

食品安全委員会動物用医薬品専門調査会

(第 137 回) 議事録

1. 日時 平成 24 年 2 月 29 日 (水) 10:00～11:43

2. 場所 食品安全委員会中会議室

3. 議事

(1) 動物用医薬品 (キシラジン) に係る食品健康影響評価について

(2) その他

4. 出席者

(専門委員)

三森座長、石川整専門委員、小川専門委員、天間専門委員、能美専門委員、
福所専門委員、舞田専門委員、松尾専門委員、山崎専門委員、山手専門委員、
渡邊専門委員

(欠席専門委員)

石川さと子専門委員、寺本専門委員、頭金専門委員、山口専門委員、

(食品安全委員会)

小泉委員長、熊谷委員、長尾委員、廣瀬委員、野村委員

(事務局)

栗本事務局長、本郷事務局次長、坂本評価課長、前田評価調整官、関谷課長補佐、
福永評価専門官、渡邊係長

5. 配布資料

資料 1 意見聴取要請 (平成 24 年 2 月 28 日現在)

資料 2 (案) 動物用医薬品評価書 「キシラジン」

資料 3 キシラジンの代謝について

参考資料

6. 議事内容

○三森座長 それでは、ただ今から第 137 回動物用医薬品専門調査会を開催いたします。

本日は、石川さと子専門委員、頭金専門委員、寺本専門委員、山口専門委員の 4 名が御欠

席でございます、11名の専門委員が御出席の予定でございます。福所専門委員、能美専門委員、山崎専門委員、渡邊専門委員の4名の先生方が雪のために少し遅れているようですが、調査会を始めさせていただきたいと思います。

それでは、議事に入りたいと思います。

本日の会議全体のスケジュールにつきましては、お手元に第137回動物用医薬品専門調査会議事次第が配布されておりますので、御覧いただきたいと思います。

議題に入ります前に、事務局より議事、資料等の確認をお願いいたします。

○関谷課長補佐 本日の議事、資料等の説明をさせていただきます。

まず、本日の議事は、動物用医薬品キシラジンに係る食品健康影響評価、それからその他ということになります。

次に、資料の確認をさせていただければと思います。本日の議事次第、委員名簿、座席表、それから資料が1から3までございます。それから、参考資料は少し厚い束がございます。それから、机上配布としまして、先生方の机上に1枚紙の横表を配らせていただいております。資料1は、意見聴取要請（平成24年2月28日現在）、それから資料2がキシラジンの評価書の案でございます。それから、資料3は、これも1枚紙ですが、キシラジンの代謝についてでございます。

資料の確認については以上でございます。不足の資料等はございますでしょうか。

○三森座長 それでは、議題の1に入らせていただきます。動物用医薬品キシラジンに係る食品健康影響評価です。

審議に入ります前に、今回の評価依頼に際して提出されました参考文献2の公表論文4報については私と廣瀬委員が著者となっておりますことから、「食品安全委員会における調査審議方法等について」（平成15年10月2日食品安全委員会決定）に規定された利用資料作成者に該当いたしますことを御報告いたします。したがって、これらの資料については発言が必要と専門調査会が認めた場合に限り、意見を述べることができるとされています。これらの公表論文については、ラットの代謝、発がんプロモーション作用など、審議の全体にも関係してきておりますので、この品目の議事進行については座長代理の山手先生にお願いしたいと思います。

○山手座長代理 座長代理の山手でございます。今、三森先生から御説明がありましたように、このキシラジンの代謝等の議論に関しましては、座長にかわりまして、不慣れな点もあるかと思いますが、議事進行を行わせていただきます。

先ほど三森先生から御報告ありましたが、お手元の資料2になりますが、19ページを御覧ください。5. 亜急性毒性試験の(1)ラットを用いた4週間亜急性毒性試験、それと24ページからの6. 慢性毒性及び発がん性試験の(2)キシラジンの発がん促進作用に関する知見の①から③、それと、お手元の資料3になりますが、先ほど申し上げました試験を元に記載されていますラットを用いた単回強制経口投与試験、それとラットを用いた4週間混餌投与毒性試験、それとラットを用いた52週間混餌投与毒性試験、これらが廣瀬委員と三森先生が資

料作成者となられています。

そこで、本専門調査会として、試験に関与された廣瀬委員、三森先生にも適宜御意見を伺うのがよいのではないかと思います。その点、先生方、いかがでしょうか。問題ないでしょうか。

ありがとうございます。それでは、適宜御意見を伺うということで、そのように取り扱わせていただきたいと思います。

それでは、事務局から御説明をよろしくお願いいたします。

○福永評価専門官 それでは御説明いたします。

本日御審議をお願いするキシラジンにつきましては、いわゆるポジティブリスト制度の導入に伴い暫定基準が設定された動物用医薬品となっております。暫定基準が設定された動物用医薬品等につきましては、「暫定基準が設定された農薬等の食品健康影響評価の実施手順」に基づき評価を行うこととされております。JECFA、EMEA 等の国際リスク評価機関の評価書をもとに、いわゆる評価書評価として御審議いただくもののほか、国際機関において ADI が設定できないとされているような物質につきましては、優先物質として、評価書評価ではなく、通常の毒性試験成績等をもとに評価を行うこととされております。

このキシラジンにつきましては、JECFA において、代謝物に遺伝毒性発がん物質である 2,6-キシリジンが生成されることから ADI は設定できないとされていたため、優先物質とされたものでございます。EMEA の評価ではこの代謝物は生成されないと結論されており、薬理的及び毒性学的データが限られているということで、ADI は設定できなかったとしております。ADI の設定ができるかどうか、このキシラジンの代謝物として 2,6-キシリジンが生成されるのかどうか、並びに 2,6-キシリジンの遺伝毒性及び発がん性の考え方が議論のポイントとなっております。本日はこのポイントについて御議論、御検討いただければと思います。

まず、資料 2 をお願いいたします。

3 ページでございますが、審議の経緯でございます。2007 年の 7 月に厚生労働省より暫定基準設定に係る食品健康影響評価について要請がなされたものでございます。

6 ページをお願いいたします。このキシラジンの概要でございますが、用途は鎮静剤でございます。成分の一般名、化学名、分子式、分子量、構造式につきましては、記載のとおりでございます。

23 行目から使用目的及び使用状況等でございますが、キシラジンは $\alpha 2$ アドレナリン作動薬として中枢神経系に作用しまして、鎮静、鎮痛及び筋弛緩作用を示すものでございます。この中で最も強いものは鎮静作用ということです。化学構造的にはヒトの医薬品のクロニジンと似ておりますが、このキシラジンにつきましては、ヒト用医薬品としての使用はなされておられません。日本では動物用医薬品として承認されておまして、牛、それから馬に対してそれぞれ筋肉内投与あるいは静脈内投与の用途で使われております。海外におきましても静脈内及び筋肉内投与ということで、牛、馬に用いられているものでございます。

7 ページをお願いいたします。キシラジンにつきましては、先ほどの筋肉内、静脈内投与、

またほかに皮下の投与もあるようなのですが、記載されているとおり、バルビツール酸等のほかの睡眠薬として組み合わせて使われるものでございます。

それから、6行目に入らせていただきます。安全性に係る知見の概要でございます。

まず、11行目からラットを用いた薬物動態試験でございます。ラットに ^{35}S 又は ^{14}C の標識キシラジンを静脈内又は経口投与をして薬物動態を見ております。経口投与でございますが、投与量の 95 %以上が吸収されたということです。静脈内投与では 2～3 分以内にほぼすべての組織に分布し、主に腎臓及び中枢神経に分布するということです。そのほかにも高い放射活性が脾臓、胸腺、肝臓等に見られてございます。

19 行目に排泄でございますが、投与量の約 70 %が尿中に排泄され、消失半減期は 2～3 時間ということでございます。残り 30 %が糞中に排泄されたということです。

21 行目ですが、糞中の排泄量は胆汁中排泄量と同程度であったということで、顕著な腸肝循環は起こっていないと考えられたとございます。

26 行目から頭金先生よりコメントをいただいています、14 行目にあります「約 5 分の $T_{1/2}$ で」というところで御質問がございましたが、恐らくこれは腸での吸収の速度を言っているのではということでしたが、明確なものではなかったので、削除という御修正を山崎先生よりいただいております。

また、28 行目のコメントですが、こちらにつきましては明確な記載が確認できなかったところもございましたので、削除としております。

それ以外に、この段落につきましてはの修正につきましては、頭金先生、山崎先生よりいただいております。

次に、7 ページの 30 行目からでございます。牛の薬物動態試験でございます。雄牛、それから泌乳牛に ^{14}C 標識キシラジンを単回筋肉内投与しております。血漿中濃度は約 1.5 時間以内にピークに達したということでございます。

36 行目より排泄についての記載でございますが、投与後 10、24、48 及び 72 時間の尿及び糞中への総排泄量は、それぞれ 68、86、83 及び 100 %になったということでございます。こちらの修文につきましても、頭金先生よりいただいております。

8 ページをお願いいたします。こちら、子牛に単回筋肉内投与をした薬物動態が調べられております。全血中の濃度は投与 20 分後にピークに達したということですが、投与 8 時間後の全血中にはキシラジンは検出されなかったということです。

7 行目からになります。こちら、泌乳牛に単回筋肉内投与をしてキシラジンの乳汁中排泄が調べられております。投与 5 及び 21 時間後の乳汁について調べております。投与量は 0.2 及び 0.4 mg/kg 体重を投与しておりますが、いずれの時点、どちらの用量でもキシラジンは検出されなかったということでございます。

13 行目から、こちら、乳牛にキシラジンを筋肉内投与して尿中の排泄を検討しております。投与量の 1 %未満が尿中に未変化体のまま排泄されたということで、未変化体のキシラジンについては投与 6 時間後に、それから代謝物については投与 10 時間後に検出されなかったとい

うこととございます。

19 行目から、こちらでも子牛に単回筋肉内投与をして尿中の残留濃度を調べておりますが、投与後 24 時間の尿中に 85.3 %が排泄されたということとございます。

24 行目ですが、乳牛に、こちらは泌乳量で群に分けているのですが、高泌乳牛群と低泌乳牛群にキシラジンを単回筋肉内投与して薬物動態を調べてございます。血漿中の薬物動態パラメータにつきましては、表 1 に示させていただいたとおりでございます。投与後 24 時間以内に投与量の 54.7～82.4 %が排出されたという結果になってございます。

次に、32 行目から各種動物における比較薬物動態でございます。イヌ、羊、牛及び馬に単回静脈内又は筋肉内投与を行って調べております。結果を表 2 にまとめてございます。

9 ページをお願いいたします。1 行目でございますが、静脈内投与後の薬物パラメータのうち、全身クリアランスに種差が見られたというように修文しております。こちらは、頭金先生より表 2 の静脈内投与での全身クリアランスの数値を見ると種差があると思いますという御指摘をいただきまして、1、2 行目のように事務局で修正をしております。こちらについては後ほど山崎先生にも御意見をいただければと思います。

3 行目ですが、キシラジンの速やかな排泄は、広範な代謝によるもので、未変化体キシラジンの速やかな腎排泄によるものではないという考察をしております。

9 ページの 21 行目からですが、頭金先生よりコメントをいただいております。当初、「分布半減期」、「吸収半減期」という言葉を使っておりましたが、余りなじみがないということで、表 2 に記載しておりますように $T_{1/2\alpha}$ あるいは β というような形で山崎先生より修正をいただいております。

10 ページに入らせていただきます。ラットを用いた代謝試験の結果でございます。ラットに ^{35}S 又は ^{14}C の標識キシラジンを静脈内投与して、尿及び胆汁中代謝物が検討されております。結果でございますが、約 20 種類の代謝物が検出され、投与後 24 時間までに投与量の 8 %が未変化体として尿中に排泄されたということです。主要代謝物は投与量の 35 %を占めていたということで、代謝の最終産物は無機硫酸及び二酸化炭素ということとございます。

9 行目からになります。ラットの肝ミクロソームとキシラジンをインキュベートすることにより、キシラジンの特異的代謝物が生成したということで、結果としまして代謝物は代謝物 A、それから代謝物 B、代謝物 D、代謝物 C が検出されたということとございます。このうちの代謝物 D が *in vitro* で生成された主要代謝物ということで、この所見に基づいた代謝経路が図 1 に示されております。

24 行目になります。こちらでも代謝について調べております。ラットに標識キシラジン塩酸塩を経口投与して、尿中代謝物が TLC により同定されております。

結果が 11 ページの頭からになります。放射活性が主に尿中に排泄されたということで、この尿中に排泄された放射活性の量が 68.3～78.4 %になってございます。この尿中放射活性は主に極性抱合体に結合しておりまして、酵素的には 5 種類の主要代謝物に脱抱合化されております。この主要代謝物につきましては、代謝物 E～I と振ってございます。これらの代謝物

の中には、フェニル環の水酸化物及びその後のグルクロン酸抱合体、チアジン環の酸化及び開環由来の代謝物が含まれていたということでございます。

7 行目から牛の代謝試験でございます。乳牛にキシラジンを筋肉内投与して、尿中の代謝物を調べてございます。ここで 2,6-キシリジンが遊離型及び抱合体の両方の形で認められたということで、この 2,6-キシリジンを生成するチアジン環の分解が主要な生体内変換経路であると記載してございます。図 2 に 2,6-キシリジンの構造式を載せてございます。この 2,6-キシリジンが検出された旨のデータにつきましては JECFA に提出されておりました、JECFA はこれをもとに牛でキシラジンの代謝物として 2,6-キシリジンが生成されるという判断を行っております。

17 行目から新たな代謝試験の結果になります。子牛に ^{14}C 標識キシラジンを単回筋肉内投与して、尿中代謝物と肝臓等の組織中代謝物を調べてございます。結果でございますが、投与後 24 時間に投与量の 85 %が尿中に排泄されたということで、尿中には計 10 種類の代謝物が検出されております。これらのうちの尿中放射活性の約 80 %を構成する主要な 5 種類の成分が分離されておりました、これが 25 行目の後ろに書いてありますように、代謝物 E~I に当たるものということでございます。最も多く見られた化合物は代謝物 F ということで、未変化体キシラジン、それから 2,6-キシリジンは尿中に存在しないということが示されたという結果でございます。

肝臓以外の組織中放射活性につきましては、低過ぎて定量できなかったということです。肝臓を調べた結果でございますが、組織中の代謝物パターンは尿中のものと同様であったということです。未変化体キシラジンは投与 4 時間後では主要な成分であったが、急速に消失しまして、投与後 24 時間には肝臓中放射活性の 4 %に過ぎなくなったということで、最終的な結論としまして、2,6-キシリジンは定性的にも定量的にも検出されなかったとしております。

それから、次の 12 ページの 8 行目からになります。こちら牛の代謝の試験でございます。乳牛に ^{14}C 標識キシラジンを単回筋肉内投与しております、乳汁中の代謝物を調べております。これにつきましても、乳汁中の 2,6-キシリジン濃度についても測定を行っております。投与日の午後の乳汁からは未変化体キシラジンが検出されております。主に、未変化体キシラジン以外の代謝物につきましては、尿中代謝物の E、G、H に相当するものであったということでございます。投与日の午後及び投与 1 日後の乳汁中 2,6-キシリジン濃度は、すべて定量限界未満という報告でございます。

こちらの 11 ページの 17 行目からの試験、それから 12 ページの 8 行目からの試験は JECFA には提出されておられません。EMEA には提出されておりました、EMEA ではこのデータもとに、2,6-キシリジンは生成されないという判断をしております。

次に、12 ページ、18 行目から馬の代謝試験でございます。馬にキシラジンを投与して、尿中代謝物を検討しております。この試験につきましては投与経路が不明という状況でございます。代謝物につきましては、 β グルクロニダーゼで加水分解された尿から A と B が回収されたということで、結論としまして、代謝経路はラットで見られたものと定性的に同じというよ

うにしております。

27 行目から、もう一つ代謝として記載しております。こちらの試験は MEDLINE 検索により事務局で入手した文献でございますが、この試験の取り扱いについて山崎先生に御相談させていただきまして、十分な資料ではないですかというコメントをいただいております。

この試験の内容でございますが、馬にキシラジンを単回静脈内投与しております。その後、尿中のキシラジン、それから代謝物について調べております。結果でございますが、キシラジンは速やかに代謝され、投与後 1～3 時間で尿中キシラジン濃度が約 1.0 µg/mL まで低下したということでございます。尿中には 7 種類の代謝物 A～D、J、K 及び 2,6-キシリジンが同定されたということで、この中で最も長く検出されたものが代謝物 K でございます。この報告によって、2,6-キシリジンが馬におけるキシラジンの代謝物ということで初めて報告したという内容でございます。

こちらの代謝の全体的なお話としまして、2,6-キシリジンが代謝物で生成されるかどうかについては、頭金先生と山崎先生からコメントをいただいております。まず、①として山崎先生からいただいたコメントですが、「出発物質の量に依存すると思われます。大量であれば、数段階の代謝の過程を経て懸案の物質ができると思われます。これが検出されるか否かは親化合物のレベルの問題でしょう」ということでございます。

②につきましては頭金先生からいただいたコメントですが、①に加えてということで、「検出感度にも影響されると思います。投与量を増やして検出感度を上げれば、若干は検出されるのではないかと思います。問題は、それが毒性的に意味があるかということではないでしょうか。遺伝子毒性試験や毒性試験で用いられている投与量とはかなりの差があります」というコメントをいただいております。

次に、キシラジンの遺伝毒性試験について御説明させていただきます。15 ページをお願いいたします。今回、遺伝毒性発がん物質と言われております 2,6-キシリジンが代謝物として生成されるかどうかのポイントとなっておりますが、この 2,6-キシリジンの遺伝毒性及び発がん性をどのようにとらえたらよいかということもございしますので、遺伝毒性試験及び発がん性試験につきまして、キシラジン、それから 2,6-キシリジンともに御説明させていただきます。

15 ページの 17 行目から 3. 遺伝毒性試験（キシラジン）について記載しております。結果としましては、表 6、それから表 7 にまとめてございますが、復帰突然変異試験のうち 1 試験に一部陽性が見られたということで、その内容は TA1535、それから TA1538 の S9 非存在下で陰性対照の 2 倍以上の変異コロニー数が見られたというものでございます。*in vivo* の小核試験は陰性だったということで、全体的にはキシラジンは生体にとって特段問題となる遺伝毒性は示さないものというように案として記載させていただいております。

この遺伝毒性の試験の考え方につきましても、JECFA では陰性の試験が追加で提出されていなかったこともありまして、EMEA と JECFA とで遺伝毒性の結論が変わっております。JECFA は、復帰突然変異試験としてはこの一部陽性という結果が記載されているものしか提

出されておらず、JECFA はこれを弱い陽性と判断しております。一方、EMEA は、復帰突然変異試験の一番上に記載されている試験以外については全部提出されておりまして、これらをもとにキシラジンには遺伝毒性はないという判断を行っております。

16 ページの 24 行目から 2,6-キシリジンの遺伝毒性試験について記載してございます。参考というように記載させていただいておりますのは、2,6-キシリジンが生成代謝物とするかどうか判断ついておりませんでしたので、現時点ではこの形で記載させていただいている次第でございます。

結果ですが、表 8、それから表 9 にまとめてございます。復帰突然変異試験のうち 1 試験に一部陽性が見られてございます。次の 17 ページにも *in vitro* の試験がございまして、マウスリンフォーマ細胞を用いた遺伝子突然変異試験、それからチャイニーズハムスターの卵巣由来細胞を用いた姉妹染色分体交換試験で、いずれも陽性という結果が得られております。

in vivo 試験の結果です。細胞遺伝学試験、それから *in vivo*・*in vitro* DNA 修復試験で陰性でございますが、細胞遺伝学試験につきましては、脚注 1) にありますように、被験物質が標的細胞に到達しなかったということが示唆されるという内容でございます。ラットを用いた DNA 共有結合試験では陽性という結果が出ておりまして、JECFA の記載をそのまま書いているのですが、11 行目にありますように、2,6-キシリジンは遺伝毒性を有することが示唆されたと現段階では記載させていただいております。

次に、慢性毒性及び発がん性について説明させていただきます。23 ページをお願いいたします。23 ページの 28 行目からキシラジンの慢性毒性及び発がん性試験という項目を挙げさせていただきます。

(1) 慢性毒性及び発がん性試験となつてございますが、慢性毒性及び発がん性試験は実施されておらず。EMEA では変異原性が陰性であったということ及び structural alerts を有していないということで、発がん性試験は必要ないと判断しております。

35 行目から (2) 発がん促進作用に関する知見を記載させていただいております。キシラジンの鼻腔がん及び甲状腺がんの発がん促進作用に関する知見ということでまとめてございます。

まず、24 ページになります。①としまして、ラットに N-bis(2-hydropropyl)nitrosamine (DHPN) を単回皮下投与してイニシエーションをしまして、その後キシラジン塩酸塩を 52 週間混餌投与したというものでございます。

11 行目から結果でございまして、この DHPN を投与した群では、鼻腔における上皮過形成、異形成細胞巣、腺腫、未分化がんあるいは扁平上皮がんが認められたということですが、これらの増殖性病変の発現率についてはキシラジンの投与には関係はなかったということでございます。ただ、2,6-キシリジンの血漿中濃度を測っておりまして、DHPN のイニシエーション後にキシラジンを投与したという群の 2 例を除いて検出限界以下で、その 2 例では 0.04 及び 0.06 µg/mL の 2,6-キシリジンが血漿中に検出されたというものでございます。

28 行目から、②といたしまして、甲状腺発がん促進作用について記載されております。詳

細は 25 ページになります。ラットに DHPN の単回皮下投与でイニシエーションをしまして、その後キシラジンを 52 週間混餌投与して甲状腺の病理学的検査を行ったというものでございます。

結果としまして、表 14 に記載しておりますが、濾胞細胞の過形成が DHPN 単独あるいはキシラジンの単独あるいは DHPN のイニシエーション後のキシラジン投与群、これらについてすべて見られてございます。ただ、濾胞細胞腺腫、それから濾胞細胞がん、濾胞細胞腺腫+がんは、DHPN のイニシエーション後のキシラジン投与群で見られておまして、特に濾胞細胞腺腫、濾胞細胞がん、濾胞細胞腺腫+がんにつきましては、DHPN のイニシエーションのみの群と比較すると有意差があったという結果になってございます。

19 行目からは、キシラジンを 4 週間混餌投与したときの甲状腺に関する T3、T4、それから TSH の濃度が測定されております。キシラジンを投与しますと、甲状腺の絶対及び比重量が有意に増加したということで、T4 濃度もすべての時点で低下したということでございます。T3 及び TSH 濃度につきましても、投与開始 1 週間後だけですが、それぞれ低下及び増加したという結果でございます。

26 行目からも甲状腺について検討しているのですが、こちらにつきましては、キシラジンを 8 又は 15 日間混餌投与しておまして、甲状腺の重量とそれから甲状腺におけるヨードの取り込み量、ヨードのタンパク質結合率を調べてございます。結果でございますが、甲状腺重量は低下、甲状腺におけるヨード取り込み量、それからヨードのタンパク質結合率は低下したという結果でございます。

それから、26 ページになります。③といたしまして、先ほどの甲状腺の所見に基づきまして、閾値の検討を行った試験でございます。ラットに DHPN の単回皮下投与でイニシエーションをした後に、キシラジンを 26 週間混餌投与して閾値を調べてございます。

結果でございますが、血清中の T3 及び T4 濃度も調べておまして、250 ppm、それから 1,000 ppm のキシラジン単独投与群でのみ低下があったということですが、TSH には影響は見られなかったということです。甲状腺の絶対重量につきましても、キシラジンを投与した群において増加をしております。比重量につきましても、イニシエーションの有無にかかわらず 500 ppm 以上で増加をしております。それから、肝臓についても調べておりますが、絶対重量、比重量につきましても、イニシエーションの有無にかかわらず 1,000 ppm で増加をしております。

15 行目から病理組織学的検査の記載でございますが、濾胞上皮細胞過形成、それから腺腫が誘導されたということで、その発生率及び多様性は、DHPN イニシエーション後のキシラジン投与群がイニシエーションのみの DHPN 単独投与群より高かったという結果です。

18 行目には、甲状腺の発がん促進作用の閾値が 250～500 ppm ではないかということで記載されております。

21 行目から、代謝物と言われている 2,6-キシリジンの 120 週間発がん性試験でございます。こちらはラットを用いて混餌投与で行っております。ただ、この試験に用いた動物が、25 行

目にありますように、5 週齢から 2,6-キシリジンを混餌投与した多世代試験の F1a 世代の離乳児を使ったということでございます。

結果でございますが、32 行目に血液学的影響としまして、150 mg/kg の雄で赤血球及び Hb の低下が見られております。この所見は雌でも一部見られたということでございます。

35 行目からは病理組織学的検査でございますが、150 mg/kg 体重群の雄で鼻腔がんの有意な増加が見られております。雌の鼻腔がんの発生率につきましても、各投与群で 0/56、それから 1/56、24/56 と投与に伴って少し増えているようでございます。それ以外にも、雄の乳頭状腺腫の発生率がございまして、150 mg/kg 体重で 10/56 例ということでございます。雌におきましては鼻腔腺腫が見られておりまして、やはり 150 mg/kg 群では 6 例見られているという状況でございます。

それ以外にも、未分化の肉腫や横紋筋肉腫、それから腺がん及び横紋筋肉腫、両方の特徴を有する悪性混合腫瘍も見られておりまして、これらは普通見られない鼻腔腫瘍ということで、投与によるものと考えられております。非腫瘍性病変としましては、急性炎症、それから上皮過形成及び扁平上皮化生が、やはり 150 mg/kg 体重の雌雄に対照群と比較して高頻度に見られております。それ以外にも、皮下の線維腫及び線維肉腫の混合腫瘍、それから 11 行目にありますように、雌の肝臓において腫瘍結節が有意な陽性傾向を示したということで、これらについてもすべて投与に関連したものであるというように考えられております。

結果でございますが、14 行目に記載されておりますように、鼻腔腺腫及び鼻腔がんの有意な増加が見られたということで、2,6-キシリジンは CD ラットの雌雄にとって明らかに発がん性を有すると考えられたとしてございます。

19 行目に国際がん研究機構（IARC）の分類について記載しておりますが、2,6-キシリジンの発がん性につきましては、ヒトにおける根拠が不十分であるが、実験動物では十分な根拠があると結論しておりまして、グループ 2B（ヒトに発がん性の可能性を有する）に分類をしているということでございます。

引き続き、資料 3 と机上配布させていただいた資料につきましても御説明させていただきます。

この資料 3 につきましては、先ほどキシラジンの代謝について御説明させていただきましたが、その試験のうちの代謝に関するポイントを書き出したものになってございます。ラットでは、御説明しましたように、代謝物が資料の年代とそれからどういう試験結果であったかがわかるように記載させていただいております。牛、馬についても比較できるよう、一応文言を書いております。

机上配布させていただいたものにつきましては、投与量とそれから 2,6-キシリジンの結果、それから試験の年代がわかる一覧表となっております。グレーに色をつけさせていただいているラットの 3 つの試験につきましては、こちらは薬物動態試験として行われたものではないことがわかりやすいようにしております。参考として日本での常用量を記載しておりますが、牛を用いた試験、それから馬を用いた試験は、ほぼ臨床用量に近い状態で行われたものになってござ

ざいます。

以上でございます。

○山手座長代理　ありがとうございます。

何名かの先生が恐らく交通機関の乱れで遅れて来られたと思うのですが、本日は、参考資料 2 に廣瀬委員と三森先生が著者となっておられる公表文献が含まれるということで、現在、私が議事進行を進めさせていただいています。また、廣瀬委員、三森先生のお二方におきましては、必要に応じて適宜意見を言うていただくということになっていますので、御了承ください。よろしくお願いいたします。

それでは、ただ今、事務局から御説明がありました案としての動物用医薬品キシラジンに係る食品健康影響評価及びキシラジンの代謝について、資料 2 と 3 に基づいて説明がありました。キシラジンは鎮静剤ということで、日本において動物用医薬品として牛、馬に承認があります。また、海外でも使用されているということです。代謝物として遺伝毒性発がん物質であることが示唆されています。2,6-キシリジンが生成されるのが一つの大きな審議のポイントになるかと思います。また、この 2,6-キシリジンの遺伝毒性試験に関する知見をどのようにとらえるか、このあたりを踏まえて、これが遺伝毒性発がん物質であると判断されるかということとを審議していきたいと思っています。ポイントは、今言いましたように、キシラジンの代謝物としての 2,6-キシリジンが本当に生成されるのかという点と、もう一つは 2,6-キシリジンが遺伝毒性発がん物質として考えてよいのかという、この二点になるかと思います。

それでは、特に代謝に関しまして山崎先生、何かコメントがあれば、よろしくお願いいたします。

○山崎専門委員　海外の評価が 1998 年と 2002 年ということだと思うのですが、その後出てきた、文献 1 の扱いに尽きるかと思うのですが、馬 2 頭にドーピング検査の分析法を使って実施すると確かに出ているという論文が 2004 年にあると。そこでは懸案のものができている。ただ、非常に微量であるができていうところになるかと思います。ですから、もしかしたら、海外ではこの文献を見ていないところで初めてこちらで評価するのではないかと考えられます。

代謝試験からは以上です。

○山手座長代理　山崎先生、それ以外のラット、牛についてはいかがな見方をされているでしょうか。

○山崎専門委員　事務局と何度かやりとりをしていますので、早い段階でコメントしたもの、後で書いたものが重なって書いているのですが、ラットでもこの懸案のものは定性的には生成すると考えられますし、牛でも生成される。3 種の動物で、非常に微量ではありますが、この懸案の代謝物はあるというように読めると思います。

○山手座長代理　ということは、2,6-キシリジンが実験動物のラットを含めて、適用される牛、馬でも代謝物として生成されるだろうことになるのでしょうか。

○山崎専門委員　何段階もの代謝を経て初めてできるものですので、中間代謝物がどれぐらい

あるか、分析できるのも、ドーピング検査で使う GC/MS でようやくひっかかるというレベルであるということだと思います。

○山手座長代理　ありがとうございます。

本日は頭金先生が御欠席ということですが、何かコメントは事務局に来ていますか。

○福永評価専門官　ほぼ山崎先生の御意見と同じコメントでありまして、馬でも 2,6-キシリジンは生成されるのではないかと。牛につきましても、恐らく生成はされていると考えられますというコメントをいただいております。

○山手座長代理　ありがとうございます。

また、特にラットの代謝で 2,6-キシリジンが生成されると。20 例中 2 例ということなのですが、この試験に携わられた三森先生に何か御意見があれば、いただきたいのですが。

○三森座長　初めに少し質問させていただきます。評価書案の 11 ページ 7 行目に (5) 代謝試験 (牛) がございますが、ここで乳牛 3 頭でキシラジンを筋肉内投与して、2,6-キシリジンが見つかったというデータが一つあります。その後ろの 21 行目から EMEA に提出されている新たなデータでは、2,6-キシリジンは検出されていないという矛盾点がありまして、本日の机上配布資料の 1 枚紙を見ますと、一番上の乳牛、雌 3 頭のデータに 2,6-キシリジンの検出結果が出ており、陽性であったということです。しかしながら、測定方法が不明であり、報告年代も 1973 年で、古いということがありまして、このデータの信頼性をどう考えたらよいのかご意見を聞きたいと思います。山崎先生からはやっぱり検出できているというようなお答えだったのですが、この件がかなり大きな点になるのではないかと思います。

それと、机上配布資料の網かけがしてあるところが私が関与した実験結果でございますが、御覧のように用量が臨床用量に比べると非常に高い用量を投与しているということです。単回投与でも 150 mg/kg で、52 週間の混餌投与でも約 55 mg/kg 体重/日ということで、乳牛に投与している 0.2 や 0.5 mg/kg に比べると、非常に高用量投与で 2,6-キシリジンが検出されているということでもあります。低用量では非常に難しいという感じがいたします。

私としては、この机上配布資料の一番上の乳牛 3 頭を用いた 2,6-キシリジンの陽性結果を信頼してよいか否かかということをお専門の先生方にお伺いできたらと思います。

○山手座長代理　どうもありがとうございます。

今、三森座長から質問ということでコメントをいただきましたが、山崎先生、どうでしょうか。少し古い試験でなかなか。

○山崎専門委員　御指摘のとおり、方法がわからないというところでは、そこに関しての御質問でしたら、わからないということになってしまうかと思いますね。

○関谷課長補佐　少し事務局から補足をさせていただければと思います。資料 3 で、測定方法不明というように書かせていただいたのですが、JECFA では詳しいことは書いてないのですが、メーカーからその論文が提出されておりまして、先生方には事前送付した資料の中には入っていましたが、お手元に幾つかしかないのですが、先生方の人数分用意がないので大変申しわけございません。その B 社資料、B の 82 と書いてありますが、これで恐らく TLC

を使用した、薄層クロマトを使用してスポットで推定をして、2,6-キシリジンができたと言っているような結果のようなので、この文献を見ていただいて少し御議論をいただければと思います。

○山手座長代理 もう一度どの資料か説明をお願いいたします。

○関谷課長補佐 82 番です。タグの 82 番というところに、“Chemical studies to detect residues of xylazine hydrochloride” というデータがございます。そこの 154 ページでしょうか、そのあたりに薄層クロマトグラフィーの図が出ております。

○山手座長代理 ありがとうございます。

資料の信頼性といいますか、測定方法に関しましていかがでしょうか。

○関谷課長補佐 もとの論文の 153 ページ。先生方にお送りしたのと番号が違っておりまして、大変申しわけございませんでした。資料の番号は 81 です。81 の 154 ページにクロマトの図が出ております。

○山手座長代理 各専門委員の先生、大丈夫でしょうか。

この測定方法、資料データの信頼性ということになりますが、山崎先生、いかがでしょうかね。

○関谷課長補佐 あと、結論で 158 ページに Summary が載っておりまして、そこの真ん中あたりにこの ADB と括弧書きであるのが 2,6-キシリジンのことを指していると思われませんが、「(ADB), was very probably identified in the urine of treated cows.」というようなことが書かれておりますので、

○山手座長代理 どうもありがとうございます。

お願いします。

○山崎専門委員 薄層の実験は、発色剤を工夫して、アミンがひっかかるものをかけると、今 very probably なものが出ているということになっています。そういう発色剤を使つての選別で 2,6-ジメチルアニリンが出ているということを行っていますね。

○山手座長代理 といいますと、年代としては古いとはいいいましても、やはり尿中では検出されたと見ておくほうがよいという。あるいは、ほかの馬、ラットは投与量が非常に高いですけども、それも含めて、牛での生成、代謝物としてはできる可能性はあるという見方はしていただくほうがよいということか、あるいは何かほかにこういうデータが必要かというようなこともあれば、非常に難しいと思います。

○山崎専門委員 非常に難しいですね。1973 年のデータで、薄層の指示薬を使って出ていると彼らが言っているこの一点をとってどうかという議論は、非常に難しいということだと思いますね。ほかの先生方の御意見をお願いしたいところだと思います。

○山手座長代理 そのほかどなたか専門委員の先生で御意見はありますか。基本的には、先ほど山崎先生、頭金先生からは、牛、馬、ラットでは生成されるだろうという御意見をいただいているのですが、廣瀬委員、ラット用いた試験で携わっておられますが、何か御意見あるでしょうか。

○廣瀬委員 私。

○山手座長代理 ええ。特にラットの試験も含めて。

○廣瀬委員 ごめんなさい。あまり覚えてないのです。

○山手座長代理 そうですか。

○熊谷委員 すみません。

○山手座長代理 よろしく申し上げます。

○熊谷委員 アミン、その試薬で染まる化合物は、代謝物でほかにあり得るかどうかについてはいかがですか。

○山崎専門委員 今の資料、154 ページにほかのものでも反応し得るということは文章が出ていますので、このものずばりでなくても反応の可能性はレポートの中にも書かれています。

○熊谷委員 それはスタンダードのものと並行して流すようなことで確認をとっているのですか。今、手元に資料がなくて。

○山手座長代理 今のお話ですと、ほかのアミンでもこの発色でひっかかってくるということになると、必ずしも 2,6-キシリジンではないという可能性もあるというとなえ方になるわけですね、熊谷先生。

○熊谷委員 ええ。通常ですと、今の時代ですと、そこをかき取って、それで化合物を溶出して、それを別の手段で確認をとることをして、初めてそれらしいというように。ただ、これは時代が時代ですので、そこまでやらなくてよい時代だったのかどうなのかは少しよくわかりませんが。

○山手座長代理 なかなかやはり年代が古いということと、その方法論を含めていろいろ問題あると思いますが、場合によってはこの 2,6-キシリジンの生成に関しては、さらに追加すべき資料など必要なものがあるかどうかということをやっぱり検討すべきではないかなという印象を持っています。

そのほかどなたか専門委員の先生方からこの代謝に関しまして、いかがでしょうか。牛、馬、ラットでの生成される可能性が高いという御意見が強いのですが。すみません。能美先生、よろしく申し上げます。

○能美専門委員 今の熊谷先生の御質問で、この 154 ページの下に Rf 値が、資料 81 の 154 ページに、ジアゾスポットは多分、ADB ですか、2,6-キシリジンであろうということで、Rf 値を記載していて、展開する溶媒を二つ変えて、それで Rf 値が一応一致しているというような記載はあるので、このクロマトグラム自体には陽性対照といいますか、ADB 自体がスポットされてないですが、一応展開溶媒を二つ変えて移動度が同じだということは見ているのではないかというように思いますが、いかがですか。

○山手座長代理 ありがとうございます。そういう意味では、検査方法としては、かなり信頼性は高く検出されているという御意見でしょうか、能美先生は。

○能美専門委員 ただ、多分、今でしたら、そこをかき取ってさらにきっちり同定するのだろうと思いますが。

○舞田専門委員 この 2,6-キシリジンが検出されるかされないかは、親化合物の投与量に依存するという話だったと思うのですが、今ここだと 0.2 と 0.5 mg/kg 体重という二つの濃度があって、検出は陽性とししか書かれてないのですが、例えばここを 0.2 mg/kg 体重の投与で陽性で、0.5 mg/kg 体重の投与では陰性という話であれば、それは擬陽性であるという可能性もあるのではないかという気もするのですが。

○山手座長代理 今の御指摘は、乳牛の雌 3 頭のお話ですね。

○舞田専門委員 そうです。

○山手座長代理 陽性とみなしておくほうがよいだろうという御意見だと思うのですが。

○舞田専門委員 その濃度に依存するという前提で考えるならば、もしこの陽性という結果が低濃度で出て、高濃度で出ていないという話であれば、低濃度で出ているものについてはもしかしたらそれは擬陽性ではないかという考え方です。

○山手座長代理 わかりました。二つの用量でどちらも検出されているのは、生成されたと見るほうが考え方としてはリーズナブルだろうという御意見だと思うのですが。

山崎先生、ここら辺、コメント幾つか出ましたが、いかがでしょうか。いろいろ御意見聞くようで、申しわけないのですが。

○山崎専門委員 難しいとしか言いようがないと思いました。

○山手座長代理 では、この点に関しましては、やはり 2,6-キシリジンが生成される可能性があるか否か、その判断が非常に灰色な面もあるということで、この専門調査会としてはさらなる資料を検討するというところで、とりあえずはペンディングとして、次の問題になります 2,6-キシリジン遺伝毒性という観点から。

○三森座長 少しよろしいですか。

○山手座長代理 ええ。先生、お願いいたします。すみません。

○三森座長 この点については、評価要請者にどういう追加試験を実施しなければいけないのかを専門調査会から提案しなければいけないと思うのです。したがって、EMEA に提出されたデータでは 2,6-キシリジンは検出されてないというデータがあるわけですので、疑念を持たれている今の乳牛 3 頭の 1973 年のデータについて、何を評価要請者に要求すべきか、具体的なことを言っておかなければいけないと思います。したがって、それを御専門の山崎先生あるいは頭金先生から具体的に言っていただいたほうがよろしいのではと思うのですが。

○山手座長代理 三森先生、ありがとうございます。

山崎先生、いかがでしょうか、どういう資料があれば代謝として、特に牛の代謝として判断できるかということなのですが。

○山崎専門委員 EMEA は 2002 年ということでよろしいですか。2002 年に評価されている。

○福永評価専門官 評価としましては 2 回評価をしております、最新のものが 2002 年となっております。

○山崎専門委員 その後、馬の 2004 年の臨床投与量で分析がありますので、端的なのは、この馬の文献にならって牛で実施してくださいというのが一番簡単な話かと思いますが。

○関谷課長補佐 今、先ほど御覧いただいた TLC の確認試験が JECFA で出されていまして、その後 EMEA に少し詳しい牛の試験がございますが、JECFA には出されていなくて、EMEA だけに出されているものがあります。それが評価書案でいきますと、先ほどの試験の下に書いてあります 11 ページの 17 行目からの試験とそれから 12 ページの 16 行目までの試験、この二つの試験が言ってみれば少し新しい試験です。もしこれらの新しい試験から見て、先ほどの TLC の確認試験があったとしても、こちらで確認ができて、例えば 2,6-キシリジンは出ないというデータのようなのですが、これで十分なのかどうか、あるいはこれにつけ加えるとしたらどういう試験が適当かというような見方になるかなと思うのですが。時系列からいきますと、先ほどの TLC の試験があって、JECFA では牛ではできますよというように評価されたのですが、その後の EMEA の評価では、先ほどの 11 ページ、12 ページにかけての新しい二つの試験が提出をされまして、それについて評価された結果、牛ではできないのではないかという判断を EMEA ではされたという経緯でございますので、そこも含めて御議論をいただければと思うのです。

○山手座長代理 どうもありがとうございます。

いかがでしょうか。この点を踏まえて、専門調査会としてはどういう資料を要求すべきかということ、山崎先生の御意見があれば。

○山崎専門委員 繰り返しになりますが、2004 年の文献の評価をどこもしていないということですね。

○関谷課長補佐 2004 年については馬なので、馬の試験については EMEA のときには提出されていませんので、馬は初めてこの 2004 年の文献で 2,6-キシリジンが出るという知見が出たと思われます。ただ、牛はそういう試験、その後に得られているものはなくて、今得られているのは先ほどの TLC の古い試験と EMEA にだけ出された二つの新しい試験、それが牛では得られている知見ということになります。

○山崎専門委員 となると、実験をお願いするということが可能であれば、牛の臨床用量で馬の分析法を適用いただくとどうなるかが単純な代謝の目からのお話ですが、そういうことは可能なのでしょうか。

○関谷課長補佐 可能ではあると思いますが。先ほど申し上げた EMEA に新しく出された試験は、一応、馬の先ほどの文献と全く同じ方法ではないのですが、LC/MS/MS なども使用しているようですので。そこも馬の試験の分析法と同じぐらいの感度など適切さを持っているかということもポイントかなと思うのですが。

○山崎専門委員 懸案の物質は揮発性があるということなので、GC/MS になっている可能性があります。なので、考えていただくということになるのかもしれませんが、三森先生がおっしゃった何をするかを明確にというと、今一つの明確なのは最新の方法を牛に適用していただくということですが、一方、今の議論の中で、このことを含めてデータを再評価いただくのも一つの可能性があるのかもしれない。

○山手座長代理 ありがとうございます。

今のどういう資料を要求するか、どういう試験を要求するかということで、牛の臨床適用量を投与し、馬と同じ方法あるいは最新の方法で、幾つかの方法で測定してもらう。そういうお考えでよいのでしょうか。

○山崎専門委員 今そういうことを申し上げたのですが、ほかの先生方の御意見をぜひお願いしたいと思います。

○山手座長代理 わかりました。

ほかの専門委員の先生はいかがでしょうか。そういう方向で、やはりこの代謝物、非常に重要ですので、もう一度きちっとした資料を要求するということでいかがでしょうか、御意見は。先生、お願いします。

○三森座長 頭金先生は本日お休みですので、頭金先生の御意見も伺っていただきたいと思います。

○山手座長代理 わかりました。頭金先生にも今の資料要求を御質問していただいて、その方向でよいかということでお聞きしていただいて、何か細かいことで違いがあれば、また山崎先生とも意見を合わせていただくということをお願いしたいと思うのですが。少なくともこの専門調査会としては、先ほどの方向で資料要求をするということで進めたいと思います。よろしく願いいたします。

○関谷課長補佐 恐らく、本日ここで最終的な結論まで行かないと思いますので、また最終的にどういう試験かは、こちらから評価要請機関である厚生労働省に伝えるときには、ある程度の具体性を持って示したほうがよいと思いますので、頭金先生にもお聞きした上で、場合によっては次の審議のときに確認をしていただくというようなことも考えております。

○山手座長代理 ありがとうございます。

それでは、代謝に関しましては、先ほどから意見が出ていますように、新たな資料を要求するということで進めていきたいと思います。

続きまして、もう一点、この 2,6-キシリジンが実際、遺伝毒性があるのかどうか、どう考えるのかというようなことになるとと思いますが、これ、能美先生、遺伝毒性のほうから御意見いただければと思うのですが。

○能美専門委員 こちらの評価書の 15 ページから 16 ページにかけて、表 6 にキシラジンの遺伝毒性試験の結果がまとめられておりますが、結論としては陰性、一部 *in vitro* 試験で陽性の結果も出ておりますが、*in vitro* 試験においては陰性で、*in vivo* の試験はマウスの小核試験一点があるだけですが、そちらでも陰性ということで、こちらの事務局がまとめられたような、キシラジンは生体にとって特段問題となる遺伝毒性は示さないという考えで私はよろしいのではないかとこのように考えます。

○山手座長代理 今はキシラジンのコメントをいただいたと思うのですが、これ、JECFA が弱い遺伝毒性があるというコメントを、16 ページの 19 行に事務局から記載されていますが、これはどう解釈してよいのかということと、基本的にはこの専門調査会としては遺伝毒性はないという考えでよいと思うのですが、いかがでしょうか。

○能美専門委員 この後、2,6-キシリジンの遺伝毒性の話が出てまいります、今の代謝の問題とも関係して、結局キシラジンを *in vivo* 試験の場合ですとマウス、*in vitro* 試験ですと肝のマイクロソームに入れた場合に 2,6-キシリジンができてきて、さらにその 2,6-キシリジンから N-水酸化体という、非常にアクティブなものが出てくるかどうかという、そこにかかっているのだと思うのです。したがって、この *in vitro* の一点、サルモネラ試験で陽性になったということで、JECFA では弱い陽性というように判断しておるわけですが、いわゆる構造的な **structural alerts** としてはこのキシラジンそのものにはそういう変異原性を示すような構造的な特徴はないと思います。ですので、代謝過程で 2 段階ですか、複数の段階を経て変異原性のあるものが出てくる可能性はあると思いますが、基本的には遺伝毒性は陰性と考えてよろしいと思います。

あと、不純物の問題はあると思うのです。試験したときにこのキシラジンの中にどのようなものが入っていたのか。非常に微量であっても変異原性を示すようなものがあれば、弱い陽性が出てくるというような可能性は潜在的にあると思います。

○山手座長代理 どうもありがとうございます。

今、能美委員からは、このキシラジン、これに関しては遺伝毒性はないというこの評価書案の判断でよいだろうという御意見ですが、これに関しましてどなたか専門委員の先生から御意見あるでしょうか。

特にないようでしたら、次の 2,6-キシリジン、これに関しまして、能美先生、御意見をまいたいただきたいのですが。

○能美専門委員 2,6-キシリジンはなかなか難しい物質でありまして、16 ページから 17 ページにかけての表 8 とそれから表 9 を見ていただきますと、陽性と陰性の結果が混在しているという状態です。これも、この 2,6-キシリジン自体は芳香族アミンですので、このもの自体が DNA と反応するという可能性は低いと思います。ですが、これもやはり *in vitro*、それから *in vivo* 試験での代謝によってアミンの酸化が起きますと変異原性を示す物質が出てまいりますので、それが試験系の中で一体どれぐらい効率よく出てくるかということに試験の結果はかかわっているのだらうというように考えます。ですので、潜在的には変異原性を示したとしてもおかしくはない物質だと思います。ただ、試験系によってそういう変異原性を持った代謝物がどれぐらい出てくるか、それからそれをどれぐらいの感度で検出できるかということに依存するのではないかと思います。

○山手座長代理 ありがとうございます。

今回、資料として提出されています 2,6-キシリジンの遺伝毒性の試験なのですが、試験としては三つしか行われていないのですが、これで判断はなかなか難しいということか、あるいはもう少しフルセットの試験を要求すべきか、その辺、先生、いかがでしょうか。必要であれば要求できると思うのですが。

○能美専門委員 *in vitro* 試験に関しましては、もう一度繰り返しても余り効果はないように思います。したがって、むしろ行くとすれば *in vivo* の試験。この後、発がんのことも議論

になるかと思うのですが、遺伝毒性発がん物質ということを考えるのであれば、そういう発がん性を示したような動物種において、標的臓器なりあるいは肝臓なりで突然変異が起きるのかということを調べたほうが意味のあるデータになると思います。

ここには記載されておられないのですが、最近、本年になって、この 2,6-キシリジンの Ames 試験、*in vitro* の遺伝毒性試験を随分詳しく調べた文献が一つ出ておりまして、やはりそれでは陰性というような結果になっております。ただ、やっぱり代謝させるのをどのようにしてやるかというところで、酸化反応が非常に速く進むと、そういう変異原性を持った代謝物が出てまいりますので、非常に静置したような状態でいわゆる肝ミクロソームと 2,6-キシリジンを混ぜてプレートにまいたような場合には何も出てこないが、例えば代謝を非常に速く、酸化反応が進むような条件で振盪して、それで変異原性を見たりすると、場合によっては陽性結果が出てくるということだと思います。したがって、*in vitro* の試験ですと、やり方によって結果は変わってまいりと思いますので、もし追加試験を実施するというのであれば、*in vivo* で実験をしたほうが明確な結論が出てくると思います。

○山手座長代理 どうもありがとうございます。

今、もしこの遺伝毒性をきちっと見るのであれば *in vivo* の試験ということと、発がん性試験との兼ね合いでどう考えるかというコメントをいただいたのですが、2,6-キシリジンの発がん性試験が行われていますが、小川先生、この発がん性試験から 2,6-キシリジンの発がんは、あると事務局では書いてあるのですが、いかがでしょうか。その遺伝毒性も含めてちょっとコメントをいただければ。

鼻腔腫瘍が、加えて少しユニークな間葉系の腫瘍が出たというような結果になっているのですが。

○小川専門委員 2,6-キシリジンのお話でよろしいですね。

○山手座長代理 はい、そうです。2,6-キシリジンでコメントをいただければと思いますが。

○小川専門委員 なかなかないタイプの腫瘍とは思いますが、やはり用量相関を示すような形で出てきておりますので、投与に起因したものであるというようには考えるのですが。発がん機序などがどういったものか、ヒトに外挿できるのかどうかということに関しては、少し情報がないようには思います。懸念としては残ると言わざるを得ないと考えます。

○山手座長代理 ありがとうございます。出ている腫瘍は、確かに普通見ないようなまれな腫瘍ですし、結論としては発がん性を有すると考えられると。さらに、国際がん研究機関ではグループ 2B に入れているという、この判断は同意していただけるという。

三森先生、この辺の御意見があれば、遺伝毒性も含めてコメントをいただければと思います。

○三森座長 2,6-キシリジンの 104 週間のラット発がん性試験ですが、これはアメリカの NTP で実施された発がん性試験です。鼻腔が標的である発がん性を示すデータだと思います。通常、鼻腔を標的にするような化学物質は非常に少ないということがあり、発現しても良性腫瘍でとどまることが多いのですが、このキシリジンは明らかにがんに進展していますし、さらには横紋筋肉腫や未分化肉腫というさらに悪性度の高いものも誘発されてきておりますの

で、単なるプロモーション作用という形で片づけられるようなものとはみなせないです。したがって、遺伝毒性発がん物質の可能性が高いというように認識しています。

そのようなことから、先ほど能美先生から御指摘がありましたように、遺伝毒性試験で追加をしていただいたほうがよいというように私も思います。特に、代謝されることによって、N-水酸化体などがいたずらしているのではないかと思います。したがって、*in vivo* の遺伝毒性試験を実施していただき、突然変異を見てもらう。具体的には、例えば **Big Blue** や **Muta-Mouse** など、さらには先生が開発された **GPT delta** など、いろいろあり、ラットで発現していますので、ラットでの遺伝子改変ラットを使った形で本当に誘発されるのか否かを明確にされた方がよいと思います。一番よいのは前がん病変が鼻腔に発現した上で、その部位に突然変異が発現したというようなデータがあれば、間違いなく遺伝毒性発がん物質ということになります。私としてもその辺の追加の遺伝毒性試験を提出していただけるのがよいと思います。

以上です。

○山手座長代理 ありがとうございます。

○渡邊専門委員 少しよろしいですか。

○山手座長代理 先生、お願いします。どうぞ。渡邊先生。

○渡邊専門委員 能美先生に御質問なのですが、遺伝毒性の試験結果について、生殖毒性に比べますと、この *in vivo* 試験の表 9 では、非常に用量的に高濃度の用量設定で行われています。そこで一つお伺いしたいのは、このような高濃度の用量設定で見るのは一つの方法なのでしょうか。それからもう一つ、1 番の細胞遺伝学試験で陰性になっています。これについて下の注釈を見ますと、標的組織（骨髄）に到達しなかったことを示す結果になっていますが、これはもう少し量を増やすと到達するのか、あるいは何らかの代謝の関連で、これ以上量を増やしても陰性のままなのか、この辺の解釈について教えていただければと思います。

○能美専門委員 表 9 の細胞遺伝学的試験ということで、これはマウスの骨髄を使った小核試験を実施しているのだろと思うのですが、通常、用量はやはり毒性が一つの目安になっておりまして、それから順次用量を落としていくということで実施しています。この場合にはほかの毒性が恐らく出たが、標的の骨髄細胞に対する影響は見られなかったということなのだと思うのです。したがって、毒性が低くて骨髄に対する影響が見えれば非常に明確な結論が出せるわけですが、これはアイソトープなどを使った形で骨髄に行っているかということを見ているわけではなくて、単に骨髄細胞での毒性を見ているということなので、この投与した範囲では骨髄に対する影響が見えなかったということで、厳密に言えば、陰性ではなくて、結論が出せませんでした正しい解釈だというように思います。

○山手座長代理 ありがとうございます。よいでしょうか。

これまでいただきましたコメントは、この 2,6-キシリジンは、やはり遺伝毒性が非常に高い可能性があるということと、発がん性試験ではやはり発がん性ありというようなコメントをいただいているのですが、この点に関しましてそのほか専門委員の先生方から御意見があれば、い

ただきたいのですが。

○廣瀬委員 少しよろしいですか。

○山手座長代理 廣瀬先生、お願いします。

○廣瀬委員 これは質問なのですが、この 2,6-キシリジンの発がん性は鼻腔に限られているわけですね。この剤は話に聞くとかなり揮発性が強いということで、ひょっとしたら揮発したキシラジンが鼻腔に入って、それが 2,6-キシリジンに代謝されて、そこで発がん性を示すということも考えられると思うのですが、その鼻腔で実際にキシラジンがそんなに高率に 2,6-キシリジンに変わり得るのかどうかということですね。

それからあと、鼻腔でかなり急性炎症が、炎症性変化が出ていますので、この辺、これが遺伝毒性だけで説明できるのか、遺伝毒性に加えてこういう刺激というものが発がんに影響している可能性があるのかどうか、そういうこともやはり考慮していかないといけないと思うのですが。

したがって、まず鼻腔でそういうようにキシラジンが 2,6-キシリジンに高率に変わっていくかどうかということを聞いてみたいのですが。

○山手座長代理 ありがとうございます。

今二点御質問があったと思うのですが、一つは鼻腔での腫瘍の発生、キシラジンが揮発して鼻腔内で 2,6-キシリジンになって、直接イニシエーターとして働くのかということと、あともう一点は、やはり鼻腔内で起きた炎症、これが何かトリガーになって二次的に起きている可能性も考慮すべきではないかという御意見だと思うのですが、この辺は三森先生、よろしくお願いします。

○三森座長 2 年間の発がん性試験は 2,6-キシリジンで実施しておりますので、今おっしゃったような形で揮発性でダイレクトに鼻腔に 2,6-キシリジンが到達している可能性はあると思いますが、キシラジンのデータは、混餌投与で実施していますが、その試験は発がんプロモーション試験のみであり、DHPN を先にイニシエーション処置した上でのデータがあります。そちらでは……

○廣瀬委員 ネガティブだったのですね。

○三森座長 ネガティブです。

○廣瀬委員 そうですね。

○三森座長 したがって、2,6-キシリジンのデータは発がん性試験のデータしか出ていないということです。したがって、やはり 2,6-キシリジンは揮発性がありますので、餌に混ぜることにより、鼻腔から入って、ダイレクトに鼻腔を刺激した可能性もありますし、炎症性の変化が起こっていますので、起炎性に起因した二次的なものかもしれません。しかし、例えばホルムアルデヒドの場合で誘発されてくる腫瘍は、ほとんどが扁平上皮癌であり、このような未分化がんは誘発されてきませんので、少しその辺は違うのではというような感じがします。

○廣瀬委員 確かに、炎症の場合には扁平上皮がん等が発生するのですが、ただ、炎症が非常に強い場合には、いろんな腫瘍ができてもおかしくはないですね。僕は、鼻腔ではないです

が、ほかの臓器でいろいろ炎症関係の腫瘍を見てきましたが、やはり炎症が強いと、炎症で上皮だけじゃなくてその下の筋肉結合組織など、そういうのにダメージが来ると、そういうところから間葉系の腫瘍が出てくるというのがありますので。だから、この場合も遺伝毒性だけではない可能性も否定はできないかなという印象を持っているのです。

○山手座長代理 どうもありがとうございました。

今、お二方の御議論は、鼻腔内にできる腫瘍の病理発生ということで、これは確かにダイレクトに 2,6-キシリジンを混餌していますので、揮発したものを吸引して起きていると。炎症との関連は御意見いろいろあるようですが、何らかのトリガーにはなっている可能性があると思います。しかしながら、この 2,6-キシリジンそのものがやはり発がんを誘発しているということは否定できないだろうという御意見だと思います。

そのほか御意見いかがでしょうか。

ということになりますと、今回御審議いただいたポイントですが、キシラジンの代謝物としての 2,6-キシリジンの生成、特に牛においてそれを確認すべきではないかという御意見、それともう一点は、2,6-キシリジンの遺伝毒性、これを評価する上でどういうことを考えるかという、この辺は厚生労働省に追加資料を要求する必要があるのではないかという御意見でした。さらに、能美先生からあるいは三森座長から言われました *in vivo* の遺伝子突然変異試験、これはトランスジェニックラットなどを用いた試験を要求したほうがよいという。具体的にどういう試験をしたらよいか、少しお話しいただければと思うのですが。

○能美専門委員 やはりトランスジェニックラットを使って遺伝子突然変異試験を実施していただくのがよろしいと思います。しかし、今まで鼻腔でそういうミューテーションを見たという例は非常に少ないと思いますので、鼻腔以外にも、例えば混餌投与するのであれば、肝臓など幾つかのほかの臓器についてもやはり試験をしていただくのがよろしいのではないかなと思います。また、あとトランスジェニックラットですと、血液をとって小核を見るなど、幾つかの遺伝子突然変異以外のことも検索可能ですので、ほかの遺伝毒性試験のパラメータがとれるのであれば、そちらについても見ていただくというようなことが可能ではないかと思っています。

○山手座長代理 ありがとうございます。

では、事務局、今の試験の要求ということになりますが、トランスジェニックラットを用いた鼻腔以外の臓器も含めた突然変異試験、それを要求するべきではないかということです。詳細については少し能美先生と意見を交換していただいて、この専門調査会では資料要求することによってよいでしょうか。ほかにどなたか。

○廣瀬委員 投与方法ですが、混餌投与にするか、あるいは強制経口投与にするか、これ、大きく意味が違ってくると思うのですが。発がん性の場合は混餌投与で実施して、ひょっとしたらこれが揮発されたものがダイレクトに来るかもしれない。強制経口の場合にはそれがあるまいので、違った結果が出るかもしれないですね。したがって、できれば、そういう 2 種類の。

○山手座長代理 2種類の試験ということになる。

○廣瀬委員 行ったらと思うのですが。

○山手座長代理 わかりました。

お願いいたします。

○能美専門委員 発がんの御専門の先生にお聞きしたいのですが、このラットの種類が私どもで通常聞くラットの系統と大分違うのですが、こういうのは、26 ページですか、参考の 102 週間発がん性試験ところに、ラットの COBS と出ておりますが、こういうものの影響はないのかといいますか、どの程度あるものなのか、何か御意見いただければと思います。

○山手座長代理 先生、お願いします。

○三森座長 SD 系のラットです。Sprague-Dawley です。したがって、Sprague-Dawley の遺伝子改変ラットがあれば一番よいと思います。今、廣瀬先生がおっしゃったように、強制経口投与と混餌投与でどう違うのかということです。一番よいのは、標的臓器で前がん病変が起るような、そういう遺伝子改変動物を用いて、その鼻腔で突然変異を見るなり形質変異を見るなり、そのような解析が望まれます。

○山手座長代理 ありがとうございます。能美先生、よろしいでしょうか。

○能美専門委員 はい。

○山手座長代理 この 2,6-キシリジンの遺伝毒性あるいは生成物として出るか出ないか、これが最終的に ADI 設定にかかわりますので、やはりここはきちっとした形でこの調査委員会では資料を要求し、判断し、今後進めていくべきではないかなと思います。そういう方向でよいでしょうか。

それでは、本日、キシラジンの代謝物として 2,6-キシリジンが生成されるのか否か、またそれが遺伝毒性とどう考えていくのかを御審議いただきました。その結果、キシラジンに関しては、一つは、生成物としての 2,6-キシリジンをどう、特に牛の試験ですね、これを資料要求するということと、もう一つは、トランスジェニックラットを用いた突然変異、できれば強制経口投与と混餌投与という形で突然変異試験を依頼すると。こういうことになると思いますが、いかがでしょうか、よろしいでしょうか。

○能美専門委員 すみません、一つ。

○山手座長代理 よろしくをお願いします。

○能美専門委員 もう一つ、発がんの御専門の先生方にお尋ねしたいのは、投与期間です。もし、トランスジェニックラットを使って遺伝子突然変異試験を行うとしますと、スタンダードな方法は強制経口投与で 4 週間というのがいわゆるガイドライン的には推奨されておるのですが、今回の場合ですと、混餌投与で発がん性を見ているので、102 週ですか、非常に長い期間行っておりまして。したがって、投与方法として強制経口と混餌投与の両方と、廣瀬先生から推薦があったわけですが、その期間ですね、どれぐらいの期間投与するのか。だから、三森先生がおっしゃったような前がん病変が見えてというような形であれば、4 週間はやはり短過ぎるのかなと思いますが、一方で、余り長くやりますと突然変異が蓄積したりなど、必ずしも

1 年や 2 年がふさわしいというような推薦はないものですから、何かそこら辺について発がんの御専門の先生方から、やはりこれぐらいの期間は投与しなければ何も見えないだろうというような御意見があれば、聞かせていただきたいと思いますのですが。

○山手座長代理 三森先生、どうでしょうか、投与方法によつての試験期間。

○三森座長 ルールはないので、最低 28 日間、これは反復投与をしていただいたほうがよいと思います。反復投与の期間が長くなりますと、自然発生性の突然変異を拾ってしまいますので、検出が難しくなるというように思います。とりあえず 28 日間でよいというように思いますが、廣瀬先生の御意見も伺ってみたいと思います。

○廣瀬委員 19 ページのラットの 4 週間のデータを見ていたのですが、ここでは鼻腔にはまだ何も変化が出ていないですね。したがって、この時点で果たしてよいのか、若干不安を感じるところもあるのですが。

○三森座長 4 週間の試験はキシラジンです。

○廣瀬委員 これはキシラジンですか。

○三森座長 親化合物です。2,6-キシリジンではないです。

○廣瀬委員 2,6-キシリジンはないのですね。

○三森座長 はい。

○廣瀬委員 でも、かなり鼻腔への炎症は強く出ると思うので、恐らく 4 週あれば大丈夫だろうとは思いますが。場合によっては少し予備試験を実施してみて。そういうこともあるかもしれない。いきなり実施するのは少し怖いところがある。

○山手座長代理 わかりました。基本的には、4 週間の強制経口あるいは混餌投与でよいでしょうという御意見のようですが、どうでしょうか。このあたり資料要求する場合は、詳細な試験プロトコールというものをこちらから提示しないと基本的にいけないのですか。

○関谷課長補佐 そうですね、ある程度は。こういうことがわかるような試験という言い方もできるかとは思いますが。あとは、仮に遺伝毒性試験を要求して、例えば遺伝毒性が否定されたというような場合に、その後 ADI をどうするかというところも出てくると思うのです。EMEA は個別の動物に限られた動物にしか使わないなど、代謝が速いので残留性が少ないということで、MRL は設定しなくてよくて、ADI も設定していないと。そういう状況なので、本調査会として、仮に遺伝毒性の追加試験が出てきた場合で、ADI が設定できなくなった場合に、ADI を設定するためにまたさらに試験が必要な場合もあるかもしれないので、そこは手戻りがないような形で資料を要求する場合にはしたほうがよろしいかなと思っておりまして、できれば試験の内容もこれから御相談をさせていただいた上で、次回にまた ADI をどういうように、もし仮に遺伝毒性が否定されたりした場合、あるいは 2,6-キシリジンが牛では生成されなくなった場合に、ADI を設定するという観点で、どういう試験が必要かというところもある程度方向性を少し御議論いただいておいたほうがよいのかなと。遺伝毒性が否定されたが、でも ADI を設定するには十分な知見がないというようなことにもなりかねないかなということなので、EMEA のような考え方で、ADI は設定しないが、使用はできるというよう

な扱いにするのかどうかも含めてです。

○山手座長代理 今、事務局から御説明ありましたが、遺伝毒性があるということになれば、ADI の設定はできないということですが、その一方で、代謝物として 2,6-キシリジンが出ないなど、あるいは遺伝毒性はやはりないのではないかという意見が出た場合、どう扱うかという御意見なのですが、その場合、急性毒性あるいは慢性毒性試験の資料ということになるのですが、非常にこれらの試験は、正直なことを言って不十分な内容で、そこから ADI を設定するは非常に難しいと。

その一方で、EMEA ですか、ADI は設定できないが、幾つかの条件をつけて使用を認めるというような、そういう方向になると思うのですが、これは今ここで議論しておいたほうがよいのでしょうか。どうでしょうか。

○関谷課長補佐 今回はほかの試験について先生方に御確認いただいていない部分が多分あると思います。今回、代謝に絞ってこちらから確認の依頼をさせていただいたので。もう一回そこも含めて、あと資料要求の中身も、本日は頭金先生も御欠席でありますので、その内容についてもできればもう一度審議にかけていただいてもよいのかなというようには思っておりますが。

○山手座長代理 そうですね。確かに、今回は代謝と遺伝毒性試験を集中審議するというところで、恐らくこれだけでかなりいろんな意見が出ると思っていましたので。では、もう一度、ADI の設定を含めた対応をどうするかということは次回に審議するということでよいでしょうか、この専門調査会としては。そういうことでよいですね。

○関谷課長補佐 そのときに具体的な試験の内容についても。

○山手座長代理 具体的に。そうですね、試験内容など。

○関谷課長補佐 先生方と御相談しながら、案をつくっていきたいと思いますので。要求する資料の中身ですね。その試験内容についても次回に御審議をいただいたほうがよいのかなと思います。

○山手座長代理 わかりました。それでは、次回以降、もう少し議論を進めたいと思いますが、専門調査会ではそういう流れでよいでしょうか。

ありがとうございました。

それでは、議事進行を三森座長にお返ししますので、よろしくお願いいたします。

○三森座長 それでは、キシラジンについての審議はここまでで終わりました、その他でございますが、事務局から何かございますか。

○関谷課長補佐 次回の調査会ですが、3 月 21 日の水曜日の午前中ということで予定をしておりますので、また改めて御連絡をさせていただきますので、よろしくお願いいたします。

○三森座長 これで本日の議事はすべて終了いたしました、何か最後に御意見などございましたら、お願いしたいと思います。

よろしいでしょうか。

それでは、以上をもちまして閉会といたします。

どうも御協力ありがとうございました。

(了)