最低用量である 0.16 μg/kg 体重/日投与群では、全~~ての動物~~例で排卵がみられたが、発情~~期の動物は減少する傾向~~の抑制が 2/5 例~~を示し~~でみられた。0.31 μg/kg 体重/日投与群では、排卵の抑制が 1/5 例で、発情抑制が 4/5 例でみられた。0.63 μg/kg 体重/日以上では、~~ほぼ完全に発情及び排卵が抑制され~~排卵抑制が 1.3 μg/kg 体重/日投与群の 1 例を除く全例で、発情抑制は全例でみられた。著者らは、ホルモン作用に対する NOEL は設定できなかったとしている。~~本試験では、対照群が設定されておらず、1 群の動物数が少ないことから、有意差等が不明であることから、NOAEL は設定できなかった。~~（参照 3、18~~～20~~）［3：JECFA FAS45 -2.2.2 (Zimbelman & Smith, 1966a; Priedkalns, 1971)］［18：文献(Zimbelman & Smith, 1966a)］~~［19：文献(Zimbelman & Smith, 1966b)］［20：文献(Priedkalns, 1971)］~~

未経産牛（Angas 種及び Hereford 種、18 頭/群）に MGA を 111 日間混餌投与（0、0.22、0.44 又は 0.85 mg/頭/日）し、投与試験が実施された。

0.22 mg/頭/日投与群では、黄体を有する動物数の割合が対照群の 61～89%に対し 22～33%と低くなったが、卵胞液重量に有意な増加はみられなかった。0.44 mg/頭/日投与

[27] 対照群が設定されておらず、一群当たりの動物数が少ないことから参考資料とした。

群以上では、黄体を有する動物数の割合は6%以下~~に減少し~~となり、卵胞液重量の有意な増加がみられた。（参照3、~~18～20~~19）[3：JECFA FAS45 -2.2.2 (Zimbelman & Smith, 1966a; Piedkalns, 1971)]~~[18：文献(Zimbelman & Smith, 1966a)]~~[19：文献(Zimbelman & Smith, 1966b)]~~[20：文献(Piedkalns, 1971)]~~

未経産牛（10頭/群）にMGAを2.5か月齢から初発情若しくは出荷に適した大きさになるまで（期間A）、又は初発情から出荷に適した大きさになるまで（期間B）、混餌投与（期間Aでは0.3 mg/頭、期間Bでは0.45 mg/頭、対照群ではいずれの期間も無投与）し、投与試験が実施された。飼料は通常のものと高タンパクのものの2種類が用いられた。飼料の種類にかかわらず、MGAを投与された群では、黄体を有する動物数の割合が10%未満となった。（参照3、20）[3：JECFA FAS45 -2.2.2 (Zimbelman & Smith, 1966a; Piedkalns, 1971)][20：文献(Priedkalns, 1971)]

~~本試験では、対照群が設定されておらず、1群の動物数が少ないことから、有意差等が不明であることから、NOAELは設定できなかった。~~

【第130回会合】　対象である牛を用いた本試験の取扱いについて、ご検討いただきますようお願いいたします。
【松尾専門委員】　「発情期の動物数を40%減少した。」について、この変化は有害作用とみなさないのでしょうか？

【事務局より】
① 1つ目の試験には対照群が設定されておらず、発情期の動物数の減少は、投与前の通常の周期と比較しているようです。文献（Zimbelman & Smith, 1966a）を基に、0.31 μg/kg体重/日投与群の所見を追記しました。
また、文献（Zimbelman & Smith, 1966b）を基に、0.22 mg/頭/日投与群の所見を追記しました。
JECFA FAS45では、Priedkalns, 1971の文献を参照しているとありますが、JECFA評価書のどの記載が当該文献に該当するかが確認できないため、文献を基に、黄体を有する動物数について追記しました。ご確認をお願いいたします。
② プロテステロン、プロゲストーゲンについて、作用に種差がないようであれば、参考資料とせずに、ADIの設定根拠とできるのではないかと思います。
逆に、牛が高感受性である場合は、ヒトやラット、サルとは異なるとして、参考資料とした方がよいのではないでしょうか。（発情抑制に対する最小有効用量を［II.5.(1)］に追記しています。ラットで平均4.2 mg/kg体重/日、イヌで0.01 mg/kg体重/日に対し、牛で0.0005 mg/kg体重/日となっています。本試験において、LOAELとして、0.63 μg/kg体重/日を設定できますでしょうか。）ご審議をお願いいたします。（なお、アルトレノゲストでは、豚における試験は参考資料となっています。）
参考資料とする場合には、NOAEL設定に係る部分を削除し、脚注に理由を記載しますので、理由について、ご検討をお願いいたします。
【江馬専門参考人】
実験条件、記載の不備等がなければ、参考資料としない。
牛が高感受性である場合は、牛のデータを用いた評価は安全サイドに立った評価となるので、ADI設定の根拠にできると思います。

**（５）投与試験（牛）②＜参考資料[28]＞**

未経産牛（品種及び頭数不明、雌）に MGA を 2.5～11.3 か月齢の期間、混餌投与（1.8 μg/kg 体重/日）して、投与試験が実施された。

非投与牛のランダムな値に比べ、投与群では、全発情周期を通じて血清中のエストラジオール-17β及びエストロンの濃度が有意に増加し、プロゲステロン濃度が低下した。MGA 投与動物のホルモン濃度は発情前期の濃度に類似していた。MGA は、血清中のコルチゾールの濃度を対照群の約 50%に、コルチコステロイド濃度を対照群の 1.4 ng/mL から 0.6 ng/mL まで抑制した。この作用は、プロゲステロンによって誘起されるコルチコトロピン放出ホルモンの産生に対する既知のネガティブフィードバックによるものである。血清中の成長ホルモン濃度に有意な変化はなかった。（参照 3）[JECFA FAS45 -2.2.2 (Purchas et al., 1971a; Lauderdale 1977b) (Echternkamp & Hansel, 1971; Henricks et al., 1971; Weetemann et al., 1972) (Purchas et al., 1971a,b; Lauderdale, 1977b) (Manigli et al., 1966; Purchas et al., 1971b) (Purchas et al., 1971b), 3.]

~~本試験において、投与量が１用量しか設定されていないことから、本専門調査会では、本試験を参考試験とした。~~

JECFA は、牛を用いた投与試験［II. 8~~9~~. (4)及び(5)］において、牛における MGA のプロゲステロン作用及びコルチコステロイド作用に対する NOEL を設定できなかったとしている。（参照 3）[JECFA FAS45 -3.]

**（~~4~~６）乳腺増殖性病変の修飾作用に関する特殊試験（マウス）**

成獣マウス（C3Han/f 系、44 日齢、雌 20 匹/群）に MGA を 1 年間混餌投与［混餌濃度：0、2.5、7.5、12.5、25、50 又は 125 ppm（被験物質摂取量は表 26 参照。以下この項において「MGA 単独投与群」という。）］し、MGA の長期投与と血清プロラクチン濃度、乳管の増殖及び乳腺発達との関係が検討された。また、0、5、10 又は 25 mg/kg 体重/日の MGA を混餌投与する追加群を設定し、この追加群には MEA が 100 μg/匹の用量で連日皮下投与（以下この項において「MGA＋MEA 投与群」という。）された。各群の構成を表 27 に示した。最終検査時に、~~放射免疫法~~RIA によるプロラクチン濃度の測定のための採血並びに乳腺の発達の組織学的検査及び乳管の分岐についての 6 段階スケールでの評価が実施された。 被験物質摂取量を表へ変更

毎日の検査には、投与による有害作用はみられなかった。

2 週間毎の平均体重は 25 mg/kg 体重/日投与群で MEA の有無に関わらず増加し、終了時には、対照群よりそれぞれ 16%（MGA 単独投与群）及び 19%（MGA＋MEA 投与群）増加した。

生存率は、全ての投与群と対照群間で同程度であった。

対照群と比較すると、全ての投与群で血清プロラクチン濃度が上昇し、10 mg/kg 体重/日以上の MGA 単独投与群及び 25 mg/kg 体重/日の MGA＋MEA 投与群で有意に増加した。MGA＋MEA 投与群のホルモン濃度は MGA 単独投与群より低かった。

[28] 投与群が１用量のみの設定であることから、参考資料とした。

乳腺発達の増加傾向は 2.5 mg/kg 体重/日~~の MGA を~~投与~~した~~群で観察され、より高用量では、MEA の有無に関わらず有意であった。

著者らは、ホルモン影響に対する NOEL は 0.5 mg/kg 体重/日に近いとしている。（参照 3、5）[3：JECFA FAS45 -2.2.3 (Raczniak et al., 1981)][5：見直し用資料(1) -2.2.1 (Ref26)]

$\boxed{\text{GLP 対応試験}}$

JECFA は、ホルモン影響に対する NOEL は 0.5 mg/kg 体重/日に近いとしている。（参照 3）[JECFA FAS45 -3. ]

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、~~MGA~~10 mg/kg 体重/日以上投与群で血清プロラクチン濃度が有意に上昇していることから、ホルモン作用に対する NOAEL ~~は~~を 5 mg/kg 体重/日と~~考えられ~~設定した。

表 26　乳腺増殖性病変の修飾~~就職~~作用に関する特殊試験（マウス）の被験物質摂取量

| 投与群 | | 2.5 ppm | 7.5 ppm | 12.5 ppm | 25 ppm | 50 ppm | 125 ppm |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 被験物質摂取量（mg/kg 体重/日） | 雌 | 0.5 | 1.5 | 2.5 | 5 | 10 | 25 |

表 27　マウスを用いた乳腺増殖性病変の修飾作用に関する特殊試験における群構成

| 群構成 | MGA 投与量（mg/kg 体重/日） | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 0 | 0.5 | 1.5 | 2.5 | 5 | 10 | 25 |
| MGA 単独投与群 | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ |
| MGA＋MEA 投与群 | ○ | ／ | ／ | ／ | ○ | ○ | ○ |

○：設定、~~－~~／：非設定

【江馬専門参考人】
「乳腺発達の増加傾向は 2.5 mg/kg 体重/日投与群で観察され、より高用量では、MEA の有無に関わらず有意であった。」と記載されていますが、乳腺発達の影響が有意にみられた投与量はどこですか。NOAEL 設定の根拠になると思います。

## ~~10~~9．その他の試験

### （1）免疫毒性試験

MGA はかなりのグルココルチコイド活性を有し、ラットの背部皮下に作出した気腫にクロトンオイルを注射して炎症を起こした試験[29]において、MGA は抗炎症作用を示し、~~ヒドロコルチゾン~~コルチゾールとほぼ同じ能力を有する。ヒトでは、デキサメタゾンの約 1/40 の血清コルチゾール濃度抑制活性を有する。実験動物を用いた試験において、高用量の MGA は、~~ヒドロコルチゾン~~コルチゾール、メチルプレドニゾロンのような高用量のグルココルチコイドと同程度の抗炎症及び免疫抑制を示した。

MGA の免疫毒性に係る試験の概要を表 28 にまとめた。（参照 3、4、6、H）[3：JECFA FAS45 -2.2.6 (Duncan et al., 1964)(Nugent et al., 1975)(Kountz & Wechter, 1977)][6：JECFA FAS61 -2.5][4：文献(Duncan et al., 1964)][H: 文献(Corrigan ME et al., 2007)]

雌カニクイザルに、プロゲステロン作用の最小有効用量である 5 μg/kg 体重/日を上回

[29] 参照 4 の資料に基づき記載した。

る投与量を投与しても血漿コルチゾールの濃度抑制は認められなかった~~以上の~~ことから、MGA はプロゲステロン作用の最小有効用量では抗炎症及び免疫~~毒性~~抑制作用は~~持た~~示さないと考えられる。

表 28　免疫毒性に係る試験の概要

| 試験 | 動物種 | 投与量 | 概要 |
|---|---|---|---|
| 1 | 不明 | 11 mg/kg 体重 | クロトンオイル注射による炎症性浮腫の低減。 |
| 2 | ラット | 不明 | MGA は、ラットの後肢浮腫の誘導及びアジュバント誘導性関節炎の緩和にメドロキシプロゲステロンより強い作用を示した。 |
| 3 | ラット | 4 及び 16 mg/kg 体重/日 | アレルギー性脳症の実験モデルにおいて、4 mg/kg 体重/日投与で麻痺の開始を遅らせ、16 mg/kg 体重/日投与で、完全に抑制した。 |
| 4 | 不明 | 5 及び 25 mg/kg 体重/週 | 25 mg/kg 体重/週の 3 回の皮下投与で、脾臓の萎縮（25%）、胸腺の退縮（15%）、末梢 WBC の減少等の有害な免疫抑制作用が観察された。5 mg/kg 体重/週の投与ではこれらの作用は観察されず、抗体産生には影響しなかった。 |
| 5 | ウサギ及びイヌ | 50 mg/週（ウサギ）及び 40～360 mg/kg 体重を 1 日 2 回（イヌ） | ウサギでは同種皮膚移植片の生存を延長、イヌではでは同種腎移植の生存の延長なし。 |
| 6 | ラット | 5～50 mg/kg 体重/日 | 抗リンパ球血清との併用により、同種心臓移植の生存を用量依存的に延長。 |
| 7 | 雌カニクイザル | 25 μg/kg 体重/日以下 | 5 μg/kg 体重/日がプロゲステロン作用の最小有効用量であるのに対して、これを上回る左記用量でも血漿コルチゾールの濃度抑制は認められなかった。 |
| 8 | 未経産牛 | 0.45 mg/kg 体重/日、2.5 か月間 | 長期間投与で免疫抑制による明らかな有害作用を示さなかったが、血清中の内因性コルチコステロイド濃度は正常値の 50%に抑制された。 |
| 9 | 雌牛 | 不明 | 大腸菌の注入後、子宮の感染抵抗性活性に大きな影響を及ぼさなかった。 |
| 10 | 未経産牛（24 頭/群） | 0 及び 0.5 mg/日（混餌投与） | MGA を 14 日間投与した未経産牛に、~~軽いアレルギー誘発を起こす~~ *Mannheimia haemolytica*（牛に呼吸器疾患を引き起こす細菌）を接種~~した~~。接種 138 時間後に~~と殺~~剖検し、肺病変の重篤性を調べた。対照群と比較して、投与群では~~アレルギー~~炎症反応が増大し、~~と殺後、~~より多くの牛（頭数不明）により重篤な肺病変が認められた。 |

【事務局より】　No.10（参照：JECFA FAS61, p.84）の記載について、アレルギーではなく、免疫抑制に係る試験であることから、記載を修正しています。

## （２）薬理活性に関する知見

### ①　MGA 及びその代謝物のステロイド受容体特異性と相対的活性~~（JECFA 62nd）~~

牛及び *in vitro* 試験系において生成される MGA 代謝物は量的に非常に少ないため、

*in vivo* での牛又は実験動物モデルにおける有効性又は毒性に関する試験は不十分な試験である。そのため、*in vitro* での受容体活性化及び遺伝子発現系により、ヒト~~プロゲステロン受容体（~~PR~~）~~のBサブタイプ、ヒトグルココルチコイド受容体（GR）、ヒトアンドロゲン受容体（AR）及びヒト~~エストロゲン受容体~~ERのαサブタイプ（ERα）に対するMGAとその代謝物のアゴニストとしての相対的生物活性が調べられた。MGA並びに代謝物B、C、D及びEの純度はHPLC-UV法で95%以上であった。

本試験の結果から、JECFAは、MGA及びその代謝物が第一にプロゲストーゲンとして、第二にグルココルチコイドとして生物作用を発揮すると結論付けた。それぞれの生理学的な濃度では、AR及びERα試験で活性は示されなかった。

MGAに対する各代謝物の相対的な生物活性又は効力（薬理学的に同等な作用に至るmg/kg投与量）が調べられた。代謝物Eが代謝物の中で最も強いことが示された。全てのデータに濃度－作用曲線を適用することにより、代謝物EとMGAの相対的プロゲストーゲン活性が比較された。両物質の濃度－作用曲線は平行しており、最大値の10%、50%又は90%の反応を誘導するために必要なMGA及び代謝物Eの濃度が推定された。MGAに対する代謝物Eの相対的活性は10%誘導レベルで12.2%、50%誘導レベルで12.0%、90%誘導レベルで11.8%であった。（参照10）[JECFA TRS925 -3.7]

### ② MGAのホルモン活性~~（JECFA 70th）~~

#### a. プロゲステロン活性

MGAのホルモン活性に関する初期の試験では、MGAは、プロゲステロン活性及びグルココルチコイド活性の両方を有することが示された。*in vitro* でサイトゾル分画中の牛子宮~~プロゲスチン受容体~~PRからのプロゲステロン類似体である16α-ethyl-21-hydroxy-19-nor[6,7-$^3$H]pregn-4-ene-3,20-dioneの置換を測定すると、MGAは強力な~~プロゲステロン受容体~~PR結合親和性を示した。MGAの相対的結合親和性はプロゲステロンの526%であるが、牛肝細胞から生成した3種類のMGA代謝物の親和性はプロゲステロンの25～85%であった。ヒト乳がん細胞株MCF-7を用いた試験では、被験物質を細胞中に取り込ませると、MGAのヒト~~プロゲステロン受容体~~PRに対する相対的結合親和性はプロゲステロンに比べて11倍上昇した。ヒト~~プロゲステロン受容体~~PRは牛~~プロゲステロン受容体~~PRと90%の相同性を持つ。牛を用いた *in vivo* 試験では、非経口的投与による発情周期の抑制を測定すると、MGAのプロゲステロン活性はプロゲステロンの約125倍であることが示された。（参照6）[JECFA FAS61 -2.1.3 (Lauderdale et al., 1977) (Bauer et al., 2000) (Perry et al., 2005) (Lauderdale et al., 1977; Lauderdale, 1983)]

#### b. エストロゲン活性

MGAのエストロゲン活性が3種類の *in vitro* 試験系で調べられた。

マスの~~エストロゲン受容体~~ERを発現している組換え酵母試験系（感度が0.1～1 nmolエストラジオール/Lまで）においては、MGAは0.1及び1 μmol/L（～40,000及び400,000 pg/mL）で非活性であるが、10 μmol/L（4,000,000 pg/mL）で活性を示した。

ニジマス肝細胞凝集体培養におけるビテロゲニン遺伝子発現試験（感度が 10 nmol エストラジオール/L まで）では、MGA は 1 及び 10 μmol/L（～400,000 及び 4,000,000 pg/mL）で非活性であった。

エストロゲン活性のマーカーとして MCF-7 細胞の増殖を用いる *in vitro* バイオアッセイ系においては、MGA は pmol から nmol/L までの濃度（$10^{-11}$～$10^{-9}$ mol/L：～4～400 pg/mL）では活性を示さず、より高い（nmol からμmol/L まで）濃度（$10^{-8}$～$10^{-6}$ mol/L：～4,000～400,000 pg/mL）では小さいが統計的に有意な細胞増殖の上昇を示したが、10 μmol/L（～4,000,000 pg/mL）では再び非活性であった。

*in vitro* でエストロゲン活性を示した濃度は、MGA を 0.5 mg ~~MGA を~~の用量で毎日投与された牛において達した *in vivo* 血漿中濃度（約 25～50 pg/mL）より、相当高いものである。（参照 6）[JECFA FAS61 -2.1.3 (Le Gueval & Padkel, 2001)(Perry et al., 2005)(Daxenberger et al., 1999, Hageleit et al., 2000; Pfaffl et al., 2002)]

### c. アンドロゲン活性

組換えヒト~~アンドロゲン受容体~~AR 又はヒト性ホルモン結合グロブリンに対する相対的な結合親和性試験において測定されたように、MGA はジヒドロテストステロン等の天然のリガンドと比較すると、~~MGA は~~顕著なアンドロゲン活性を持たない。対照的に、アンドロゲン性アナボリックステロイドの酢酸トレンボロン、17β-トレンボロンは組換えヒト~~アンドロゲン受容体~~AR に対しジヒドロテストステロンと同程度の相対的結合親和性を示す。（参照 6）[JECFA FAS61 -2.1.3 (Bauer et al., 2000)]

### ③ エストロゲン受容体等への作用 追記

牛における MGA の作用機序（mode of action）をより理解するため、MGA によるホルモン受容体活性後の遺伝子発現が検討された。未経産牛（品種不明、2 頭/群）に MGA を 8 週間混餌投与（0、0.5、1.5 又は 5 mg/日）し、肝臓並びに頚部及び肩の筋肉における AR、PR、ERα及び ERβ、インスリン様成長因子（IGF-1）及びその受容体に対する mRNA の発現が、RT-PCR 増幅法により測定された。IGF-1 が多くの組織で重要な成長調節因子であり、IGF-1 の遺伝子発現はエストロゲンによって刺激されることが知られている。また、血漿中の MGA、IGF-1、エストラジオール及びプロゲステロンの濃度も測定された。

成長促進の目的で使用される用量の 0.5 mg/日投与群で、対照群と比較して、血漿中のエストラジオール及び IGF-1 の濃度は有意に上昇し、プロゲステロン濃度は有意に低下した。1.5 mg/日以上投与群では、対照群と比較して、血漿中のエストラジオール及びプロゲステロンの濃度は有意に低下した。MGA の用量増加に対する発現量の線形回帰分析では、肝臓における AR 体及び IGF-1 受容体、頚部筋肉の IGF-1 受容体の発現の有意な増加がみられた。肝臓及び頚部筋肉の ERαは用量に関連した増加傾向を示し、肝臓のみで有意であった。この試験から、MGA の同化作用は、IGFA-1 を介して行われると考えられ、*in vivo* 牛の AR 及び ERa に対する遺伝子の発現に関しては弱い活性を有することが示唆された。（参照 6）[JECFA FAS61 -2.1.3 (Pfaffl et al., 2002)]

【事務局より】　MGA のホルモン受容体の遺伝子発現に関する内容を JECFA FAS61 を基に追記しましたので、ご確認をお願いいたします。

## ~~１１~~１０．ヒトにおける知見

ヒトにおける知見の概要を表 29 に示した。

ヒトにおける試験の成績から、ヒトではMGA ~~を大量連日投与しても、~~の~~ヒトにおける~~耐容性が十分に良いことが示されている~~（表 10）~~。（参照 3、4）[3：JECFA FAS45 –2.3][4：文献(Duncan et al., 1964)]

【小川専門委員】　いずれもかなり古く、限られた条件での投与と見受けられますが、“大量連日”という表現は不明瞭に思われ、また、耐用性が十分に良いと言い切れるのか、躊躇されます。肝臓に対する影響も明らかと言えるのか、コメントがほしいと考えます。

表 29　ヒトにおける~~試験~~知見の概要

| 投与対象 | 投与量及び期間 | 投与経路 | 概要 |
|---|---|---|---|
| 男女各 4 名 | ～20 mg/ヒト | 不明 | 20 mg/ヒトの投与において、血漿コルチゾール濃度が投与前の 20%にまで抑制された。<br>副腎の反応~~性~~の抑制に関する NOAEL は 10 mg/ヒトであった。 |
| 子宮内膜腺がんを有する女性 3 名 | 20～60 mg/日、5～21 か月間 | 不明 | 悪性腫瘍の顕著な退縮。肝機能、Hb 又は BUN 濃度には明らかな悪影響は認められなかった。 |
| がん患者 37 名 | 100～300 mg/ヒト/日以上、2～26 週間 | 不明 | 食欲増進（患者の 35%）、顔のむくみ（24%）、血圧の上昇（14%）、BUN の増加（27%）、浮腫（16%） |
| 女性（人数不明） | 5、7.5、10 mg/日、月経周期 21 日目から 20 日間 | 経口 | 7.5 mg/日以上の投与で月経開始の遅延。<br>5 mg/日（80 μg/kg 体重/日）の投与では遅延しなかった。 |
| 女性 3 名 | 2.5 mg/日（エチニルエストラジオール 0.05 mg/日を併用） | 経口 | 月経周期 6 日目からの投与では子宮内膜の腺及び血管の発達が抑制された。 |
| エストロゲンで薬物刺激された無月経女性 11 名 | 5、7.5、10 mg の単回投与又は 2.5 mg/日の 5 回投与（42 μg/kg 体重/日相当） | 経口 | 消退出血がみられた。 |
| 詳細不明 | 10 mg/ヒト | 不明 | 副腎の反応性を抑制しない用量である 10 mg/ヒト（0.166 mg/kg 体重/日相当）が免疫抑制作用の NOAEL と推定することができる。 |

ヒトでは、MGA は治療薬として使用されていないが、関連物質である酢酸メゲストロール（以下「MA」という。）及び酢酸メドロキシプロゲステロン（以下「MPA」という。）が避妊、子宮内膜症及び乳房、子宮内膜、卵巣、精巣がんの治療に用いられている。

子宮内膜症及びがん治療に経口的に用いられるMA又はMPAの量は、30～80 mg/日の範囲である。避妊に経口的に使用されるMPAの量は低く、2.5～10 mg/日の範囲~~の~~である。一方で、MAは0.35～0.5 mg/日の範囲と報告されている。エストロゲンで薬物刺激された女性の月経の抑制及び子宮頸管粘膜の変化の両方に基づき、MGAはMAほどの効力を持たないと推測されている。牛~~プロゲステロン受容体~~PRに対するMPAの相対的結合親和性は、プロゲステロンに比べて233%であったが、MGAでは526%であった。ヒト及び実験動物におけるデータでは、子宮内膜における活性についてMGAはMPAの約4倍の効力を有している。この情報~~と、~~及びMPAの~~最低~~薬理学的活性を示す最低用量（2.5～10 mg/日）の情報~~はともに~~から、MGAの~~どんな~~あらゆる薬理学的影響~~でも明確に~~を認識~~できるよう~~するために~~発現させるために~~必要なヒト経口投与量は、~~ヒトにおけるMGAの経口投与量を~~0.5 mg/日（体重60 kgのヒトで8 μg/kg体重）以上~~必要~~であること~~を~~が示唆~~し~~された。（参照6）[JECFA FAS61 -4.]

## III. 国際機関等における評価

【事務局より】 JECFA における評価と EU における状況について、時系列にまとめなおしました。

### 1．JECFA における評価及び EU における状況

#### （1）EU における取扱い

1989 年、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ンの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、肉の生産におい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、ゼラノール、酢酸トレンボロン及び MGA を単独又は併用で使用することが禁止された。1999 年に SCVPH（The Scientific Committee on Veterinary Measures relating to Public Health）は、これら 6 種類のホルモンのいずれにも閾値は設定することができないとの意見を取りまとめた。MGA については、利用可能な情報は MGA を投与された動物由来の食肉及び食肉製品の消費者に対するリスクの定量的な推定のためには不十分であるとされた。（参照 21）[21：EC1999 -Opinion]

#### （2）JECFA の評価（2000 年）の概要

JECFA は、2000 年に MGA の評価を行い、MGA 残留物の安全性を評価する際の最も適切なエンドポイントは、非ヒト霊長類におけるプロゲステロン活性であると結論した。カニクイザルの雌の月経周期に及ぼす MGA の最小有効用量（minimally effective dose）である 5 μg/kg 体重/日に安全係数 200 を適用することにより、0-0.03 μg/kg 体重/日の一日摂取許容量（ADI）を設定している。この安全係数 200 は、ADI が明確な NOAEL に基づいていないために用いられた。（参照 3）[3：JECFA FAS45 -4.]

#### （3）~~JECFA の評価（2000 年）後の~~ EU における状況（JECFA の評価（2000 年）後）

1999 年に公表された 6 種類のホルモンのいずれにも閾値は設定することはできないとする意見について、EC は 2000 及び 2002 年に再検討した。特に 2002 年の再検討では、17 の特殊試験の結果も考慮されたが、結論を変えることはなかった。（参照 22、23）[22：EC2000 -Review][23：EC2002 -Opinion]

その後、2007 年に EFSA の CONTAM パネル（The Panel on Contaminants in the Food Chain）は、エストラジオール-17βを除く 5 種類のホルモンについて、2002 年から 2007 年初めまでに得られた科学文献を評価した。

① 2002 年から 2007 年初めまでに公表された新たなデータにより、成長促進ホルモンとして使用されるステロイドホルモン及びホルモン様物質の影響に関する最新の知見が確認・拡張された。なお、ここでの成長促進ホルモンとは、特定の受容体との相互作用のみで作用するものではない。

ステロイドホルモンの複雑な作用機構を理解することは、未だ科学的な研究の課題であり、ホルモンの恒常性を調節する複雑なゲノム及び非ゲノム機構への新しい知見が、現れてきている状況である。

② *In vitro* の系において、エストロゲン、アンドロゲン及びプロゲステロンの受容体

親和性、遺伝子発現調節という点に関しては、細胞増殖及びアポトーシスという点と同様に、ゼラノール、トレンボロン及び酢酸メレンゲステロールの作用は、最も活性の高い天然ホルモンと同等か、それ以上である。これらの *in vivo* の系における作用の重要性に関して、肉中残留に伴う暴露レベルでの知見は不足している。

③ 成長促進ホルモン（5 種類全てについて検討）及びそれらの現時点で知られている主要代謝物の同定・定量を可能にする、高感度の分析方法が利用出来るようになりつつある。天然ホルモンである、テストステロンやプロゲステロンに関しては、この分析方法により、内因性であるか外因性であるかの区別が出来る。しかし、この分析方法はまだ実験レベルで非常に限られたものに用いることが出来るのみであり、より広範囲に適用できる方法が待たれている。

④ 調査研究から得られるデータが不足しているため、成長促進ホルモンの残留による暴露量を定量することは出来ない。とりわけ、牛を用いたトレンボロン、ゼラノール及び酢酸メレンゲステロールの代謝に関するデータ、すなわち、肉牛に対する実際の使用条件下での成長促進ホルモンの使用による、組織中残留量及びその起源のデータは、評価するには不十分である。

⑤ 赤肉（red meat）の消費とホルモン依存性の乳がん及び前立腺がんの相関を示唆する疫学データが増えてきている。しかし、多くの交絡因子が存在するため、肉中のホルモン残留による寄与がどの程度であるかは、これらの研究からは定量化できない。

⑥ 第三国で行われている大規模な牛の生産及び成長促進ホルモンの使用は、牛の農場からの廃水と密接に関係する水生生物への悪影響と関連付けられる。

以上のことから、CONTAM パネルは、公表されている新しいデータは、リスクの特徴付けに対して有益な定量的情報ではにないため、SCVPH の上述の意見（1999、2000 及び 2002 年）の改訂を必要とするものでないと判断している。（参照 14）[EFSA Journal, 2007]

### （４）JECFA の評価（2009 年）の概要

コーデックス委員会食品残留動物用医薬品部会（CCRVDF）は、2007 年の第 17 回会合において、EC により提出された毒性学的及びホルモン作用に関する新たな科学的データに基づき、MGA の評価を再考することを求めたことから、JECFA は、2009 年に MGA の再評価を行った。新たな資料は、EC から提出され、1996 年から 2007 年までに公表された科学的な文献及び EC に対して提出された非公表の調査報告書が含まれる。

MGA の評価に当たり、EC の提出資料に含まれる添え書きにおいて、CCRVDF は特に以下について具体的な検討を求めた。

① 免疫系や内分泌学的作用に関する思春期前の子どもたち（及び暴露され得る他の亜集団）への影響など、重要なエンドポイントを再考すること。

② ホルモンが、ホルモン介在受容体だけでなく、他のメカニズム（例えば、直接及び間接的遺伝毒性影響）を介して作用することを示すデータを議論すること。

③ 成長促進の目的でこれらのホルモンを処置した動物由来の食肉中の残留からデータを再計算し、特に改善された分析能力由来のアカウントデータを考慮すること。

④ 動物用医薬品の使用の優れた適正使用（good practice of use of the veterinary drugs）の許可された使用が、潜在的な暴露とリスクの推定に対する評価及びそれぞれの影響において適切であると考えられることを正確に説明すること。

JECFA は、CCRVDF からの検討事項に対し回答するため、2000 年に実施された前回の毒性学的評価に用いた MGA に関するデータ及びそれ以降の公開又は提出されている MGA のいくつかの新しい試験だけでなく、ヒトの生殖、出生前及び子どもの発達並びにがんにおけるプロゲストーゲンの役割に関するより一般的な情報も検討した。また、免疫毒性の問題についても検討した。

① MGA がプロゲストーゲン及びグルココルチコイドの両方の作用を有し、また、前回及び新しいデータから、これらが MGA の主要なホルモン活性であること、*in vitro* では比較的高い濃度においても弱いエストロゲン活性しか示さないことを JECFA は確認した。

② 食品からの MGA ばく露されたヒトの血漿中 MGA 濃度に関するデータはない。しかし、牛、ラット、ウサギ及びヒトにおける MGA の吸収及び代謝における類似性を示した前回会合で検討された比較データに基づき、ADI の上限値（0.03 μg/kg 体重/日）をヒトが摂取したときの血漿中 MGA 濃度は 0.5～1 pg/mL と推定された。この濃度は、エストロゲン活性の感受性の指標であるヒト乳がん細胞株の MCF-7 細胞における増殖刺激に必要な最小濃度の 1/4,000 未満である。また、ウサギにおける 0.5 mg/kg 体重の MGA の経口投与後の血漿中 MGA 濃度は、1 mL 当たりナノグラムの範囲であり、これは、MCF-7 細胞のエストロゲン受容体に影響するのに必要な MGA の最小濃度と同じ範囲がある。この試験の投与量は、食肉中の残留にばく露されるヒトの最大摂取量よりも 17,000 倍も大きいことを考慮すると、ADI の上限で消費を想定し、種差（ウサギ対ヒト）によって不確実性が導入されたとしても、食品中に残留した MGA が、この薬で処置された動物の肉を消費するヒトになんらかのエストロゲン作用を示すことはほとんどない。MGA は、*in vitro* 及び *in vivo* の両方で遺伝毒性作用がなく、このような閾値のない発がんメカニズムがなんらかの役割を果たす可能性は低いことについても JECFA はまた確認した。

③ プロゲストーゲンの活性に関しては、エストロゲン及びプロゲストーゲンの併用経口避妊薬又はホルモン補充療法によりプロゲストーゲンにばく露されたヒトにおいて、乳がんのリスクに小さいが有意な上昇がみられており、証拠から、プロゲストーゲン様作用物質は、がんのイニシエーターとしてよりもプロモーターとして作用することが示唆されている。プロゲストーゲン活性による比較推定に基づくと、ヒトが肉を摂取することにより ADI 上限値での MGA 及び代謝物の暴露量は、薬理学的に活性を示すような摂取量の 1/200～1/300 倍低く、プロゲステロン受容体に測定可能な何らかの影響を生じる量、何らかの影響を及ぼす摂取量には至らない。MGA はマウスに乳腺腫瘍を誘起するが、これは増殖活性を有するプロラクチン分泌によるものであり、この影響に対する明らかな NOEL 0.5 mg/kg 体重/日が得られている。この NOEL は、ADI 上限値の暴露よりも 15,000 倍も高い量である。JECFA は、それゆえ、MGA 及びその代謝物の残留が乳がんの発達に何らかの影響

を及ぼすとは考えにくいと結論した。

④ MGA のグルココルチコイド活性及び免疫抑制作用に関しては、新しい知見は得られなかった。しかし、ヒトにおける MGA に対する副腎ホルモン応答性に対する NOEL は、ADI 上限値のばく露量よりも少なくとも 10,000 倍高い量であることを JECFA は確認した。同様に、免疫抑制作用に対する NOEL は ADI 上限値によるばく露量よりも 1,000 倍高い量である。

総合的にみて、JECFA は、新たなデータは ADI を見直すためのいかなる根拠も提供しないと結論した。一日当たり 0.25～0.5 mg/頭の用量で未経産牛に混餌投与した結果、食肉中に残留した MGA 及びその代謝物のヒトへのばく露が、成人、子供、胚又は胎児に対しなんらかの有害影響を示すとは考えにくい。(参照 5、○) [5：JECFA FAS61 -4.][○：TRS954]

## 2．FDA の評価

FDA は ADI を設定していない。

連邦規則集（CFR）第 21 巻において、MGA の牛脂肪中の耐容量（tolerance）は 25 ppb と設定されている（§556.380）[30]。（参照 24）[21CFR556.380]

## 3．豪州政府 ~~APVMA~~ の評価

豪州政府は、2000 年に MGA の ADI を設定している。

サルの慢性的な経口投与試験の 10 µg/kg 体重/日投与群におけるホルモン及び月経周期の変化に基づき得られた NOEL 5 µg/kg 体重/日（0.005 mg/kg 体重/日）に安全係数 100 を適用し、ADI を 0.00005 mg/kg 体重/日と設定している。（参照 25）[ADI LIST]

[30] カッコ内は該当セクションを指す。

## Ⅳ．食品健康影響評価

$\boxed{\text{未審議}}$

［審議後に記載。］

表 30　JECFA における各種試験の無毒性量等の比較

| 動物種 | 試験 | 投与量（mg/kg 体重/日） | 無毒性量（mg/kg 体重/日） |
|---|---|---|---|
| マウス | 10 日間亜急性毒性試験 | 0.033、0.166、0.33、1.3、3、5、7.5（経口投与） | 4.2（最小有効用量）<br>発情抑制 |
| | 20 日間亜急性毒性試験 | 0、0.25、0.5、2.5、5、10、15、20、25、40<br>（混餌投与） | 設定できず。<br>C3Han/f マウスで乳腺発達の程度が高い。 |
| | 20 日間亜急性毒性試験 | 0、0.5、1.5、2.5、5、19、25（混餌投与）<br>＋MEA | 設定できず。<br>血清プロラクチン濃度及び乳腺発達の上昇 |
| | 20～21 日間亜急性毒性試験 | 0、0.05、0.25、0.5、1.5、2.5、5、25（混餌投与） | 1.5<br>体重増加 |
| | 30 日間亜急性毒性試験 | 0、1、3、10、30<br>（強制経口投与） | 1<br>黄体無形成 |
| | 1 年間発がん性試験 | 0、0.5、1.5、2.5、5、10、15、25（混餌投与）<br>＋MEA 100 μg/匹/日（皮下投与） | 設定できず。<br>血清プロラクチン濃度の上昇 |
| | 24.5 か月間発がん性試験 | 0、0.017、17<br>（混餌投与） | －<br>乳腺がんの僅かで有意ではない増加 |
| | 27 か月発がん性試験 | 0、0.5、1、1.5、2.5、5、10、15、25（混餌投与） | 1<br>乳腺腫瘍増加 |
| | 29 か月間発がん性毒性試験 | 0、0.5、1、1.5、2.5、5、10、15、25（混餌投与）<br>＋MEA 100 μg/匹/日（皮下投与） | 0.5<br>乳腺腫瘍発生 |
| | 33 か月間発がん性試験 | 0、0.017、17<br>（混餌投与） | －<br>乳腺がんの増加 |
| ラット | 28 日間亜急性毒性試験 | 0、1、3、10<br>（強制経口投与） | 設定できず。<br>副腎、子宮及び卵巣重量の低下 |
| | 90 日間亜急性毒性試験 | 0、0.015、0.15、0.3<br>（混餌投与） | 0.015（最小有効用量）<br>病理組織学的変化（乳腺腫大） |
| | 90 日間亜急性毒性試験 | 0、0.055<br>（混餌投与） | 設定できず。<br>副腎、卵巣及び精巣重量の低下 |
| | 1 世代繁殖試験（投与期間：交配前～離乳） | 0、0.03、0.06、0.13、0.25、1（混餌投与） | 0.03<br>繁殖毒性 |
| | 発生毒性試験（投与期間：妊娠 9～20 日） | 2（皮下投与） | 設定されず。 |
| | 発生毒性試験（投与期間：妊娠 6 日） | 0、15、25、50、100<br>（皮下投与） | 持続性徐放製剤のトキシコカイネティクスの情報がないため設定されず。 |
| ウサギ | 22 日間亜急性毒性試験 | 20（筋肉内投与） | 設定できず。<br>Chol.、Glu、LDH 及び ALP 活性の上昇、肝腫大、筋肉萎縮及び副腎萎縮、グリコーゲン沈着、細胞質空胞化を伴う肝細胞腫脹、副腎球状帯の顆粒の減少 |

| 動物種 | 試験 | 投与量（mg/kg 体重/日） | 無毒性量（mg/kg 体重/日） |
|---|---|---|---|
| | 発生毒性試験（投与期間：妊娠 6～18 日） | 0、0.016、0.064、0.16、0.4、0.8、1.6、3.2、6.4（経口投与） | 児動物：0.4<br>発生毒性（生存胎児数、平均同腹児及び胎児重量の低下） |
| | 発生毒性試験（投与期間：妊娠 6 日） | 0、25、50（皮下投与）<br>0、5、15（皮下投与） | 設定できず。<br>持続性徐放製剤のトキシコカイネティクスの情報がないため。 |
| イヌ | 29 日間亜急性毒性試験 | 0、1、3、10（経口投与） | 設定できず。<br>体重の軽度の低下及び摂餌量の増加、肝臓の絶対及び相対重量の増加並びに副腎重量の低下、肝臓、尿細管上皮及び副腎束状層の蒼白化細胞質を有する細胞の出現 |
| | 2 年間慢性毒性試験 | 0、0.001、0.002、0.008/0.004（経口投与） | 0.001<br>ホルモン活性 |
| | 1 世代繁殖試験（投与期間:240 日間又は発情まで） | 0.001、0.005、0.01、0.02、0.04、0.08（経口投与） | 設定できず。<br>（NOAEL を求めるには不十分な試験であるとされた。） |
| | 1 世代繁殖試験（投与期間：分娩予定前 5～16 日間又は妊娠期間中） | 0.1/匹（経口投与） | 設定できず。<br>児の体重増加 |
| | 1 世代繁殖試験（投与期間：交配を含む 2 年間） | 0、0.001、0.002、0.008/0.004（経口投与） | 0.002<br>雌の繁殖能（発情抑制、分娩障害） |
| サル | 投与試験（1 月経周期：35 日間） | 0、0.0015、0.015、0.075、0.15（経口投与） | 0.0015<br>排卵抑制 |
| | 投与試験（1 月経周期：35 日間まで） | 0、0.0025、0.005、0.01（経口投与） | 設定できず。<br>LH の抑制 |
| | 投与試験（3 連続月経周期：最大 105 日間） | 0、0.005、0.01、0.025（経口投与） | 0.005（最小有効~~投与用~~量）<br>月経周期の変化 |
| 牛 | 投与試験（発情後 15～116 日間） | 0.00016、0.0007、0.0011（混餌投与） | 設定できず。<br>発情抑制 |
| | 投与試験（2.5～11.3 か月齢） | 0、0.0018（混餌投与） | 設定できず。<br>ホルモン濃度変化 |
| | 1 世代繁殖試験（投与期間：妊娠 90 日から分娩後 35 日までの 236 日間） | 0、0.002（混餌投与） | －<br>異常はみられなかった。 |
| | 1 世代繁殖試験（投与期間:約 210 日齢～774 日齢） | 0、1 mg/頭 | －<br>異常はみられなかった。 |
| 毒性学的 ADI | | | 0～0.00003 mg/kg 体重/日<br>~~NOAEL~~ 最小有効用量：0.005 mg/kg 体重/日<br>SF：200 |
| 毒性学的 ADI 設定根拠資料 | | | サル投与試験（3 連続月経周期間） |
| ADI | | | 0～0.00003 mg/kg 体重/日 |

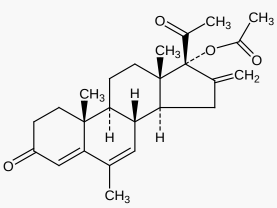
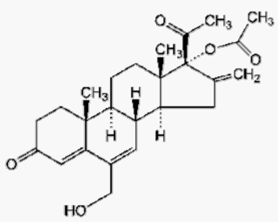
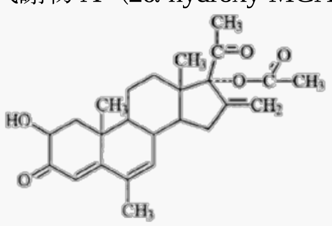
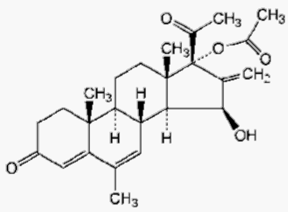
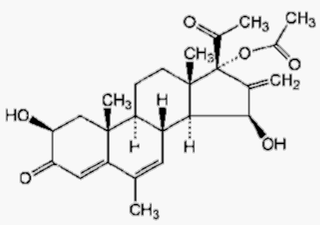
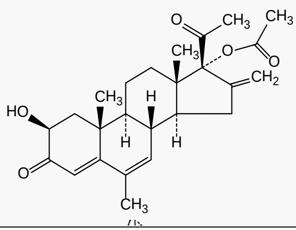
－：NOEL 等の記載なし

＜別紙１：代謝物/分解物略称＞

| 略称 | 化学名 |
|---|---|
| ~~2α-hydroxy-MGA~~ A | 2α-hydroxy-MGA (17-acetoxy-2α-hydroxy-6-methyl-16-methylenepregna-4,6-diene-3,20-dione) |
| B | 2β,15 β-dihydroxy-MGA (17-acetoxy-2β,15β-dihydroxy-6-methyl-16-methylenepregna-4,6-dien-3,20-dione) |
| C | 6-hydroxymethyl-MGA (17-acetoxy-6-hydroxymethyl-16-methylenepregna-4,6-diene-3,20-dione) |
| D | 15β-hydroxy-MGA (17-acetoxy-15β-hydroxy-6-methyl-16-methylenepregna-4,6-dien-3,20-dione) |
| E | 2β-hydroxy-MGA (17-acetoxy-2β-hydroxy-6-methyl-16-methylenepregna-4,6-dien-3,20-dione) |

【事務局より】　化学名について追記いたしました。ご確認いただきますようお願いいたします。

＜参考：各代謝物の構造式＞

| | |
|---|---|
| MGA  | 代謝物 C：  |
| 代謝物 A（2α-hydroxy-MGA）  | 代謝物 D：  |
| 代謝物 B：  | 代謝物 E：  |

＜別紙 2：検査値等略称＞

| 略称等 | 名称 |
|---|---|
| ADI | 一日摂取許容量 |
| ALP | アルカリホスファターゼ |
| ALT | アラニンアミノトランスフェラーゼ<br>［=グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ（GPT)］ |
| AR | アンドロゲン受容体 |
| AST | アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ<br>［=グルタミン酸オキサロ酢酸トランスアミナーゼ（GOT)］ |
| AUC | 薬物濃度曲線下面積 |
| BUN | 血液尿素窒素 |
| CFR | 連邦規則集 |
| Chol. | コレステロール |
| CYP | チトクローム P450 |
| EFSA | 欧州食品安全機関 |
| ER | エストロゲン受容体 |
| FSH | 卵胞刺激ホルモン |
| GC | ガスクロマトグラフ |
| GC-MS | ガスクロマトグラフ~~ィー/~~・質量分析 |
| Glu | グルコース（血糖）値 |
| GLP | 優良試験所基準 |
| GR | グルココルチコイド受容体 |
| HPLC | 高速液体クロマトグラフ~~ィー~~ |
| HPLC-MS | 高速液体クロマトグラフ~~ィー/~~・質量分析 |
| HPLC-UV | 高速液体クロマトグラフ~~ィー/~~・紫外吸光検出器 |
| Hb | ヘモグロビン量（血色素量） |
| Ht | ヘマトクリット値 |
| JECFA | FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議 |
| LSC | 液体シンチレーション計測 |
| $LD_{50}$ | 半数致死量 |
| LC-MS | 液体クロマトグラフ~~ィー/~~・質量分析 |
| LDH | 乳酸脱水素酵素 |
| LH | 黄体形成ホルモン |
| LOAEL | 最小毒性量 |
| LOD | 検出限界 |
| LOQ | 定量限界 |
| MC | メチルセルロース |
| NMR | 核磁気共鳴 |

| | |
|---|---|
| NOAEL | 無毒性量 |
| NOEL | 最大無作用量 |
| PR | プロゲステロン受容体 |
| RBC | 赤血球数 |
| RIA | 放射免疫測定法 |
| $T_{1/2}$ | 消失半減期 |
| WBC | 白血球数 |

＜参照＞


1. 食品、添加物等の規格基準（昭和 34 年厚生省告示第 370 号）の一部を改正する件（平成 17 年 11 月 29 日付、厚生労働省告示第 499 号）
2. The Merck Index. 15th Edition. 2013.
3. JECFA: Melengestrol Acetate: Toxicological evaluation of certain veterinary drug residues in food. The fifty-fourth meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA). WHO Food Additives Series, No. 45, 2000 ［JECFA FAS45］
4. Duncan, G. W., Lester, S. C., Hendrix, J. W., Clark, J. J. & Webster, H. D: Biological effects of melengestrol acetate. Fertility and sterility, 1964; 15: 419-432 ［文献(Duncan et al., 1964)］
5. ファイザー株式会社. 酢酸メレンゲステロール残留基準見直し用資料（全 2 巻）: Melengestrol Acetate (MGA). Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. , 6 August 1999 ［見直し用資料］
6. JECFA: Melengestrol Acetate: Toxicological evaluation of certain veterinary drug residues in food. The seventieth meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA). WHO Food Additives Series, No.61, 2009 ［JECFA FAS61］
7. Lange IG, Daxenberger A, Meyer HH, Rajpert-De Meyts E, Skakkebaek NE, Veeramachaneni DN: Qantitative assessment of foetal exposure to trenbolone acetate, zeranol and melengestrol acetate, following maternal dosing in rabbits. Xenobiotica, 2002; 32(8): 641-651. ［文献(Lange et al., 2002)］
8. JECFA: Residues of some veterinary drugs in animals and foods. FAO Food and Nutrition Paper 41/13, 2000 ［FAO FNP41/13］
9. Krzeminski LF, Cox BL, Gosline RE: Fate of radioactive melengestrol acetate in the bovine. Journal of agricultural and food chemistry, 1981; 29(2): 167-171 ［文献(Krzeminski et al., 1981)］

A. Daxenberger A, Meyer K, Hageleit M, Meyer HH.: Detection of melengestrol acetate residues in plasma and edible tissues of heifers. The Veterinary quarterly. 1999 Oct; 21(4): 154-158. ［文献（Daxenberger et al., 1999)］

I. Cooper JM, Elce JS, Kellie AE: The metabolism of melengestrol acetate. The Biochemical Journal. 1967 Sep; 104(3): 57-58. ［文献（Cooper et al., 1967)］

10. JECFA: Melengestrol Acetate: Evaluation of certain veterinary drug residues in food. The sixty-second meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA). WHO Technical Report Series, No. 925, 2004 ［JECFA TRS925］
11. JECFA: Residues of some veterinary drugs in animals and foods. FAO Food and Nutrition Paper 41/16, 2004 ［FAO FNP 41/16］
12. Joosten HF, van Acker FA, van den Dobbelsteen DJ, Horbach GJ, Krajnc EI: Genotoxicity of hormonal steroids. Toxicology letters, 2004; 151(1): 113-134 ［文献(Joosten et al., 2004)］

13. Brambilla G, Martelli A: Are some progestines genotoxic liver carcinogens? Mutation Research, 2002; 512(2-3): 155-163 ［文献(Brambilla, et al., 2002)］

B. Metzler M, Pfeiffer E: Genotoxic potential of xenobiotic growth promoters and their metabolites. APMIS. 2001 Feb;109(2):89-95. ［文献(Metzler & Pfeiffer, 2001)］

C. Kayani MA, Parry JM: The detection and assessment of the aneugenic potential of selected oestrogens, progestins and androgens using the in vitro cytokinesis blocked micronucleus assay. Mutatation Research, 2008 Mar 12; 651(1-2): 40-45. ［文献 (Kayani & Parry, 2008)］

D. Kranz S, Pfeiffer E, Metzler M: Formation of DNA adducts of melengestrol acetate in precision cut rat liver slices. Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology. 2002; 365 Supp 1: R140. ［文献(Kranz et al., 2002)］

E. Siddique YH and Afzal M: A Review on the Genotoxic Effects of Some Synthetic Progestins. International Journal of Pharmacology, 2008; 4(6): 410-430. ［文献(Siddique & Afzal, 2008)］

14. EFSA: Opinion of the scientific panel on contaminants in the food chain on a request from the European Commission related to hormone residues in bovine meat and meat products. The EFSA Journal 510, 2007 [EFSA Journal, 2007]

F. Anway MD, Cupp AS, Uzumcu M, Skinner MK: Epigenetic transgenerational actions of endocrine disruptors and male fertility. Science, 2005 Jun 3; 308(5727): 1466-1469. ［文献(Anway et al., 2005)］

G. Wierman ME: Sex steroid effects at target tissues: mechanisms of action. Advances in physiology education, 2007 Mar; 31(1): 26-33. ［文献(Wierman, 2007)］

15. Goyings LS, Sokolowski JH, Zimbelman RG, Geng S: Clinical, morphologic, and clinicopathologic findings in Beagles treated for two years with melengestrol acetate. American journal of veterinary research, 1977; 38(12): 1923-1931 ［文献(Goyings, et al., 1977)］

16. Schairer C: Progesterone receptors-animal models and cell signalling in breast cancer. Implications for breast cancer of inclusion of progestines in hormone replacement therapies. Breast Cancer Research, 2002; 4(6): 244-248 ［文献(Schairer, 2002)］

17. Conneely OM, Jericevic BM, Lydon JP: Progesterone Receptors in mammary gland development and tumorigenesis. Journal of mammary gland biology and neoplasia, 2003; 8(2): 205-214 ［文献(Conneely et al., 2003)］

18. Zimbelman RG, Smith LW: Control of ovulation in cattle with melengestrol acetate. I. Effect of dosage and route of administration. Journal of reproduction and fertility, 1966; 11(2): 185-191 ［文献(Zimbelman & Smith, 1966a)］

19. Zimbelman, RG, Smith LW: Control of ovulation in cattle with melengestrol acetate. II. Effects on follicular size and activity. Journal of reproduction and fertility, 1966; 11(2): 193-201 ［文献(Zimbelman & Smith, 1966b)］

20. Piedkalns J: Effect of melengestrol acetate on the bovine ovary. Zeitschrift fur Zellforschung und mikroskopische Anatomie, 1971; 122 (1): 85-110 [文献(Piedkalns, 1971)]

H. Corrigan ME, Drouillard JS, Spire MF, Mosier DA, Minton JE, Higgins JJ, et al: Effects of melengestrol acetate on the inflammatory response in heifers challenged with Mannheimia haemolytica. Journal of animal science. 2007 Jul; 85(7): 1770-1779. [文献(Corrigan ME et al., 2007)]

21. EUROPEAN COMMISSION. Opinion of the Scientific Committee on Veterinary Measures Relating to Public Health. Assessment of Potential Risks to Human Health from Hormone Residues in Bovine Meat and Meat Products. 1999 [EC1999-Opinion]

22. EUROPEAN COMMISSION. Review of Specific Documents Relating to the SCVPH Opinions of 30 April 99 on the Potential Risks to Human Health from Hormone residues in Bovine Meat and Meat Products. 2000 [EC2000-Review]

23. EUROPEAN COMMISSION. Opinion of the Scientific Committee on Veterinary Measures Relating to Public Health on Review of Previous SCVPH opinions of 30 April 1999 and 3 May 2000 on the Potential Risks to Human Health from Hormone Residues in Bovine Meat and Meat Products. 2002 [EC2002-Opinion]

24. FDA (US Food and Drug Administration): 21CFR (Code of Federal Regulations title 21) 21CFR556.380 Revised as of April 1, 2015. [21CFR556.380]

25. Australian Government Department of Health: ADI LIST. Acceptable Daily Intakes for Agricultural and Veterinary Chemicals. Current as of 31 December 2014. [ADI LIST]