

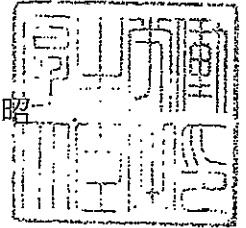
厚生労働省発食安0115第9号

平成22年1月15日

薬事・食品衛生審議会

会長 望月 正隆 殿

厚生労働大臣 長 妻 昭



諮問書

食品衛生法（昭和22年法律第233号）第11条第1項の規定に基づき、下記の事項について、貴会の意見を求めます。

記

次に掲げる飼料添加物及び動物用医薬品の食品中の残留基準設定について

オラキンドックス

平成22年2月4日

薬事・食品衛生審議会
食品衛生分科会長 岸 玲子 殿

薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会
農薬・動物用医薬品部会長 大野 泰雄

薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会
農薬・動物用医薬品部会報告について

平成22年1月15日付け厚生労働省発食安0115第9号をもって諮問された食品衛生法（昭和22年法律第233号）第11条第1項の規定に基づくオラキンドックスに係る食品規格（食品中の飼料添加物及び動物用医薬品の残留基準）の設定について、当部会で審議を行った結果を別添のとおり取りまとめたので、これを報告する。

(別添)

オラキンドックス

今般の残留基準の検討については、食品中の動物用医薬品等のポジティブリスト制度導入時に新たに設定された基準値（いわゆる暫定基準）の見直しについて、食品安全委員会において食品健康影響評価がなされたことを踏まえ、農薬・動物用医薬品部会において審議を行い、以下の報告をとりまとめるものである。

1. 概要

(1) 品目名：オラキンドックス(Olaquinox)

(2) 用途：豚の成長促進、豚赤痢及び細菌性下痢症の防止

オラキンドックスは、豚の成長促進や豚赤痢及び細菌性下痢症の防止を目的に使用されるキノキサリン系の合成抗菌剤で、DNA 合成阻害をその作用機序としている。通常、オラキンドックスとして飼料中に25～100ppm になるように添加され、4ヶ月齢までの豚に使用される。

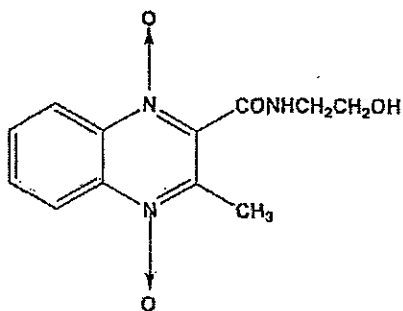
我が国では、平成13年に飼料添加物の指定が削除されている。また、動物用医薬品及びヒト用医薬品としての承認はされていない。

(3) 化学名：

CAS (No. 23696-28-8)

N-(2-Hydroxyethyl)-3-methyl-2-quinoxalinecarboxamide-1,4-dioxide

(4) 構造式及び物性



分子式：C₁₂H₁₃N₃O₄

分子量：263.25

常温における性状：淡黄色結晶

融点(分解点)：209℃(分解)

溶解性：水にわずかに溶け、ほとんどの有機溶媒に溶けない。

2. 許容一日摂取量 (ADI) 評価

食品安全基本法（平成15年法律第48号）第24条第2項の規定に基づき、平成20年3月11日付け厚生労働省発食安第0311012号により、食品安全委員会委員長あて意見を求めたオラキンドックスに係る食品健康影響評価について、以下のとおり示されている。

(1) JECFAの評価について

JECFAでは、オラキンドックスには遺伝毒性があると考え、以下のように評価している。

オラキンドックスは生殖細胞に対する遺伝毒性が示唆されており、哺乳類を用いたさらなる試験データが必要である。オラキンドックスの発がん性については、マウスにおいて腫瘍発生率が増加したが良性であったという試験結果が報告されている。このような遺伝毒性及び発がん性に対する懸念から、オラキンドックスのADIを設定することはできなかつた。しかしながら、オラキンドックスについては、家畜に対し動物用医薬品として適切に使用される場合の残留及び現時点における毒性学的な知見から、temporarily acceptable（暫定的に現在の使用を認める）と結論付け、さらなる試験データを要求している。

(2) 遺伝毒性及び発がん性について

オラキンドックスは、遺伝毒性試験の*in vitro* 試験において、突然変異を誘導すること、*in vitro* 及び*in vivo* 試験において染色体やDNAの損傷を引き起こすこと、生殖細胞に変異原性を示す可能性が示唆されることから、遺伝毒性を有しているものと考えられた。

発がん性試験においては、腫瘍発生率の明らかな増加は認められなかつたものの、現時点で評価した知見からは、オラキンドックスが発がん性を有する可能性は否定できなかつたと考えられた。また、ラットを用いた催奇形性試験においても、高用量の投与ではあるが、胎児の奇形発生率が増加した。

(3) 食品健康影響評価について

以上のことから、現時点で評価した知見からみる限り、オラキンドックスについては、遺伝毒性を有しているものと考えられるほか、発がん性及び催奇形性を有する可能性も否定できないことから、オラキンドックスにADIを設定することは適当でない。

3. 諸外国における使用状況等

米国、EU、豪州、カナダ及びニュージーランドを調査したところ、オーストラリアにおいて豚への使用が認められている。

なお、FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議 (JECFA) においては、平成6年に評価されているが、2 (1) に記載のとおり、ADI は設定されていない。

4. 基準値案

食品安全委員会における評価結果を踏まえ、オラキンドックスは食品に含有されるものであつてはならないものとする。

なお、JECFA においては、オラキンドックスは、

- ①速やかに吸収され、投与 48 時間後には 70%が親化合物として尿中に排泄されること
- ②放射性同位体を用いた残留試験において親化合物、代謝物の割合は不明であるが、100ppm 投与群において、投与 28 日後には筋肉中の総放射活性が 8ppb 程度となっていること (表 1)
- ③代謝経路は図 1 のとおりと考えられること
- ④代謝物 3-methylquinoxaline-2-carboxylic acid (MQCA) の筋肉中での残留は表 2 のとおりであること

から、MQCA を分析マーカーとすることが適当であると評価していることを踏まえ、MQCA を規制対象物質とすることとし、これが指定の分析方法により検出しないこととする。

また、本剤については、平成 17 年 11 月 29 日付け厚生労働省告示第 499 号により、食品一般の成分規格 7 に食品に残留する量の限度(いわゆる暫定基準：別紙)が定められているが、今般、残留基準の見直しを行うことに伴い、暫定基準は削除される。

表 1 豚に ^{14}C -オラキンドックス (50 mg/kg、100mg/kg) を飼料添加して投与した際の組織中の残留濃度

投与後日数 (日)	投与量 (mg/kg)	組織中の残留濃度 (ppb)			
		筋肉	肝臓	腎臓	脂肪
14 日	50	11.6	31.7	23.9	2.4
	100	21.7	59.7	49.3	5.7
28 日	50	4.1	8.2	6.7	0.9
	100	8.0	13.3	11.3	2.7

図 1 オラキンドックスの代謝経路

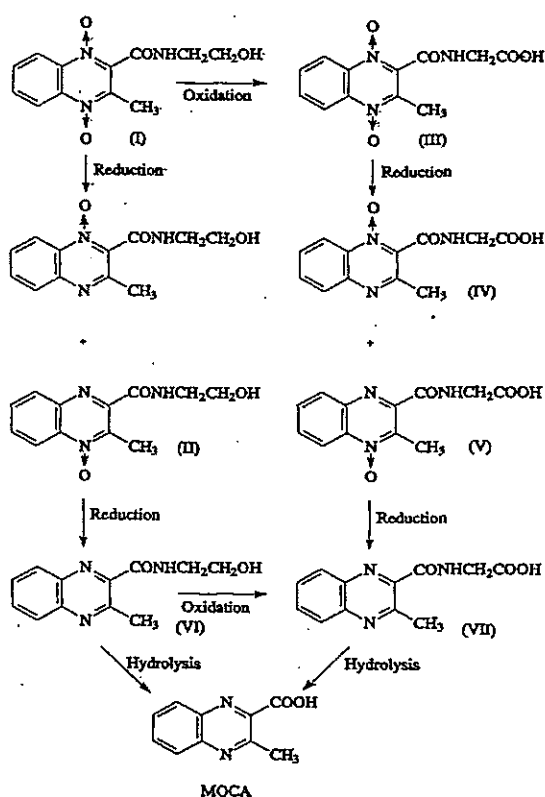


表2 豚(25頭)にオラキンドックス(100mg/kg)を飼料添加して投与した際のMQCAの筋肉中の残留濃度(ppb)

投与後日数(日)	試験頭数	MQCAの残留濃度
7	4	16.4±1.4
10	4	9.7±1.3
14	4	8.7±0.2
17	4	8.8±1.1
25	4	3.9±0.7
36	5	3.0±0.6

GC/MS法による。検出及び定量限界：1ppb

(別紙)

オラキンドックスの現行基準

食品名	基準値現行 ppm	豪州 ppm
豚の筋肉	0.3	0.3
豚の脂肪	0.3	
豚の肝臓	0.3	0.3
豚の腎臓	0.3	0.3
豚の食用部分*1	0.3	0.3
鶏の筋肉	0.3	0.3
鶏の脂肪	0.3	
鶏の肝臓	0.3	0.3
鶏の腎臓	0.3	0.3
鶏の食用部分	0.3	0.3
その他の家きんの筋肉	0.3	0.3
その他の家きんの脂肪	0.3	
その他の家きんの肝臓	0.3	0.3
その他の家きんの腎臓	0.3	0.3
その他の家きんの食用部分	0.3	0.3

平成17年11月29日厚生労働省告示499号において新しく設定した基準値については、網をつけて示した。

*1：食用部分とは、食用に供される部分のうち、筋肉、脂肪、肝臓及び腎臓以外の部分をいう。

(参考)

これまでの経緯

平成17年11月29日	残留基準告示
平成20年3月11日	厚生労働大臣から食品安全委員会委員長あてに残留基準設定に係る食品健康影響評価について要請
平成20年3月13日	第230回食品安全委員会(要請事項説明)
平成20年3月18日	第31回肥料・飼料等専門調査会
平成21年6月19日	第111回動物用医薬品専門調査会
平成21年7月30日	食品安全委員会における食品健康影響評価(案)の公表
平成21年10月1日	第303回食品安全委員会(報告) 食品安全委員会委員長から厚生労働省大臣へ通知
平成22年1月15日	薬事・食品衛生審議会へ諮問
平成22年1月27日	薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会農薬・動物用医薬品部会

●薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会農薬・動物用医薬品部会

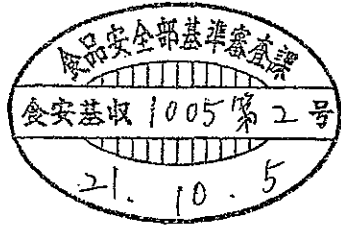
[委員]

青木 宙	東京海洋大学大学院海洋科学技術研究科教授
生方 公子	北里大学北里生命科学研究科病原微生物分子疫学研究室教授
○大野 泰雄	国立医薬品食品衛生研究所副所長
尾崎 博	東京大学大学院農学生命科学研究科教授
加藤 保博	財団法人残留農薬研究所理事
斉藤 貢一	星薬科大学薬品分析化学教室准教授
佐々木 久美子	元国立医薬品食品衛生研究所食品部第一室長
志賀 正和	元農業技術研究機構中央農業総合研究センター虫害防除部長
豊田 正武	実践女子大学生活科学部生活基礎化学研究室教授
松田 りえ子	国立医薬品食品衛生研究所食品部長
山内 明子	日本生活協同組合連合会組織推進本部 本部長
山添 康	東北大学大学院薬学研究科医療薬学講座薬物動態学分野教授
吉池 信男	青森県立保健大学健康科学部栄養学科教授
由田 克士	国立健康・栄養研究所栄養疫学プログラム国民健康・栄養調査プロジェクトリーダー
鱒淵 英機	大阪市立大学大学院医学研究科都市環境病理学教授

(○: 部会長)

(答申案)

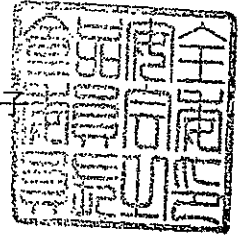
オラキンドックスについては、食品に含有されるものであってはならないとする食品規格を設定することが適当である。



府食第926号
平成21年10月1日

厚生労働大臣
長妻 昭 殿

食品安全委員会
委員長 小泉 直子



食品健康影響評価の結果の通知について

平成20年3月11日付け厚生労働省発食安第0311012号をもって貴省から当委員会に意見を求められたオラキンドックスに係る食品健康影響評価の結果は下記のとおりですので、食品安全基本法（平成15年法律第48号）第23条第2項の規定に基づき通知します。

なお、食品健康影響評価の詳細は別添のとおりです。

記

オラキンドックスは、現時点で評価した知見からみる限り、遺伝毒性を有しているものと考えられるほか、発がん性及び催奇形性を有する可能性も否定できないことから、ADIを設定することは適当でない。

動物用医薬品・飼料添加物評価書

オラキンドックス

2009年10月

食品安全委員会

○審議の経緯	3
○食品安全委員会委員名簿	4
○食品安全委員会動物用医薬品専門調査会専門委員名簿	4
○食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会専門委員名簿	4
○要約	5
I. 評価対象動物用医薬品及び飼料添加物の概要	6
1. 用途	6
2. 有効成分の一般名	6
3. 化学名	6
4. 分子式	6
5. 分子量	6
6. 構造式	6
7. 使用目的及び使用状況等	6
II. 安全性に係る知見の概要	7
1. 吸収・分布・代謝・排泄試験及び残留試験	7
(1) 薬物動態試験 (ラット)	7
(2) 薬物動態試験 (豚)	7
(3) 代謝 (豚)	7
(4) 残留試験 (豚)	8
2. 急性毒性試験 (マウス、ラット、ウサギ、ネコ及びイヌ)	8
3. 亜急性毒性試験	9
(1) 90 日間亜急性毒性試験 (マウス)	9
(2) 13 週間亜急性毒性試験 (ラット)	9
(3) 90 日間亜急性毒性試験 (ラット)	10
(4) 90 日間亜急性毒性試験 (イヌ)	10
(5) 6 週間亜急性毒性試験 (豚)	11
(6) 20 週間亜急性毒性試験 (豚)	12
(7) 19 週間亜急性毒性試験 (サル)	12
4. 慢性毒性及び発がん性試験	13
(1) 慢性毒性試験 (マウス)	13
(2) 発がん性試験 (マウス)	14
(3) 慢性毒性/発がん性試験 (ラット)	14
(4) 発がん性試験 (ラット)	15
5. 生殖発生毒性試験	15
(1) 催奇形性試験 (マウス)	15
(2) 催奇形性試験 (ラット)	16
(3) 3 世代繁殖毒性試験 (ラット)	16
(4) 生殖発生毒性試験 (ラット)	17
6. 遺伝毒性試験	17
7. ヒトにおける知見	20
8. 薬効試験	20
9. 刺激性試験及びアレルギー反応	20

(1) 眼・皮膚に対する刺激性及び皮膚感作性試験	20
(2) 光アレルギー試験	21
10. 微生物学的影響	21
Ⅲ. 食品健康影響評価	22
1. JECFA の評価について	22
2. 遺伝毒性及び発がん性について	22
3. 食品健康影響評価について	22
・表 5	23
・表 6	24
・別紙 1	25
・参照	26

〈審議の経緯〉

- 2005年 11月 29日 暫定基準告示（参照1）
- 2008年 3月 11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0311012号）、関係書類の接受
- 2008年 3月 13日 第230回食品安全委員会（要請事項説明）
- 2009年 3月 18日 第31回肥料・飼料等専門調査会
- 2009年 6月 19日 第111回動物用医薬品専門調査会
- 2009年 7月 30日 第296回食品安全委員会（報告）
- 2009年 7月 30日 より2009年8月28日 国民からの御意見・情報の募集
- 2009年 9月 29日 動物用医薬品専門調査会座長及び肥料・飼料等専門調査会座長より食品安全委員会委員長へ報告
- 2009年 10月 1日 第303回食品安全委員会（報告）
（同日付で厚生労働大臣に通知）

<食品安全委員会委員名簿>

(2009年6月30日まで)

見上 彪 (委員長)
小泉 直子 (委員長代理*)
長尾 拓
野村 一正
畑江 敬子
廣瀬 雅雄**
本間 清一

* : 2007年2月1日から

** : 2007年4月1日から

(2009年7月1日から)

小泉 直子 (委員長)
見上 彪 (委員長代理*)
長尾 拓
野村 一正
畑江 敬子
廣瀬 雅雄
村田 容常

* : 2009年7月9日から

<食品安全委員会動物医薬品専門調査会専門委員名簿>

(2008年3月31日まで)

三森 国敏 (座長)	
井上 松久 (座長代理)	
青木 宙	寺本 昭二
今井 俊夫	頭金 正博
今田 由美子	戸塚 恭一
江馬 眞	中村 政幸
小川 久美子	林 眞
下位 香代子	山崎 浩史
津田 修治	吉田 緑
寺岡 宏樹	

(2008年4月1日から)

三森 国敏 (座長)	
井上 松久 (座長代理)	
青木 宙	寺本 昭二
今井 俊夫	頭金 正博
今田 由美子	戸塚 恭一
江馬 眞	中村 政幸
小川 久美子	能美 健彦
下位 香代子	山崎 浩史
津田 修治	吉田 緑
寺岡 宏樹	

<食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会専門委員名簿>

(2007年10月1日から)

唐木 英明 (座長)	
酒井 健夫 (座長代理)	
秋葉 征夫	西澤 直子
池 康嘉	深見 元弘
小野 信一	細川 正清
下位 香代子	三浦 克洋
高木 篤也	元井 葭子
津田 修治	米山 忠克
戸塚 恭一	

要 約

抗菌剤である「オラキンドックス」(CAS No.23696-28-8)について、各種試験成績等を用いて食品健康影響評価を実施した。

評価に供した試験成績は、薬物動態(ラット及び豚)、残留(豚)、急性毒性(マウス、ラット、ウサギ、ネコ及びイヌ)、亜急性毒性(マウス、ラット、イヌ、豚及びサル)、慢性毒性(マウス及びラット)、発がん性(マウス及びラット)、生殖発生毒性(マウス及びラット)、遺伝毒性試験等である。

オラキンドックスは、遺伝毒性試験の *in vitro* 試験において、突然変異を誘発すること、*in vitro* 及び *in vivo* 試験において染色体やDNAの損傷を引き起こすこと、生殖細胞に変異原性を示す可能性が示唆されることから、遺伝毒性を有しているものと考えられた。

発がん性試験においては、腫瘍発生の明らかな増加は認められなかったものの、現時点で評価した知見からは、オラキンドックスが発がん性を有する可能性は否定できないと考えられた。また、ラットを用いた催奇形性試験においても、高用量の投与ではあるが、胎児の奇形発生率が増加した。

以上のことから、現時点で評価した知見からみる限り、オラキンドックスについては、遺伝毒性を有しているものと考えられるほか、発がん性及び催奇形性を有する可能性も否定できないことから、オラキンドックスにADIを設定することは適当でない。

I. 評価対象動物用医薬品及び飼料添加物の概要

1. 用途

抗菌剤

2. 有効成分の一般名

和名：オラキンドックス

英名：Olaquinox

3. 化学名

CAS (No. 23696-28-8)

和名：N-(2-ヒドロキシエチル)-3-メチル-2-キノキサリンカルボキサミド
-1,4-ジオキシド

英名：N-(2-Hydroxyethyl)-3-methyl-2-quinoxalinecarboxamide-1,4-dioxide

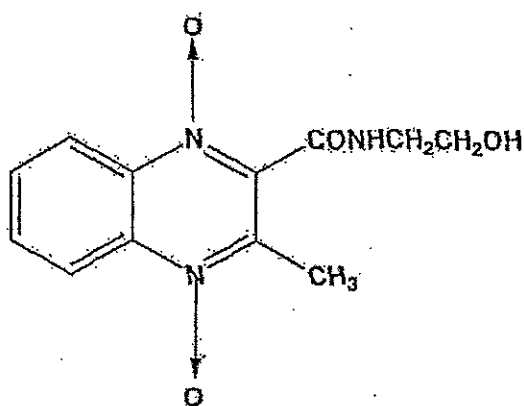
4. 分子式

$C_{12}H_{13}N_3O_4$

5. 分子量

263.25

6. 構造式



7. 使用目的及び使用状況等 (参照 2~4)

オラキンドックスは、豚の成長促進や豚赤痢及び細菌性下痢症の防止を目的として使用される抗菌剤である。オラキンドックス製剤は、通常、オラキンドックスとして飼料中に 25~100 ppm になるように添加され、4 ヶ月齢までの豚に使用される。(参照 3)

国内では、オラキンドックスは 2001 年に飼料添加物の指定が削除されている。また、動物用医薬品及びヒト用医薬品として承認されたものはない。

なお、ポジティブリスト制度導入に伴う残留基準値¹が、オーストラリアの基準値を参考に設定されている。

II. 安全性に係る知見の概要（参照 2、3）

本評価書は、JECFA のレポート（1990 年、1994 年）等をもとに毒性に関する主な知見を整理したものである。

1. 吸収・分布・代謝・排泄試験及び残留試験

(1) 薬物動態試験（ラット）

ラットを用いた $3\text{-}^{14}\text{C}$ 標識オラキンドックスの経口投与（10 mg/kg 体重）試験が実施された。放射活性のほとんどが投与後 3 時間までに尿中に回収され、残りは糞中に排泄された。最終的に放射活性の約 85 % が尿中に排泄された。また、呼気中の二酸化炭素として回収されたのは 1 % 以下であった。

ラットを用いた $3\text{-}^{14}\text{C}$ 標識オラキンドックスの十二指腸内投与試験では、投与量の約 18 % が胆汁中に排泄され、静脈内投与でも同様の結果であった。

経口投与によるオラキンドックスの体内分布については、放射活性のほとんどが投与 24 時間以内に消失した。投与 4 時間後の腎臓に最大の放射活性が認められ、これは前述した尿中排泄の程度を示したものであると考えられた。肝臓、精巣、副腎及び毛根においても、放射活性のわずかな上昇が認められた。（参照 2）

(2) 薬物動態試験（豚）

豚を用いたオラキンドックスの経口投与（2 mg/kg 体重）試験が実施された。投与量の 90 % 以上が投与 24 時間以内に尿中に排泄されたことから、オラキンドックスは吸収がよいものと考えられた。残りは糞中に排泄された。血漿中濃度は、投与 1～2 時間以内に C_{\max} （1～2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）に達し、投与後 24 時間までに約 30 ng/mL、投与後 48 時間までに 5～10 ng/mL と急速に減少した。投与 2 日後の全組織に放射活性が残っていたが、組織中濃度は極めて低く、腎臓では 110 ng/g、肝臓では 52 ng/g、筋肉では 9 ng/g であった。投与 8 日後の組織中濃度は、肝臓では 27 ng/g、腎臓では 12 ng/g、筋肉では 2.5 ng/g に低下した。投与 28 日後の腎臓、筋肉及び肝臓における残留は極めてわずかであり、それぞれ 0.9、0.5～0.8 及び 2 ng/g であった。（参照 2）

(3) 代謝（豚）

オラキンドックスの代謝が豚で研究されており、経口投与の大部分（70 %）が、未変化体で尿中に排泄された。主要代謝物は、還元化合物である 1- 又は 4-mono-N-oxide（16 %）で、残りはカルボン酸誘導体と考えられる 3 種類の

¹ 平成 17 年厚生労働省告示第 499 号によって新たに定められた残留基準値

化合物であった。

その後の研究で、これらの代謝物の構造が解明された。経口投与後の尿中の主要代謝物はオラキンドックスの 4-mono-N-oxide (約 7%) で、オメガ酸化により生成される 2-carboxymethylaminocarbonyl 化合物及びその 4-mono-N-oxide 誘導体 (6%)、2-carboxymethylaminocarbonyl に類似する 1-mono-N-oxide 部分 (1%) がみられた。残る代謝物は、2-carboxymethylaminocarbonyl 化合物の di-desoxy 誘導体である 2-carboxymethylaminocarbonyl-3-methyl quinoxaline であった。(参照 2)

(4) 残留試験 (豚)

豚を用いた 20 週間混餌投与 (100 ppm まで) 試験が実施された。最終投与 6 時間後では、腎臓に約 2,000 ng/g、肝臓に 300 ng/g の残留が認められた。最終投与 2 日後では、肝臓、腎臓及び筋肉での残留は本試験における検出限界 (50 ng/g) 未満であった。

豚を用いた 4 週間混餌投与 (160、250 ppm) 試験では、初期の残留は腎臓、肝臓及び筋肉で高かったが、投与終了後 2 日までに検出限界未満となった。

同様な結果は、豚を用いた 12~30 週間混餌投与 (100、150 ppm) 試験でも得られた。

豚を用いた肥育期間中の混餌投与 (45 ppm まで) 試験が実施された。最高残留濃度は、投与終了 6 時間後の肝臓 (140 ng/g) 及び腎臓 (280 ng/g) で認められたが、投与終了後 24 時間までに本試験における検出限界 (100 ng/g) 未満となった。(参照 2)

2. 急性毒性試験 (マウス、ラット、ウサギ、ネコ及びイヌ)

表 1 に急性毒性試験をまとめた。

マウス (雄、10 匹/群) を用いたオラキンドックスの経口投与 (2,500~5,000 mg/kg 体重) 試験が実施された。死亡例は、2,500 mg/kg 体重投与群では 1/10 例、5,000 mg/kg 体重投与群では全例で認められた。活動性の低下、眼瞼下垂、不規則呼吸等の毒性症状が認められ、投与 2~14 日後に死亡した。また、肉眼観察から肝臓の変色、黄色~緑色の小腸内容物が認められた。

ラット (雄) を用いた同様なオラキンドックスの経口投与 (1,400~2,000 mg/kg 体重) 試験においても、同様な所見が得られた。

ウサギ (2 匹/群) を用いたオラキンドックスの経口投与試験が実施された。最低用量の 500 mg/kg 体重投与群では死亡例はなかったが、1,000 及び 2,000 mg/kg 体重では 1/2 例が死亡し、4,000 mg/kg 体重では、全例が死亡した。

ネコ (2 匹/群) を用いたオラキンドックスの経口投与 (500、1,000、2,000 mg/kg 体重) 試験においても同様な所見が得られ、2,000 mg/kg 体重投与群の全例が死亡し、嘔吐が主要な毒性症状であった。

イヌを用いたオラキンドックスの経口投与試験が実施され、100 mg/kg 体重以下投与群では、毒性症状は認められなかった。250~2,000 mg/kg 体重投

与群では、嘔吐が認められたが、死亡例は認められなかった。また、皮下投与の 250 mg/kg 体重投与群では、一時的な食欲不振等が認められた。(参照 2)

表 1 オラキンドックスの急性毒性試験の概要

動物種 (系統)	性	投与経路	LD ₅₀ (mg/kg 体重)
マウス (CF1)	雄	経口	3,316
	雄	皮下	2,237
ラット (Wistar)	雄	経口	1,704
	雄	皮下	1,275
	雌雄	吸入	1,751 mg/m ³ (4 時間)
	雌	経口	1,657
ウサギ (雑種)	雌雄	経口	1,000~2,000
	雌雄	皮下	1,000~2,500
ネコ (雑種)	雌雄	経口	1,000
	雌雄	皮下	500

3. 亜急性毒性試験

(1) 90 日間亜急性毒性試験 (マウス)

マウス (NMRI 系、雌雄各 20 匹/群) を用いたオラキンドックスの 90 日間混餌投与 (0、300、600、1,200、2,400、4,800 ppm ; 0、45、90、180、360、720 mg/kg 体重/日相当) による亜急性毒性試験が実施された。

毒性症状は非特異的で、粗毛、呼吸困難及び活動性の低下であった。4,800 ppm 投与群の雌雄並びに 1,200 及び 2,400 ppm 投与群の雄において、顕著な体重低下が認められた。600 ppm 投与群の雌 1/20 例並びに 1,200 ppm 投与群の雄 18/20 例及び雌 5/20 例が死亡し、2,400 ppm 以上投与群では、全てのマウスが死亡した。対照群及び 300 ppm 投与群では、死亡は認められなかった。

剖検では、肺の出血が主な所見であった。病理組織学的検査は実施されていない。(参照 2)

(2) 13 週間亜急性毒性試験 (ラット)

ラット (Wistar 系、雌雄各 10 匹/群) を用いたオラキンドックス (2 % carboxymethylcellulose 水溶液) の 13 週間強制経口投与 (0、20、60、180 mg/kg 体重/日、5 日/週、胃チューブ) による亜急性毒性試験が実施された。

最高用量である 180 mg/kg 体重/日投与群において、投与 6~8 週後に耳及び足底面の発赤、衰弱、鼻出血等の毒性症状が認められ、投与 8 週後から死亡例が認められた。他の投与群では、毒性症状や投与による死亡は認められなかった。

投与 4 週後では、全投与群において血液学的な異常は認められず、生存動

物においては投与 12 週後でも同様であった。投与 4 週後では、全投与群において臨床化学的には正常で、投与 12 週後でも対照群、20 及び 60 mg/kg 体重/日投与群は正常であった。しかし、投与 8 週後の 180 mg/kg 体重/日投与群の死亡例では、死亡前に血糖が顕著に低下し、血清 AST が上昇した。尿検査では、投与 4 週後の全群及び投与 12 週後の 180 mg/kg 体重/日投与群（死亡により検査不可）を除いた全てが正常であった。

絶対臓器重量については、投与 90 日後の 60 mg/kg 体重/日投与群において、精巣及び卵巣重量の増加並びに顕著な脾腫が認められた。また、60 mg/kg 体重/日投与群の雌において、副腎の比重量の顕著な減少が認められた。

剖検では、180 mg/kg 体重/日投与群において、胃幽門部の発赤並びに副腎の退色及び萎縮が認められた。60 mg/kg 体重/日投与群の雌全例及び 20 mg/kg 体重/日投与群の雌 5/10 例において、多くの点状暗色結節を伴う赤色化した卵巣腫大が認められた。

病理組織学的検査では、60 及び 180 mg/kg 体重/日投与群の皮質領域に退行性変化を伴った副腎萎縮、180 mg/kg 体重/日投与群の雌に甲状腺萎縮、180 mg/kg 体重/日投与群の雌 4/5 例に中程度の卵巣萎縮が認められた。

本試験は、その他の試験条件を同様にして、再度、低用量（0、1、5、20 mg/kg 体重/日）で実施された。試験期間を通じて、臨床症状は認められず、血液学及び臨床化学的な変化も認められず、尿検査も正常であった。5 及び 20 mg/kg 体重/日投与群において、雄では副腎重量、雌では卵巣重量の増加が認められた。また、病理組織学的変化はどの投与群においても認められなかった。

以上のことから、本試験におけるオラキンドックスの NOAEL は 1 mg/kg 体重/日と考えられた。（参照 2）

（3）90 日間亜急性毒性試験（ラット）

ラット（Norway 系、雌雄各 20 匹/群）を用いたオラキンドックスの 90 日間混餌投与（0、50、150、300 ppm；0、5、15、30 mg/kg 体重/日相当）による亜急性毒性試験が実施され、血液学的及び臨床化学的検査が、投与 0、35、63 日後及び投与終了時に行われた。

毒性症状はなく、血液学的及び臨床化学的な変化も認められなかった。剖検及び病理組織学的検査でも、投与による変化は認められなかった。

以上のことから、本試験におけるオラキンドックスの NOAEL は本試験の最高用量である 30 mg/kg 体重/日と考えられた。（参照 2）

（4）90 日間亜急性毒性試験（イヌ）

イヌ（ビーグル種、雌雄各 2 匹/群）を用いたオラキンドックス（ゼラチンカプセル入り）の 90 日間強制経口投与（0、20、60、180 mg/kg 体重/日）による亜急性毒性試験が実施された。

180 mg/kg 体重/日投与群では、投与 1 週間後における嘔吐のほか、流涎、摂餌量の低下及び衰弱が認められた。60 mg/kg 体重/日投与群では、流涎及び食

欲低下が認められた。20 mg/kg 体重/日投与群では、投与による影響は認められなかった。

180 mg/kg 体重/日投与群の全例が投与 20 日後までに死亡した。60 mg/kg 体重/日投与群の 1 例が投与 40 日後に死亡し、同群のその他の動物は投与 40 及び 56 日後に切迫殺された。20 mg/kg 体重/日投与群では、死亡は認められなかった。

投与群に顕著な血液学的変化は認められなかった。臨床化学検査では、180 mg/kg 体重/日投与群の全例で血中尿素が増加していたが、他の群では、血中尿素の上昇は一時的であった。

尿検査では、異常は認められなかった。

剖検では、180 mg/kg 体重/日投与群において肺のうっ血及び消化管の刺激作用を示唆する所見のほか、肝臓の変色も認められた。20 mg/kg 体重/日投与群では異常は認められなかった。

病理組織学的検査では、60 及び 180 mg/kg 体重/日投与群に肝細胞腫大及び尿細管上皮の脂肪変性が認められたが、20 mg/kg 体重/日投与群には異常は認められなかった。

以上のことから、本試験におけるオラキンドックスの NOAEL は 20 mg/kg 体重/日と考えられた。(参照 2)

(5) 6 週間亜急性毒性試験 (豚)

① 子豚 (交雑種、4 週齢、去勢雄及び雌、7 頭/群) を用いたオラキンドックスの 6 週間混餌投与 (0、25、50、100、200 (2 群) ppm) による亜急性毒性試験が実施された。

投与 2 週後の 100 及び 200 ppm 投与群に乾燥便が認められた。50 ppm 投与群では、豚舎床の飲尿や同居豚の排尿の直接飲尿が認められた。投与 5 週後の 100 及び 200 ppm 投与群、投与 6 週後の 25 ppm 投与群において、腹部容積の減少が認められたが、50 ppm 投与群では認められなかった。投与 2 週後以降の 100 及び 200 ppm 投与群では血清アルブミンの顕著な増加、投与 4 週後以降の 200 ppm 投与群及び投与 5 週後以降の 100 ppm 投与群では、血清尿素値の顕著な上昇が認められた。剖検及び病理組織学的検査は実施されていない。(参照 2)

② 子豚 (交雑種、去勢雄及び雌各 6 頭/群) を用いたオラキンドックスの 6 週間混餌投与 (0、25、50、100、200 ppm) が実施され、血漿アルドステロン、ナトリウム及びカリウム濃度に対する影響が調査された。血漿アルドステロンについては段階的な低下が認められ、投与 5 週後までの 25 ppm 群を除く全群で有意な低下を示し、投与 6 週後では、わずかな上昇が認められた 100 ppm 投与群を除き全群で有意な低下が認められた。投与 0~2 週後の 25 及び 200 ppm 投与群において低ナトリウム血症が認められ、200 ppm 投与群では、投与 3 週後も持続的に低下した。25 及び 100 ppm 投与

群では、2～3週間の持続的な低下が認められたが、50 ppm 投与群では影響は認められなかった。50 及び 100 ppm 投与群において、カリウム濃度が上昇したが、200 ppm 投与群のみ、低カリウム血症であると考えられた。この毒性は、アルドステロンを放出する副腎球状帯に対する特異的効果であると考えられた。(参照 2)

(6) 20 週間亜急性毒性試験 (豚)

豚 (German landrace 種、去勢雄及び雌、5 頭/群、体重 9～10 kg) を用いたオラキンドックスの 20 週間混餌投与 (0、100、160、250 ppm) による亜急性毒性試験が実施された。

250 ppm 投与群では、5 例が死亡し、体重増加が有意に抑制された。100 及び 160 ppm 投与群は対照群より高い体重増加を示した。

160 及び 250 ppm 投与群では、血漿クレアチニン及び尿素濃度が上昇した。250 ppm 投与群では、高カリウム血症及び低ナトリウム血症が認められた。尿検査値は正常であった。

250 ppm 投与群では、腎皮質が灰褐色に変色したが、比重量に変化は認められなかった。160 及び 250 ppm 投与群では、腎臓における尿細管拡張及び尿細管上皮の扁平化並びに副腎皮質上皮細胞の腫大が認められた。

以上のことから、本試験におけるオラキンドックスの NOAEL は 100 ppm と考えられた。(参照 2)

(7) 19 週間亜急性毒性試験 (サル)

アカゲサル (雌雄各 3 頭/群 : 0、20 mg/kg 体重/日投与群、雄 3 及び雌 5 頭/群 : 5、40 mg/kg 体重/日投与群) を用いたオラキンドックス (ゼラチンカプセル入り) の 19 週間経口投与 (0、5、20、40 mg/kg 体重/日) による亜急性毒性試験が実施された。生存した 40 mg/kg 体重/日投与群の雌については、17 週間の回復期間を追加した。

40 mg/kg 体重/日投与群において、雄 2/3 例及び雌 1/5 例が投与期間中、雌 2/5 例が回復期間の開始後 2 週間までに死亡した。

40 mg/kg 体重/日投与群では、一般状態が悪化し、体重が減少したほか、投与 12 週後以降は食欲抑制が認められた。20 mg/kg 体重/日投与群でも体重増加抑制が認められたが、5 mg/kg 体重/日投与群では成長促進効果が認められた。

臍細胞診では、40 mg/kg 体重/日投与群の雌全例及び 20 mg/kg 体重/日投与群の雌 1/3 例に排卵抑制が認められたが、40 mg/kg 体重/日投与群では、投与を中断すると回復する徴候が認められた。心電図及び眼科的検査はいずれの群も正常であった。

40 mg/kg 体重/日投与群では、血清 AST 値の上昇 (雄、投与 5 週後)、Ht 及び RBC の低下 (投与 8 週後)、尿糖 (雄全例、投与 8 週後)、尿中グルコース、タンパク質及び総還元物質の陽性 (7/8 例)、RBC の低下 (投与 15 週後)、

血漿グルコース値の低下、尿 pH の低下、血漿尿素値の増加等が認められた。また、20 及び 40 mg/kg 体重/日投与群では、低カリウム血症が認められた。

剖検では、40 mg/kg 体重/日投与群において、腎臓の蒼白化、排卵抑制（雌）及び腹部膿瘍（雄）が認められた。

病理組織学的検査では、40 mg/kg 体重/日投与群において、肝小葉中心部の脂肪変性、尿細管の脂肪沈着及び副腎網状帯の褐色色素沈着が認められた。20 及び 40 mg/kg 体重/日投与群の雄に未成熟精巣、40 mg/kg 体重/日投与群の雌全例及び 20 mg/kg 体重/日投与群の雌 1/3 例に卵巣機能不良 (inactivity) が認められた。

以上のことから、本試験におけるオラキンドックスの NOAEL は 5 mg/kg 体重/日と考えられた。(参照 2)

4. 慢性毒性及び発がん性試験

(1) 慢性毒性試験 (マウス)

マウス (NMRI 系、雌雄各 75 匹/群) を用いたオラキンドックスの生涯混餌投与 (0、40、120、360 ppm ; 0、6、18、57 mg/kg 体重/日相当) による慢性毒性試験が実施された。

360 ppm 投与群において、対照群と比較し、雄の体重のわずかな低下 (投与 50 日後以降) 及び雌の体重の低下 (投与 200 日後以降) が認められた。

血液学的検査 (投与 4、13、26、52 及び 78 週後) における異常は認められなかった。

生存日数に対する投与の影響はなく、雌雄とも 890 日前後に死亡した。

剖検では、肝臓、腎臓、脾臓、心臓、精巣及び脳の重量に差はなく、非腫瘍性所見の増加は認められなかった。40 及び 120 ppm 投与群では、腫瘍発生の増加は認められなかったが、360 ppm 投与群では、総腫瘍数及び良性腫瘍数の増加が認められた。これは、雄における肺腺腫及び副腎皮質腺腫の増加並びに雌における肺腺腫及び卵巣の顆粒膜細胞腫の増加によるものであった (表 2)。また、悪性腫瘍数の増加は認められなかった。

以上のことから、本試験におけるオラキンドックスの NOAEL は 18 mg/kg 体重/日と考えられた。(参照 2)

表 2 オラキンドックスを混餌投与されたマウスの腫瘍発生

	0 ppm	40 ppm	120 ppm	360 ppm
雄				
肺腺腫	11(15%)	17(23%)	14(19%)	27(36%)
副腎皮質腺腫	5(7%)	3(4%)	6(8%)	13(17%)
雌				
肺腺腫	8(11%)	5*(7%)	7(9%)	11(15%)
卵巣顆粒膜細胞腫	10(13%)	16(21%)	15(20%)	20(27%)

*JECFA の評価書では数値が欠落していたため、発生率から換算した値。

(2) 発がん性試験 (マウス)

マウス (NMRI 系、雌雄各 20 匹/群) を用いたオラキンドックスの飲水投与 (0、15 (総投与量 6.6 g/kg 体重)、75 (総投与量 32.1 g/kg 体重) mg/kg 体重/日、休日の投与なし) による発がん性試験が、全てのマウスが死亡するまで実施された。

試験終了時、腫瘍の異常な発生は認められなかった。対照群の 1/40 例にリンパ節症、75 mg/kg 体重/日投与群の 2/40 例に胸腺腫及び悪性胸腺細胞腫、15 mg/kg 体重/日投与群の 2/40 例に肺がん及び気管支がんが認められた。

平均生存日数は標準偏差が大きく、75 mg/kg 体重/日投与群の方が対照群よりも長かった (0、15、75 mg/kg 体重/日投与群でそれぞれ 340 ± 187 、 338 ± 224 、 403 ± 194 日)。(参照 2)

(3) 慢性毒性/発がん性試験 (ラット)

ラット (系統不明、雌雄各 75 匹/群) を用いたオラキンドックスの混餌投与 (0、40、120、360 ppm ; 0、3、10、30 mg/kg 体重/日相当) による慢性毒性/発がん性試験が実施された。投与は交配前 1 週間及び 1:1 交配の 3 週間行われ、交配後、雌は児動物が 4 週齢になるまでオラキンドックス含有飼料を投与された。児動物は雌雄各 25 匹/群に分けられ、親動物が最初に投与されたものと同じ飼料を 2 年間投与され、その投与期間中に臨床化学的検査、血液学的検査及び尿検査が、児動物の雌雄各 5 匹/群について実施された。

明らかな毒性症状は投与群に認められなかったが、投与 400 日後の 360 ppm 投与群では、対照群と比較し、有意な体重低下が認められた。

臨床化学的検査では、360 ppm 投与群において血中クレアチニン濃度が上昇したが、全て正常範囲内であった。また、投与群において、尿中アルブミン含量の低下が認められた。

剖検及び病理組織学的検査では、非腫瘍性疾患及び腫瘍の発生増加は認められなかったが、本試験は動物数が少なすぎるため、発がん性について評価できないと考えられた。

上述の慢性毒性/発がん性試験における F₁ 世代ラット (雌雄各 50 匹/群) を用いた同様の手順 (0、40、120、360 ppm ; 0、3、10、30 mg/kg 体重/日相当、混餌投与) による発がん性試験が実施された。

試験期間は約 3 年間 (雄 1,065 日、雌 1,120 日) となり、その時点において、対照群の 20 % が生き残った。

投与 500 日後の 360 ppm 投与群において、体重低下が認められた以外は、投与群に毒性症状は認められなかった。

試験終了時における死亡率は、360 ppm 投与群では雌雄とも 98 %、40 ppm 投与群の雌では 92 % であり、対照群の死亡率 82~86 % と比較すると、生存率が有意に低下したが、他の投与群の死亡率は対照群の死亡率よりわずかに高い程度であった。

剖検では、総腫瘍数、原発腫瘍、悪性腫瘍及び良性腫瘍、転移を伴った悪性腫瘍及び良性腫瘍の総数については、雌雄ともに投与群と対照群の間に差は認められなかった。また、特定の腫瘍部位（悪性腫瘍、良性腫瘍、転移を伴った悪性腫瘍及び良性腫瘍）における発生率の違いは認められなかったが、副腎、網内系及び精囊の腫瘍の発生率はわずかに増加した。これらは、他の器官からの転移又は浸潤に起因するものと考えられた。

以上のことから、本試験におけるオラキンドックスの NOAEL は 10 mg/kg 体重/日と考えられた。(参照 2)

(4) 発がん性試験 (ラット)

① ラット (Wistar 系、雌雄各 20 匹/群) を用いたオラキンドックスの 560 日間強制経口投与 (総投与量 4.7 g/kg 体重、個々の投与量 50~150 mg/kg 体重、1 回/週、生理食塩水への懸濁、対照群は生理食塩水の腹腔内投与) による発がん性試験が実施された。

投与群の生存日数は対照群より長かった (投与群の雄: 875±105 日及び雌: 818±167 日、対照群の雄: 797±215 日及び雌: 779±187 日)。

投与群の腫瘍発生は、対照群と比較して、差は認められず、腫瘍を発現した動物数も同程度であった。(参照 2)

② ラット (BR46 系、雌雄、80 匹/群) を用いたオラキンドックスの生涯飲水投与 (0、15、75 mg/kg 体重/日、5 日/週) による発がん性試験が実施された。

投与群の生存日数は対照群より長かった (対照群: 554±248 日、15 mg/kg 体重投与群: 704±161 日、75 mg/kg 体重投与群: 655±229 日)。

腫瘍の発生率は乳腺線維腺腫でのみ増加 (対照群: 1/40 例 (2.5 %)、15 mg/kg 体重/日投与群: 3/46 例 (6.5 %)、75 mg/kg 体重/日投与群: 7/46 例 (15 %)) したが、本試験の発がん性に係るデータは雌雄別のデータがなく不十分であり、評価できないと考えられた。(参照 2)

5. 生殖発生毒性試験

(1) 催奇形性試験 (マウス)

妊娠マウス (NMRI 系、20 匹/群) を用いて妊娠 6~15 日にオラキンドックス (トラガカント溶媒) の強制経口投与 (0、20、60、180 mg/kg 体重/日) による催奇形性試験が実施された。

試験期間中、母動物の死亡は認められなかったが、180 mg/kg 体重/日投与群において、体重及び体重増加率の低下が認められた。着床数、生存胎児及び胚吸収は全投与群で同程度であった。180 mg/kg 体重/日投与群において、対照群と比較し、胎児体重が減少した。奇形の発生は、全投与群において対照群と同程度であった。

以上のことから、本試験におけるオラキンドックスの NOAEL は 60 mg/kg

体重/日と考えられた。(参照 2)

(2) 催奇形性試験 (ラット)

妊娠ラット (FB30 系、20 匹/群) を用いて妊娠 6~15 日にオラキンドックス (トラガカント溶媒) の強制経口投与 (0、20、60、180 mg/kg 体重/日) による催奇形性試験が実施された。

180 mg/kg 体重/日投与群では、対照群と比較し、母動物の体重及び体重増加率の低下が認められた。これらの母動物では、胚吸収率の増加、生存胎児数の減少が認められた。胎児体重については、180 mg/kg 体重/日投与群は対照群よりも減少したが、20 及び 60 mg/kg 体重/日投与群は、対照群と同程度であった。

20 及び 60 mg/kg 体重/日投与群の母動物から生まれた胎児の奇形発生率は対照群と同程度であったが、180 mg/kg 体重/日投与群では、胎児の奇形発生率が増加した。

以上のことから、本試験におけるオラキンドックスの NOAEL は 60 mg/kg 体重/日と考えられた。(参照 2)

(3) 3 世代繁殖毒性試験 (ラット)

ラット (FB30 系、雄 10 匹及び雌 20 匹/群) を用いたオラキンドックスの混餌投与 (0、20、100、500 ppm ; 0、1、5、25 mg/kg 体重/日相当) による 3 世代繁殖毒性試験が実施された。

500 ppm 投与群の雌において、F₀ 世代の体重が対照群と比較してわずかに高かった以外は、投与による影響は認められなかった。

500 ppm 投与群における F₀ 世代の初回及び 2 回目の交配で受胎率は低下したが、同腹児数及び生育率に影響は認められなかった。対照群と比較し、F_{1a} 及び F_{1b} 動物の出生時体重に差は認められなかったが、有意差はないものの、500 ppm 投与群の F₁ 出生時体重が増加した。F₀ 世代の 2 回目の交配以降、F_{1b} 世代の平均同腹動物数は全投与群で同程度であったが、出生 5 日後時点においては、500 ppm 投与群の 6 児/腹は他の投与群及び対照群の 10~12 児/腹と比較し有意に少なかった。また、F_{1b} 世代の出生時体重に影響はなかった。

F_{1b} 世代の交配では、他の群の出産率 (90~100 %) と比較し、500 ppm 投与群の出産率 (80~84 %) が低下した。

F_{2a} 及び F_{2b} 世代の平均同腹児数については、500 ppm 投与群では 8 児/腹と対照群の 11 児/腹よりも少なかったが、F₂ 出生時体重は変わらず、4 週齢までの生育率にある程度の改善が認められた。

F₃ 世代では、500 ppm 投与群において、出産率 (70~84 %) の低下 (その他の群 90~100 %) や、平均同腹児数 (5~7 児/腹) の減少 (その他の群 8.5~10.8 児/腹) が認められたが、生育率及び F₃ 出生時体重については、影響は認められなかった。また、試験期間中、奇形は認められなかったとともに、剖検及び病理組織学的検査では、3 週齢の F_{3b} 動物に異常は認められなかった。

以上のことから、本試験におけるオラキンドックスのNOAELは5 mg/kg 体重/日と考えられた。(参照 2)

(4) 生殖発生毒性試験 (ラット)

ラット (Wistar 系、雄 10 匹/群、雌 20 匹/群) を用いた強制経口投与 (0、4、10 mg/kg 体重/日、雄: 交配前 8 週間、雌: 交配前 3 週間) による受胎能試験が実施され、投与群の雄と無処置の雌、無処置の雄と投与群の雌、無処置の雌と雄を交配させた。

体重、性周期、交尾率及び受胎率への投与による影響は認められなかった。4 mg/kg 体重/日投与群の雌と無処置の雄との交配群では、平均着床数が低下した。着床前胚死亡が 4 及び 10 mg/kg 体重/日投与の雌で増加し、10 mg/kg 体重/日投与の雌で着床後胚死亡が増加した。投与群の雄と無処置の雌との交配では、投与の影響は認められなかった。(参照 2)

6. 遺伝毒性試験

オラキンドックスに関する遺伝毒性試験を表 3 にまとめた。

Salmonella typhimurium を用いた Ames 試験や、*Escherichia coli* を用いた前進突然変異試験、培養ヒト白血球細胞を用いた細胞遺伝学的試験、チャイニーズハムスター V79 細胞を用いた姉妹染色分体交換試験、SOS クロモテストを含む細菌試験などの *in vitro* 試験のいずれにおいても、陽性の結果であった。これらの結果から、オラキンドックスが DNA 損傷を誘発する可能性が示唆された。また、オラキンドックスの代謝物の変異原性についても調べられたが、オメガ酸化産物である 1-及び 4-monodesoxy 誘導体並びにその didesoxy 誘導体は、*S. typhimurium* を用いた Ames 試験において、全て陰性であった。

一方、マウス骨髄細胞やチャイニーズハムスター精原細胞を標的とした *in vivo* 試験では染色体異常を誘発し、経口投与又は吸入暴露されたマウス、腹腔内投与されたラットを用いた小核試験においても陽性結果が得られた。しかし、経皮暴露試験の結果は陰性であり、オラキンドックスの経皮吸収が悪いことが反映されていると考えられた。雄マウスを用いた 3 つの優性致死試験が実施されたが、1 つの試験においてのみ、1,000 mg/kg 体重という高用量で弱い陽性結果を示した。雌マウスは、雄マウスでの陽性結果よりも低い用量 (200 及び 500 mg/kg 体重) で陽性であった。

オラキンドックスの結果は、キンドキシシキシンやカルバドックスを含む数種の他の quinoxaline di-N-oxide で認められた結果と同じであった。オラキンドックスやキンドキシシキシンも、DNA に結合せず、電子スピン共鳴法により、キンドキシシキシンの還元でフリーラジカルが発生することが示され、キンドキシシキシンの類縁体では DNA 合成の阻害が起こるが、これらの変異原性誘発機序における役割は明らかでない。

以上の結果から、各種試験系において、オラキンドックスに遺伝毒性があ

ることが示され、細菌で突然変異を誘発することや、*in vitro* 及び *in vivo* で染色体や DNA の損傷を引き起こすこと、生殖細胞に変異原性を示す可能性があること等が示された。(参照 2)

表 3 *in vitro* 試験

試験系	試験対象	用量等	結果
Ames 試験	<i>Salmonella typhimurium</i> TA 98、100	3.8~0.5 nmol/plate、±S9	陽性
Ames 試験	<i>S. typhimurium</i> TA 100	1.9~57 nmol/plate、-S9、好気性及び嫌気性条件下	陽性
Ames 試験	<i>S. typhimurium</i> TA 98、100	1.25~15 µg/ plate、±S9	陽性
Ames 試験	<i>S. typhimurium</i> TA 98、100	0.01~0.1 mmol/L、-S9	陽性
Ames 試験	<i>S. typhimurium</i> TA 98、100	0~50 µg/ plate、±S9	陽性
フラクチュエーションテスト	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	$2 \times 10^{-4} \sim 1 \times 10^{-2}$ mmol/L、±S9	陽性
フラクチュエーションテスト	<i>K. pneumoniae</i>	$2 \times 10^{-5} \sim 1 \times 10^{-2}$ mmol/L、-S9	陽性
前進突然変異試験	<i>Escherichia coli</i> WP2uvrA/pKM101	0~20 µg/ plate、±S9	陽性
細胞遺伝学的試験	培養ヒト白血球細胞	3~300 µg/mL	陽性
SOS クロモテスト (DNA 損傷)	<i>E. coli</i> GE94	0~10 µg/ plate、-S9	陽性
SOS クロモテスト (DNA 損傷)	<i>E. coli</i> PQ37	0.001~0.1 mmol、-S9	陽性
DNA 損傷試験	<i>S. typhimurium</i>	100 µg/ディスク、uvr B 及び recA	陽性
DNA 損傷試験	<i>S. typhimurium</i>	1~100 µg/ディスク	陽性
酵母遺伝子変換試験	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> D4	0.05 % w/v、-S9	陽性
姉妹染色分体交換試験	チャイニーズハムスター-V79 細胞	0~200 µg/mL、V79 細胞	陽性

表 4 *in vivo* 試験

試験系	試験対象	用量等	結果
細胞遺伝学的試験	マウス骨髄細胞	20、500、800 mg/kg 体重、経口投与	陰性
細胞遺伝学的試験	マウス骨髄細胞	200~800 mg/mL 体重、経口投与	陰性
細胞遺伝学的試験	マウス骨髄細胞	20~500 mg/kg 体重、4 及び 12 週間混餌投与	陽性
細胞遺伝学的試験	チャイニーズハムスター骨髄細胞	20 mg/kg 体重、5 回経口投与	陽性
細胞遺伝学的試験	チャイニーズハムスター精原細胞	2×30~2×1,000 mg/kg 体重、経口投与	陽性
小核試験	マウス骨髄細胞	500 mg/kg 体重、経口投与、(24、48、72 時間後)、 10~300 mg/kg 体重、経口投与 (24 時間後)	陽性
小核試験	チャイニーズハムスター骨髄細胞	20 mg/kg 体重、4.2、100 mg/kg 体重、単回経口投与	陽性
小核試験	マウス骨髄細胞	6.7、161 mg/m ³ 、6 時間/日、2 日間、吸入	陽性
小核試験	マウス骨髄細胞	2,034 mg/kg 体重、30 時間経皮暴露	陰性
小核試験	マウス骨髄細胞	100 mg/kg 体重、経口、腹腔内投与	陽性
小核試験	マウス骨髄細胞	100 mg/kg 体重、経口、腹腔内投与	陽性
優性致死試験	マウス (雄)	2×1,000 mg/kg 体重、1 週間、経口投与	陽性
優性致死試験	マウス (雄)	40、120、360 ppm (6、18、54 mg/kg 体重相当)、35 日間混餌投与	陰性
優性致死試験	マウス (雄)	100、300、500 mg/kg 体重、4 週間混餌投与 20、40、100、200、500 mg/kg 体重、12 週間混餌投与	陰性
優性致死試験	マウス (雌)	30、100、300、1,000 mg/kg 体重、単回経口投与、 1,000 mg/kg 体重のみ陽性	陽性
優性致死試験	マウス (雌)	20、40、100、200、500 mg/kg 体重、4 週間混餌投与	陽性
DNA 結合	ラット	500 mg/kg 体重、経口投与	陰性

7. ヒトにおける知見

ヒトがオラキンドックスに暴露される主要な経路の 1 つは、飼料調製及び豚への給餌作業時であると考えられる。オラキンドックス 50 ppm 含有飼料の充填作業時における作業場（豚舎）の空気には、オラキンドックスは検出されなかった。10%プレミックスから、0.1%プレミックス飼料及び 50 ppm 最終飼料の調製作業では、大気中に低レベルのオラキンドックスが検出され、大気中レベルは 0.1~0.4 $\mu\text{g}/\text{m}^3\text{air}$ 以下と算出された。同様な調製及び給餌作業に従事している作業員（1人）の尿から、オラキンドックスは検出されなかった（検出限界 40 ppb）。

ボランティア 2 人の皮膚に、オラキンドックス 2 g 含有ペースト（約 30 mg/kg 体重）を塗布（密閉包帯使用、6 時間）した場合、48 時間以内の尿中にオラキンドックスは検出されなかった（検出限界 0.12 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）。

職業的なオラキンドックス暴露に伴うアレルギー性接触皮膚炎及び光接触皮膚炎の報告があるが、いずれも、養豚飼育作業員が家畜舎内で飼料中のオラキンドックスに暴露されたものであった。また、オラキンドックス暴露に伴う全身的毒性の報告はない。（参照 2）

8. 薬効試験

ラット及びマウスにおいて、抗痙攣、防御反応の抑制、運動協調、鎮痛、降圧作用、胃液分泌、胆汁分泌、利尿、血糖、血中脂肪、血小板凝集（牛血漿）などの薬理学的スクリーニングが数多く試験されたが、薬理学的活性は認められなかった。（参照 2）

9. 刺激性試験及びアレルギー反応

（1）眼・皮膚に対する刺激性及び皮膚感作性試験

①眼に対する刺激性（ウサギ）

ウサギ（ニュージーランドホワイト種、6 匹/群）の右結膜（6 匹）及び左結膜囊（6 匹）に、オラキンドックス微粉末（15 mg）を塗布する試験が実施され、1 分後に生理的食塩水で左眼を洗浄し、塗布 24、48、72 時間及び 7 日後に、眼刺激性が調べられた。

オラキンドックスを直接塗布した群では、軽度の結膜発赤（4/6 眼）、軽度の浮腫（2/6 眼）、オラキンドックスを結膜囊に塗布し洗浄した群では、軽度の浮腫（1/6 眼）が認められたが、全ての反応が 24 時間以内に正常に戻った。

この結果から、オラキンドックスは軽度の刺激性を持つことが示唆されたが、粉塵による物理的な影響は除外することはできないと考えられた。（参照 2）

②皮膚に対する刺激性（ウサギ）

ウサギ（ニュージーランドホワイト種、6 匹/群）の毛剃りした正常及び擦過背部の皮膚に、オラキンドックス微粉末（溶媒なし）を 24 時間塗布（閉鎖包帯使用）する試験が実施され、処理 48、72 時間及び 7 日後に皮膚から包帯

をはがして検査した。処理 24 時間後、正常及び擦過皮膚に軽度の紅斑が認められたが、それ以降は認められなかった。また、浮腫は認められなかった。

この結果から、オラキンドックスは刺激性が少ないことが示唆された。(参照 2)

③皮膚感作性試験 (モルモット)

モルモット (Pirbright-White 種、10 匹/群) を用いたオラキンドックス (dimethyl sulfoxide 溶液又は生理的リン酸バッファー懸濁液) の皮内投与 (1、3、6、9、13 日、頸部) による皮膚感作性試験が実施された。最終投与 4 日後、オラキンドックス懸濁液 (1:1 アセトン/アーモンド油) を除毛した脇腹に塗布し、軽くマッサージした。光の影響を考慮し、モルモットの各群に対する処理は暗いケージの中で実施した。

皮膚の剖検と病理組織学的検査において、感作性は認められなかった。(参照 2)

④皮膚に対する試験 (ウサギ)

ウサギ (ニュージーランドホワイト種、雌雄各 3 匹/群) の毛剃りした正常背部皮膚及び擦過皮膚の表面に、オラキンドックス (ルトロール溶液) を 3 週間塗布 (0、50、250 mg/kg 体重/日、6 時間/日、5 日/週、閉鎖包帯なし) する試験が実施された。

オラキンドックス処理による皮膚反応は、擦過皮膚及び正常皮膚のどちらにも認められなかった。死亡は認められなかったとともに、その他、投与に起因すると考えられる影響も認められなかった。(参照 2)

(2) 光アレルギー試験

オラキンドックスは、ヒトと動物に光アレルギー反応を引き起こす。オラキンドックスが光に暴露されると、反応性の高い oxaziridine 誘導体が生じる。この imino-N-oxide は、タンパク質と反応して光アレルギーを生成する。

ラットを用いて紫外線暴露 (長波長紫外線 UVA に 12 時間) と併せてオラキンドックスを 4 日間経口投与 (60 mg/kg 体重/日) する試験が実施された。体重低下、重度の紅斑、浮腫及び耳の壊死などの特徴的な光アレルギー反応が認められたが、光毒性に対する NOAEL は設定できなかった。(参照 3)

10. 微生物学的影響

JECFA は「オラキンドックスによる微生物学的影響は、オラキンドックスが動物用医薬品として適切に使用される場合の残留による毒性学的影響より明らかに小さい」と結論付けている。(参照 3)

III. 食品健康影響評価

1. JECFA の評価について

JECFA では、オラキンドックスには遺伝毒性があると考え、以下のように評価している。

オラキンドックスは生殖細胞に対する遺伝毒性が示唆されており、哺乳類を用いたさらなる試験データが必要である。オラキンドックスの発がん性については、マウスにおいて腫瘍発生率が増加したが良性であったという試験結果が報告されている。このような遺伝毒性及び発がん性に対する懸念から、オラキンドックスの ADI を設定することはできなかった。しかしながら、オラキンドックスについては、家畜に対し動物用医薬品として適切に使用される場合の残留及び現時点における毒性学的な知見から、temporarily acceptable（暫定的に現在の使用を認める）と結論付け、さらなる試験データを要求している。（参照 2,3）

2. 遺伝毒性及び発がん性について

オラキンドックスは、遺伝毒性試験の *in vitro* 試験において、突然変異を誘発すること、*in vitro* 及び *in vivo* 試験において染色体や DNA の損傷を引き起こすこと、生殖細胞に変異原性を示す可能性が示唆されることから、遺伝毒性を有しているものと考えられた。

発がん性試験においては、腫瘍発生の明らかな増加は認められなかったものの、現時点で評価した知見からは、オラキンドックスが発がん性を有する可能性は否定できないと考えられた。また、ラットを用いた催奇形性試験においても、高用量の投与ではあるが、胎児の奇形発生率が増加した。

3. 食品健康影響評価について

以上のことから、現時点で評価した知見からみる限り、オラキンドックスについては、遺伝毒性を有しているものと考えられるほか、発がん性及び催奇形性を有する可能性も否定できないことから、オラキンドックスに ADI を設定することは適当でない。

暴露量については、当評価結果を踏まえ暫定基準値の見直しを行う際に確認することとする。

表5 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	90日間亜急性毒性試験	0、45、90、180、 360、720 (混餌)	— 体重低下、死亡
	慢性毒性試験	0、6、18、57 (混餌)	— 肺腺腫及び副腎腺腫増加(雄)、肺 腺腫及び卵巣顆粒膜細胞腫増加 (雌)
	催奇形性試験	0、20、60、180 (経口)	— 体重及び体重増加率の低下(母動 物)、胎児体重の低下
ラット	13週間亜急性毒性試験	0、1、5、20 (経口)	1 副腎重量増加(雄)、卵巣重量増加 (雌)
	90日間亜急性毒性試験	0、5、15、30 (混餌)	30
	慢性毒性試験/発がん性試験	0、3、10、30 (混餌)	— 体重低下
	催奇形性試験	0、20、60、180 (経口)	60 体重及び体重増加率の低下(母動 物)、胚吸収率の増加、生存胎児数 の減少、胎児体重の減少、胎児の 奇形
	3世代繁殖毒性試験	0、1、5、25 (混餌)	— F ₀ : 受胎率低下 F ₁ 、F ₂ 、F ₃ : 平均同腹児数減少 F ₃ : 出産率低下
イヌ	90日間亜急性毒性試験	0、20、60、180 (経口)	20 死亡、肝細胞腫大、尿細管上皮の 脂肪変性、食欲低下、流涎
豚	6週間亜急性毒性試験	0、25、50、100、 200 ppm (混餌)	— 飲尿
	6週間亜急性毒性試験	0、25、50、100、 200 ppm (混餌)	— 血漿アルドステロンの低下
	20週間亜急性毒性試験	0、100、160、 250 ppm (混餌)	100 ppm 血漿クレアチニン及び尿素濃度の 上昇、尿細管拡張及び尿細管上皮

			の扁平化、副腎皮質上皮細胞の腫大
サル	19 週間亜急性毒性試験	0、5、20、40 (経口)	5 体重増加抑制、排卵抑制、低カリウム血症、未熟精巣 (雄)、卵巣機能不良 (雌)
毒性学的 ADI			設定できず。 (遺伝毒性及び発がん性に対する懸念)
ADI			

表 6 オーストラリアにおける評価 (参照 4)

動物種	試験	投与量 (mg/kg 体重/日)	無毒性量 (mg/kg 体重/日)
ラット	慢性毒性試験/発がん性試験	0、40、120、360 ppm (混餌)	120 ppm (雄: 6 mg/kg 体重/日、雌: 8 mg/kg 体重/日) 体重低下、精巣重量の減少
毒性学的 ADI			0.06
ADI			0.06

<別紙1：検査値等略称>

略称	名称
ADI	一日摂取許容量
AST	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
C _{max}	最高濃度
Ht	ヘマトクリット値
JECFA	FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議
LD ₅₀	半数致死量
NOAEL	無毒性量
RBC	赤血球数

<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、平成 17 年厚生労働省告示第 499 号）
- 2 Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA) Olaquinox (WHO Food Additives Series 27), 1990
- 3 Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA) Olaquinox (WHO Food Additives Series 33), 1994
- 4 Australian Government , Japanese Positive List Response in Support of Australian MRLs for: OLAQUINOX

