資料１－２

動物用医薬品評価書

酢酸メレンゲステロール

２０１７年1月

食品安全委員会

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 厚生労働大臣から残留基準設定に係る食品健康影響評価について要請（厚生労働省発食安第 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
2016 年 11 月 28 日 第 197 回動物用医薬品専門調査会
2016 年 12 月 20 日 第 633 回食品安全委員会（報告）
2016 年 12 月 21 日 から 2017 年 1 月 19 日まで 国民からの意見・情報の募集
2017 年 1 月 25 日 動物用医薬品専門調査会座長から食品安全委員会委員長へ報告
2017 年 1 月 31 日 第 636 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)	(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 ** : 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)	(2017 年 1 月 6 日まで)	(2017 年 1 月 7 日から)
熊谷 進（委員長）	佐藤 洋（委員長）	佐藤 洋（委員長）
佐藤 洋（委員長代理）	山添 康（委員長代理）	山添 康（委員長代理）
山添 康（委員長代理）	熊谷 進	吉田 緑
三森 国敏（委員長代理）	吉田 緑	山本 茂貴
石井 克枝	石井 克枝	石井 克枝
上安平 洌子	堀口 逸子	堀口 逸子
村田 容常	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	渡邊 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	渡邊 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	渡邊 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	渡邊 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	渡邊 敏明
石塚 真由美	能美 健彦	
島田 章則	舞田 正志	

＜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	前多 敬一郎	山手 丈至
奥田　　潔	山崎 浩史	

＜第 197 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	前多 敬一郎	山手 丈至
奥田　　潔	山崎 浩史	

要　約

合成ホルモン剤である「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（ウサギ、牛及びヒト）、残留（牛）、遺伝毒性、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）、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。

各種遺伝毒性試験により、酢酸メレンゲステロール（MGA）は生体にとって問題となる遺伝毒性を示さないと考えられたことから、MGA の一日摂取許容量（ADI）を設定することは可能であると判断された。

in vitro での各種ヒトホルモン受容体を用いたホルモン活性の試験から、MGA は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られた。

各種毒性試験の結果から、MGA の投与による影響は、血清プロラクチンの上昇、乳腺発達、黄体の欠如及び子宮内膜過形成等であった。C3Han/f マウスを用いた発がん性試験において、1.5 mg/kg 体重/日投与群で乳腺腫瘍が誘発されたが、これは MGA の直接的な影響ではなく、MGA により分泌が促進されたプロラクチンの影響であることがプロラクチン阻害剤を用いた試験で明らかにされた。生殖発生毒性試験では、雌に発情抑制、排卵抑制及び分娩障害等がみられた。ウサギを用いた発生毒性試験では、0.8 及び 1.6 mg/kg 体重/日投与群で口蓋裂、弯曲足、臍ヘルニア及び不完全骨化等の形態異常が認められたが、これは MGA のコルチコステロイド（グルココルチコイド）活性によるものと考えられた。

エンドポイントを判断するに当たっては、非ヒト霊長類における MGA のホルモン作用を最も鋭敏な指標とすることが適当と判断した。

アカゲザルを用いた 1 月経周期投与試験において、無毒性量（NOAEL）1.5 μg/kg 体重/日が得られたが、NOAEL が得られた用量とその一つ上の用量との公比が 10 と大きいことを考慮すると、実際の NOAEL は 1.5 μg/kg 体重/日より大きいと考えられた。カニクイザルを用いた 3 月経周期投与試験において得られた最小毒性量（LOAEL）5 μg/kg 体重/日は、生化学的指標に変動がみられ、また、月経周期の変化が僅かにみられたものの、機能的な異常には至っていないことから、NOAEL に近いと考えられた。したがって、食品安全委員会は、カニクイザルを用いた 3 月経周期投与試験の LOAEL を ADI の設定根拠とすることが適切と判断した。また、NOAEL に近い LOAEL であることから、安全係数として 2 を追加することが適当と判断した。

これらのことから、カニクイザルを用いた 3 月経周期投与試験における LOAEL 5 μg/kg 体重/日に安全係数 200 を適用し、ADI を 0.025 μg/kg 体重/日と設定した。

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

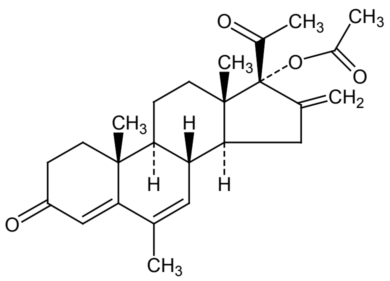
４．分子式

$C_{25}H_{32}O_4$

５．分子量

396.52

６．構造式



(参照 2)

７．使用目的及び使用状況

酢酸メレンゲステロール（MGA）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)

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) 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）

[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

1．薬物動態試験

（1）薬物動態試験（ウサギ）

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）

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

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 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）

---

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）

（２）薬物動態試験（牛）①

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。

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中の総放射活性が液体シンチレーション計測（LSC）により測定された。

結果を表 1 に示した。主要な 4 種類の臓器又は組織（肝臓、脂肪、筋肉及び腎臓）のうち、肝臓で最高総放射活性がみられ（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。LOD は、0.5 ng eq/g であった。（参照 3、5、8、9）

表 1　牛における[6-methyl-^{3}H]標識 MGA 混餌投与後の
総放射活性の組織分布 a（ng eq/g）

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	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	2.5	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				

n=3　a：3 例の平均値、b：3 例中 2 例の値

3 頭の個体ごとの組織中総放射活性濃度を表 2 に示した。（参照 8、9）

表 2　牛における[6-methyl-^{3}H]標識 MGA 混餌投与後の
組織中総放射活性濃度（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

LOD：0.5 ng eq/g

② 代謝

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）又は LSC により分析された。

未変化の MGA が脂肪中では総放射活性の 75～86%、肝臓中では 29%、筋肉中では 48%、腎臓中では 29%を占めた。（参照 3、5、8、9）

③ 排泄

[6-methyl-^{3}H]標識 MGA 投与群では、投与放射活性の約 72%が排泄されたが、燃焼法を用いたため、トリチウムの回収率は低かった。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。

投与 6 時間後の組織中の総放射活性(^{3}H)の分布については、胆汁（平均 113 ng eq/g）、空回腸内容物（23.4 ng eq/g）[3]及び大腸内容物（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、胆管にカニューレを挿入した未経産牛を用いた既報の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 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）

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）

（３）薬物動態試験（牛）②

未経産牛（Holstein 種、2 頭/群）に MGA を 8 週間混餌投与（0、0.5、1.5 又は 5.0 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、肝臓、腎臓及び筋肉中濃度は LC-MS で、腎周囲脂肪中濃度は GC-MS で測定された。

腎周囲脂肪中 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。各投与群の投与終了時の組織中 MGA 濃度を表 3 に示した。

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、10）

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	5.0
肝臓	0.8、1.0	2.3、7.7	5.1、7.6
腎臓	<2	<2	<2

[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。

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	／	／

n=2　／：該当なし

（４）薬物動態試験（ヒト）

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

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。尿及び糞便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、糞便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、11）

（５）薬物動態に係る知見

マウス、ラット、ヒト肝細胞キメラマウス（TK-NOG）及びヒト生理学的薬物動態（PBPK）モデルを用いて、MGA の薬物動態が検討された。その結果、ヒト生体中で MGA は速やかに主要代謝物である 2β-hydroxy-MGA（代謝物 E）へ変換されることが、ヒト肝細胞キメラマウスの体内動態実測値から推定された。マウス又はラットにおいては、代謝物 E への変換経路に加え、2β,15β- dihydroxy-MGA（代謝物 B）、6'-hydroxy-MGA（代謝物 C）及び 15β-hydroxy-MGA（代謝物 D）への変換も速やかであることから、ヒトにおける MGA の血漿中での主たる存在型は代謝物 E であるものの、ヒト血漿からの MGA の消失はマウス又はラットのそれらよりは緩徐であることが推定された。（参照 12）

（６）代謝試験（*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 で分離され、LC-MS 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）

（７）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、試験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、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、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）

（８）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、代謝物 A と同定された [4]。この代謝物は抱合体及び非抱合体で存在し、投与放射活性の約 2%を占めた。代謝物 C は検出されなかった。残る 12 種類の代謝物が、投与放射活性の約 11%に含まれていたが、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 及び 20-ketone 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。

糞便では、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。親水性代謝物抱合体の特徴付けはできなかった。（参照 3、5、11）

（９）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ことにより、MGA の代謝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 で分離し、HPLC、LC-MS 及び核磁気共鳴（NMR）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 種類及び痕跡程度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、代謝物 E、C、D 及び B であった。代謝物 A は痕跡程度しか生成しなかったため、その構造は決められなかった。

4 ［II. 1. (7)］及び［II. 1. (9)］の知見においては、同定されていない。

他の痕跡程度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 の主要代謝経路は代謝物 E への変換であり、主に CYP3A4 によるものであった。（参照 12、13）

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 が分離されたものの代謝物 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 が生成されたことと一致する。（参照 14）

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。

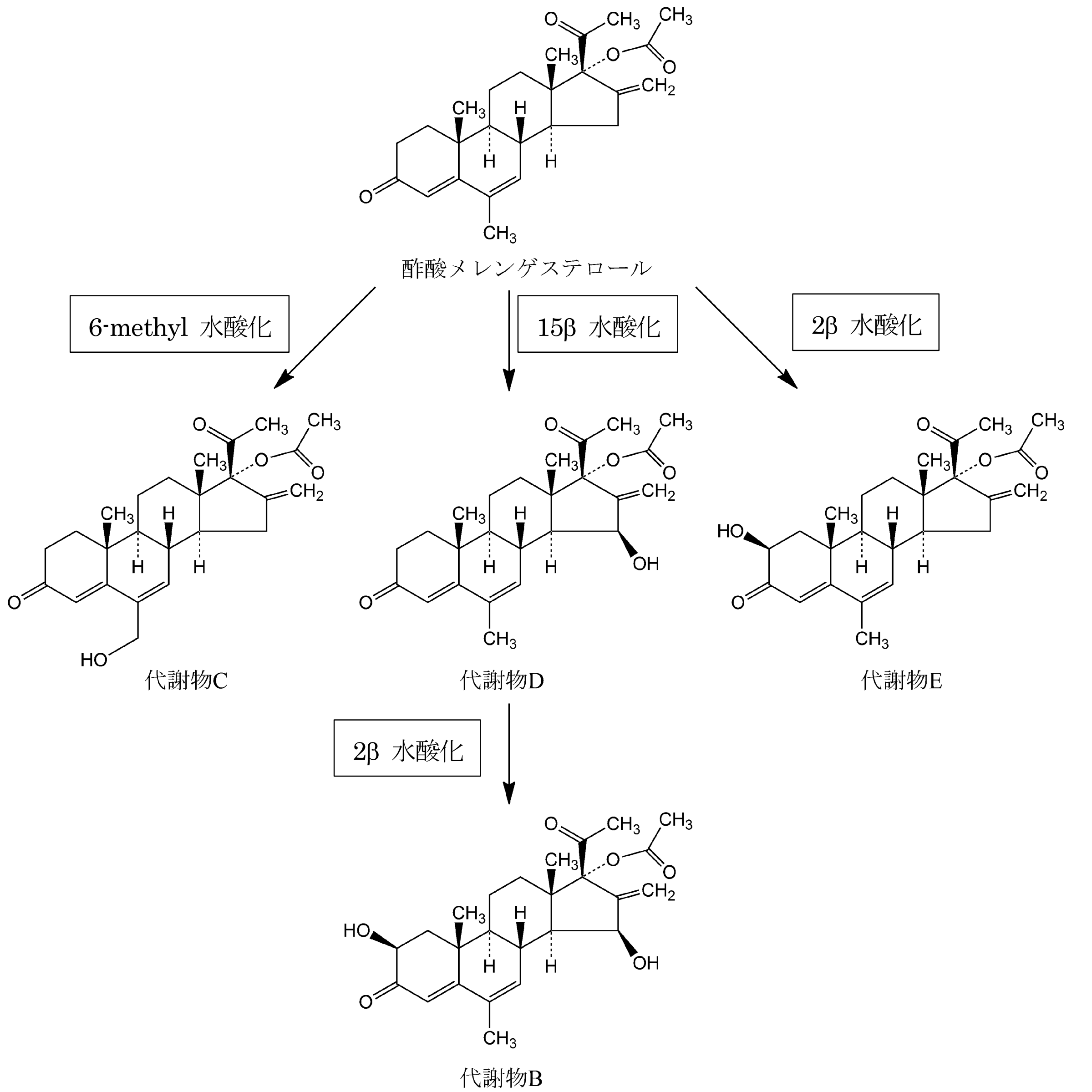


図 1　MGA の推定代謝経路

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 LOD を超える残留はみられなかった。(参照 5、8)

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）

試料	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

n=3　a：本試験の定量限界（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 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）

（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 及び 88 日目並びに投与終了 2、4、6、8 及び 10 日後に腎周囲脂肪が採取された。

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）

（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。その後 14 日間、投与された牛の 47 例は、MGA を同用量で投与され、残りの 32 例は、MGA を 0.25 mg/頭/日に減じた用量で投与された。0.4 mg/頭/日投与群については投与終了 0、1、2、4 及び 6 日後に、0.25 mg/頭/日投与群は投与終了 0、1 及び 2 日後に脂肪が採取された。

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）残留マーカーについて

JECFA は、2000 年の第 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 13）

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、15、16）

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（参照 3、5）
	S. typhimurium TA98、TA100、TA1535、TA1537、TA1538	250～2,000 µg/plate（±S9）	陰性（参照 3、5）
	Escherichia coli、*lacI* 遺伝子変異	400 µmol/mL	陰性（参照 6、15）
前進突然変異試験	V79 細胞（hprt 座位）	2.5～10 µg/mL（±S9）	陰性[c]（参照 3、5）
	V79 細胞（hprt 座位）	50～125 µmol/mL	陰性（参照 6、15）
小核試験	V79 細胞	20～100 µmol/mL	陰性（参照 6、15）
	ヒト MCL-5	0～40 µg/mL	陰性（参照 16）
DNA 損傷試験（アルカリ溶出法）	V79 細胞	0.03～1.0 mmol/L（±S9）	陰性[d]（参照 3、5）
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[e]（参照 3、5）

a：S9；げっ歯類肝 9,000×g 上清
b：代謝活性化系については不明。
c：1 回目の試験において S9 存在下の 5 µg/mL[5]で陽性であったが、2 回目の試験では有意な影響はなかった。
d：S9 存在下の 1.0 mmol/L で細胞毒性有。
e：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（参照 3）

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-pregna-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、食品安全委員会は、MGA は生体にとって問題となる遺伝毒性を示さないと判断した。JECFA は、MGA は遺伝毒性を示さないという 2000 年の評価を 2009 年に再確認している。

4．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

[5] 参照 3 には「5 g/mL」とあるが、「5 µg/mL」の誤りと思われる。

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）

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	メチルセルロース	＞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）

５．亜急性毒性試験

（１）10 日間亜急性毒性試験（マウス）＜参考資料[6]＞

MGA の発情抑制の最小有効量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。対照群がなく、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。

JECFA は、本試験において、無毒性量（NOAEL）等を設定していない。（参照 3、5）

（２）20 日間亜急性毒性試験（マウス）①＜参考資料[7]＞

性成熟したマウス（ICR 系及び C3Han/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、乳腺を顕微鏡で観察し、乳管の分岐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

[6] 対照群が設定されていないことから、参考資料とした。
[7] 試験の詳細が示されていないことから、参考資料とした。

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ことから、無作用量（NOEL）は設定できなかったとされた。（参照 3、5）

JECFA は、本試験において、NOAEL 等を設定していない。

（３）20 日間亜急性毒性試験（マウス）②<参考資料[8]>

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[9]（以下「MEA」という。）の存在下及び非存在下において、血清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。

MGA は、全ての投与群で血清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）

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）

表 8　20 日間亜急性毒性試験（マウス）②の被験物質摂取量

投与群		0 ppm	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	0.5	1.5	2.5	5	10	25

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 で誘導された血清プロラクチン濃度の上昇及び MEA によるプロラクチン濃度の上昇の阻害が確認された。（参照 3、5）

（４）20～21 日間亜急性毒性試験（マウス）<参考資料[10]>

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るため、性成熟マウス（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）］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 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。子宮重量は高用量のみで有意な増加を示したが、卵巣重量には影

[8] 特殊な週齢の動物を用いており、また、検索項目が不十分で、一部の観察結果も報告されていないことから、参考資料とした。
[9] プロラクチン阻害剤
[10] 組織学的な評価結果が報告されていないことから、参考資料とした。

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。
JECFA は、本試験において、2.5 mg/kg 体重/日以上投与群で体重の有意な増加がみられたこと及び 25 mg/kg 体重/日投与群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）

（５）30 日間亜急性毒性試験（マウス）

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%メチルセルロース］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。
3 mg/kg 体重/日投与群の体重が僅かに増加した。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。
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（グルココルチコイド）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）
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）
食品安全委員会は、本試験において、3 mg/kg 体重/日以上投与群の雌に黄体の欠如がみられたことから、NOAEL を 1 mg/kg 体重/日と設定した。

表 9　30 日間亜急性毒性試験（マウス）における毒性所見

投与量	雌雄
30 mg/kg 体重/日	・体重の低下 ・子宮及び卵巣重量の低下（雌）
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

（６）28 日間亜急性毒性試験（ラット）<参考資料[11]>

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並びに肝臓、腎臓、生殖器官、副腎、脾臓及び胸腺の重量及び肉眼所見が記録された。雌雄各 2 匹/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、飼料効率が上昇したが、1 mg/kg 体重/日投与群では有意でなかった。

[11] 幼若ラットを使用した試験であり、病理組織学的検査も不十分であることから、参考資料とした。

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 mg/kg 体重/日以上投与群で副腎重量が低下し、10 mg/kg 体重/日投与群で胸腺及び脾臓の重量並びに肝臓、腎臓及び精巣の絶対重量が低下した。副腎及び雌生殖器官の萎縮を除くと、3 mg/kg 体重/日以上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。副腎皮質の菲薄化がみられた。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、これらの効果は MGA のプロゲステロン及びコルチコステロイド（グルココルチコイド）活性に起因するものとしているが、MGA は全ての用量で毒性を示すことが示唆された。NOEL は得られなかったとしている。（参照 3、5）

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）

（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。毒性所見を表 11 に示した。

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。

体重及び摂餌量には、投与群と対照群の間に有意な差はみられなかった。

血液像及び尿分析には影響はみられなかった。

0.15 mg/kg 体重/日以上投与群の雌で ALT の上昇がみられたが、正常範囲であった。

病理組織学的変化としては、0.15 mg/kg 体重/日以上投与群の雌で乳腺過形成、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がみられ、0.015 mg/kg 体重/日投与群でも有意ではないが複数動物に観察された。著者らは、0.015 mg/kg 体重/日投与群においてホルモン影響が僅かにみられたが、NOEL を 0.015 mg/kg 体重/日としている。

JECFA は、本試験において、最小有効量を 0.015 mg/kg 体重/日と設定している。（参照 3）

食品安全委員会は、本試験において、0.15 mg/kg 体重/日投与群において出現率が有意に上昇した乳腺過形成、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、0.015 mg/kg 体重/日投与群においても低頻度ながら観察されていることから毒性影響と判断し、NOAEL を設定できず、LOAEL を 0.015 mg/kg 体重/日と設定した。

表 10　90 日間亜急性毒性試験（ラット）①の被験物質摂取量

投与群		0 ppb	280 ppb	2,800 ppb	5,400 ppb
被験物質摂取量（mg/kg 体重/日）	雌雄	0	0.015	0.15	0.3

表 11　90 日間亜急性毒性試験（ラット）①における毒性所見

投与量	雄	雌
0.3 mg/kg 体重/日	0.3 mg/kg 体重/日以下 毒性所見なし	・体重増加量及び摂餌量の軽度の低下（有意差なし） ・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 ・骨髄低形成
0.015 mg/kg 体重/日以上		・乳腺腫大 ・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（0.015 mg/kg 体重/日のみ有意差なし）

（８）90 日間亜急性毒性試験（ラット）②＜参考資料[12]＞

［II. 7. (1)］で MGA に子宮内ばく露された 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 RIA により調べられ、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。

血清及び尿の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ず、卵巣機能には投与による影響はみられなかった。

他に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）

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）

（９）22 日間亜急性毒性試験（ウサギ）＜参考資料[13]＞

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。毒性徴候、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検査が実施された。

最後の週に投与群の全ての動物が、下痢、削痩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

---

12 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。

13 筋肉内投与で実施されていることから、参考資料とした。

示される血小板機能の障害が認められた。

MGA により、Chol.及び Glu の上昇、AST、LDH 及び ALP の上昇並びに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生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（decreased granulation）[14]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。（参照 3、5）

JECFA は、本試験において、NOAEL 等を設定していない。

（１０）29 日間亜急性毒性試験（イヌ）<参考資料[15]>

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。

死亡例はなかった。

3 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 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。

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 mg/kg 体重/日以上投与群）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萎縮した細胞（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）

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）

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

[14] 本所見については、原著の表現をそのまま使用した。
[15] 1 群当たりの匹数が少ないことから、参考資料とした。

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 12 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（以下この項において「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. (4)］と同時に行われている。毒性所見を表 13 に示した。

1 及び 2 μg/kg 体重/日投与群の雌雄又は 8 μg/kg 体重/日投与群の雄では、投与による有害影響はみられなかった。

血清生化学及び尿検査が、投与期間中、8 回行われ、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を示さなかった。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、正常範囲内にとどまった。

剖検により、対照群と比較すると全ての投与群で、子宮頚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が対照群並びに 1 及び 2 μg/kg 体重/日投与群の雌各 1 例にみられた。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。

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 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、17)

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)

食品安全委員会は、本試験において、高用量（8/4 μg/kg 体重/日）投与群の雌に、血清 ALP の上昇、投与 2 年目に子宮蓄膿症、投与 18 か月後に WBC の上昇並びに RBC、Hb 及び Ht の低下がみられ、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ことから、雌動物に対する NOAEL を 2 μg/kg 体重/日と設定した。なお、雄動物に対する NOAEL 等は、匹数が少ないため設定できなかった。

表 12　2 年間慢性毒性試験（イヌ）の投与量、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※	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 13　2 年間慢性毒性試験（イヌ）における毒性所見

投与量	雄	雌
8（雄）、8/4　（雌）μg/kg 体重/日	8 μg/kg 体重/日以下 毒性所見なし	・発情抑制 ・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） ・ALP 上昇 ・子宮蓄膿症（投与 2 年目） ・子宮内膜の変化
2 μg/kg 体重/日以下		毒性所見なし

（２）24.5 か月間発がん性試験（マウス）

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、肉眼的及び顕微鏡的検査が実施された。

全ての測定時点において、17 mg/kg 体重/日投与群の雌雄の体重は対照群及び 0.017 mg/kg 体重/日投与群に比べ有意に高かった。

17 mg/kg 体重/日投与群の雌の生存率は 746 日目で 4.4%であり、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散見された（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、本試験条件下では 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）

JECFA は、本試験において、ICR マウスにおける MGA の発がん性に係る確固たる結論は得られなかったと判断している。（参照 3）

食品安全委員会は、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を確認したものの、本試験は 2 用量で実施され、それらの公比も大きいことから、NOAEL 等を設定することは不適切であると判断した。また、対照群を含む全ての群で乳腺がんが散見されたが、これらの観察結果は ICR マウスに対する MGA の発がん性を示唆するものではないと判断した。

（３）27 か月間発がん性試験（マウス）

5 種類の日齢から成る性成熟マウス［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[16]（被験物質摂取量は表 14 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 及び 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、若齢時から 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。

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試験で報告されている 25%より著しく低かった。最も高い腫瘍発生率が 10 mg/kg 体重/日投与群でみられ、次に 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。最も若い日齢群における発生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、投与によらず全群に観察された。対照群と比較して 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量を 5 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)

JECFA は、本試験において、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)

食品安全委員会は、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が、これは、MGA の直接的な影響ではなく、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とから、乳腺腫瘍に対する NOAEL を 1 mg/kg 体重/日と設定した。

表 14　27 か月間発がん性試験（マウス）の被験物質摂取量

投与群		0 ppm	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	0	0.5	1	1.5	2.5	5	10	15	25

（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、

[16] 参照 3 で参照している参照 5 の資料に基づき、単位を 「ppm」と記載した。

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 15 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 を 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。）した。各群の構成を表 16 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。

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、15 ppm[17]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 0.5 mg/kg 体重/日投与群の 30 か月に対し、25 mg/kg 体重/日の MGA 単独投与群では 21 か月、25 mg/kg 体重/日の MGA＋MEA 投与群では 25 か月であった。22 ppm[18]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及び嚢胞性子宮内膜腺の減少（それぞれ 24 及び 4 ppm 投与群で有意）[19]、嚢胞性子宮内膜過形成（1.5～2.5 mg/kg 体重/日投与群で有意）並びに子宮腺筋症の増加（全ての投与群で有意）が、25 mg/kg 体重/日投与群で急性子宮筋層炎の増加がみられた。MEA はこれらの影響を抑制することはできなかった。

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 投与の有無にかか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 投与の有無にかかわらず 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

[17] 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。
[18] 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。
[19] 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。

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。また、肝細胞腺腫の発生に対する最小有効量を5 mg/kg 体重/日と設定している。（参照3、5）

JECFAは、本試験において、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、肝細胞腺腫の最小有効量は5 mg/kg 体重/日であったとしている。（参照3）

食品安全委員会は、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た。また、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、乳腺腫瘍発生に対するNOAELを0.5 mg/kg 体重/日と設定した。5 mg/kg 体重/日以上投与群で肝細胞腺腫が増加した。C3Han/f系を用いた他の長期投与試験［II. 6. (3)及び(5)］では肝細胞腺腫はみられていない。しかし、肝細胞腺腫の発生を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15　29か月間発がん性試験（マウス）の被験物質摂取量

投与群		0 ppm	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	0.5	1.5	2.5	5	10	25

表16　29か月間発がん性試験（マウス）の群構成

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

（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。以前に行われた別の短期試験から、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。

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）

JECFA は、本試験において、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）

食品安全委員会は、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を確認したものの、本試験は 2 用量で実施され、それらの公比も大きいことから、NOAEL 等を設定することは不適切であると判断した。また、C3Han/f マウスにおいて、MGA の発がん性が示唆された。

（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、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 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、18、19）

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）

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 17 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。毒性所見を表 18 に示した。

毎日の一般状態の観察では、投与による有害影響はみられなかった。

交配前の体重増加には有意な影響はみられなかった。交配前に行った性周期検査では、0.06 mg/kg 体重/日以下投与群で 1 例を除き全例が発情周期に入った。妊娠母動物の数は、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 0 又は 1 例であった。

母動物の妊娠率は、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 例のみが分娩した。対照群及び 0.03 mg/kg 体重/日投与群の 10 例について交配 13 日後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、黄体数と生存胎児数の差は対照群で 0.88、0.03 mg/kg 体重/日投与群で 2.0 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。

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 動物の終了検査時の血液学的検査値（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。

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調化であった。

組織学的検査から、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影響を有するとしている。（参照 3、5）

JECFA は、本試験において、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）

食品安全委員会は、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並びに副腎、卵巣及び子宮重量の有意な低下がみられたことから、雌動物に対する NOAEL を 0.03 mg/kg 体重/日、雄動物では投与に関連した影響がみられなかったことから、雄動物に対する NOAEL を最高用量である 1 mg/kg 体重/日と設定した。また、児動物を得られた 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 を 0.03 mg/kg 体重/日と設定した。

表 17　1 世代繁殖毒性試験（ラット）の被験物質摂取量

投与群		0 ppb	500 ppb	1,000 ppb	2,000 ppb	4,000 ppb	8,000 ppb
被験物質摂取量 (mg/kg 体重/日)	雌 雄	0	0.03	0.06	0.13	0.25	1

表 18　1 世代繁殖毒性試験（ラット）における毒性所見

<table>
<tr><th rowspan="2">投与群</th><th colspan="2">親動物</th><th rowspan="2">児動物</th></tr>
<tr><th>雄</th><th>雌</th></tr>
<tr><td>1 mg/kg 体重/日</td><td rowspan="4">1 mg/kg 体重/日以下
毒性所見なし</td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>0.13 mg/kg 体重/日以上</td><td>・発情抑制
・血清プロゲステロン濃度低下
・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>・妊娠率低下
・血清プロラクチン濃度上昇
・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/日以下</td><td>毒性所見なし</td><td>毒性所見なし</td></tr>
</table>

／：設定されていない投与群

（２）１世代繁殖毒性試験（イヌ）①<参考資料[20]>

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 19 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

[20] 対照群が設定されていないことから、参考資料とした。

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。

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性周期間隔が長くなった。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）

JECFA は、本試験において、NOAEL 等を設定していない。

表 19　1 世代繁殖毒性試験（イヌ）①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	1	5	10	20	40	80

（３）1 世代繁殖毒性試験（イヌ）②＜参考資料 [21]＞

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妊娠全期間中、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。

被験物質を妊娠全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。動物は全て正常に分娩し、出生児及び死産児の数は 2 投与群で同じであった。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；妊娠全期間中投与群の平均が雄 342 g、雌 325 g）。

妊娠全期間中に 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）

JECFA は、本試験において、NOAEL 等を設定していない。

（４）1 世代繁殖毒性試験（イヌ）③

イヌ（ビーグル種、年齢不明）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、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。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（以下この項において「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 20 に示した。交尾、

[21] 投与群が 1 用量しか設定されていないことから、参考資料とした。

受胎、妊娠、分娩等の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)］と同時に行われている。毒性所見を表 21 に示した。

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。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。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、児の雄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影響は認められず、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）

JECFA は、本試験において、MGA は雄の繁殖能に影響を示さないとしている。また、雌の繁殖能に対する NOEL を 2 μg/kg 体重/日と設定している。（参照 3）

食品安全委員会は、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 を 2 μg/kg 体重/日と設定した。児動物には投与に関連する影響がみられなかったことから、児動物に対する NOAEL を 4 μg/kg 体重/日と設定した。なお、雄動物に対する NOAEL は、匹数が少ないため設定できなかった。

表 20　1 世代繁殖毒性試験（イヌ）③の投与量、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※	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 21　1 世代繁殖毒性試験（イヌ）における毒性所見

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

（5）1 世代繁殖毒性試験（牛）①＜参考資料[22]＞

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

[22] 投与群が 1 用量しか設定されていないことから、参考資料とした。

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)

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、受胎率及び妊娠率の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体重（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んだ 46 例には、試験終了時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)

JECFA は、これらの試験に NOAEL 等を設定していない。

（6）1 世代繁殖毒性試験（牛）②＜参考資料[23]＞

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）し、雄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。対照群の雄と交配した雌の受胎率は初回が 77%、2 回目が 43%であり、投与群の雄と交配した雌ではそれぞれ 74%と 86%であった。対照群の雄と交配した雌では交配 43 日後の妊娠率は 85%で、投与群の雄と交配した場合は 91%であった[24]。

MGA が投与された雄の精液量、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 日後の剖検時、投与群の雄 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、雄の受胎能に明らかな有害影響はないことが示されている。(参照 3、5)

JECFA は、本試験において、NOAEL 等を設定していない。

（7）生殖毒性試験（ウサギ）＜参考資料[25]＞

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

[23] 投与群が 1 用量しか設定されていないことから、参考資料とした。
[24] 参照 4 の資料に基づいた値を記載した。
[25] 投与群が 1 用量しか設定されていないことから、参考資料とした。

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/群を表 22 に示した。妊娠/授乳期及び幼若期試験では、生後 25 週齢で児動物が検査された。

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、これは偶発的な所見であり、射出精液量、射出精液中の精子濃度若しくは精子運動性又は一日精子産生に変化はみられなかった。（参照 6）

JECFA は、本試験において、NOAEL 等を設定していない。

表 22　生殖毒性試験（ウサギ）の各投与期間における雄の検査匹数

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：母動物数は不明。

（８）発生毒性試験（ラット）①＜参考資料[26]＞

ラット（SD 系、雌 10 匹）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）

JECFA は、本試験において、NOAEL 等を設定していない。

（９）発生毒性試験（ラット）②＜参考資料[27]＞

ラット（TUC/SPD 系、10 匹/群）に MGA の持続性徐放製剤を皮下投与［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。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。

母動物の一般症状、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。

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

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。

以上から、25 mg/kg 体重以上投与群で、投与量の増加により発生毒性が増強されたと考えられた。(参照 3、5)

JECFA は、本試験において、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)

(１０)発生毒性試験(ウサギ)①

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 23 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。毒性所見を表 24 に示した。

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た。母動物に関する他の指標には影響はみられなかった。

胚死亡率は、3.2 mg/kg 体重/日以上投与群で 100%に達した。

口蓋裂、弯曲足、臍ヘルニア及び不完全骨化等の異常を有する胎児が、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(グルココルチコイド)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(グルココルチコイド)活性に起因すると考えられる。著者らは発生毒性に対する NOEL を 0.4 mg/kg 体重/日と設定している。(参照 3、5)

JECFA は、本試験において、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)

食品安全委員会は、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、0.8 mg/kg 体重/日以上投与群に生存胎児数、平均同腹児及び胎児の重量の低下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 を 0.4 mg/kg 体重/日と設定した。

表 23　発生毒性試験(ウサギ)①の被験物質摂取量

投与群	0 ppm	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	0.016	0.064	0.16	0.4	0.8	1.6	3.2	6.4

表 24　発生毒性試験（ウサギ）①における毒性所見

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） ・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 毒性所見なし	・吸収胚数、浸軟及び死亡胎児数の増加 ・生存胎児数、平均同腹児体重及び胎児体重の低下 ・口蓋裂、弯曲足、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/日以下		毒性所見なし

（１１）発生毒性試験（ウサギ）②＜参考資料[28]＞

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筋肉内投与[29]（0、25 又は 50 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、母動物は妊娠 28 日に剖検された。

各群では、それぞれ 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、対照群では 1 腹当たり平均 4 例の生存胎児及び 1 例の吸収胚がみられた。（参照 3、5）

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 日に剖検された。

5 及び 15 mg/kg 体重投与群では、妊娠 28 日にそれぞれ 14 及び 12 例が妊娠していた。15 mg/kg 体重投与群では、12 腹のうち 1 腹で 1 例の胎児だけが生存していたが通常より小さい胎児であり、平均吸収胚数/腹及び浸軟胎児数/腹は、それぞれ、2.5 例及び 1.8 例であった。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、14 腹のうち 2 腹で 5 例の胎児が生存していたが通常より小さい胎児であり、平均吸収胚数/腹並びに浸軟及び死亡胎児数/腹は、それぞれ、1.2 例及び 2.6 例であった。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、胎児の 34/36 例に口蓋裂[30]、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 体重で胚致死性を、5 mg/kg 体重で胎児毒性を示し、胚毒性及び

[28] 徐放製剤を用いて筋肉内投与で実施されていることから、参考資料とした。
[29] 参照 5 の資料に基づき、筋肉内投与と記載した。
[30] 参照 5 の資料の値を記載した。

発生毒性は、MGA のコルチコステロイド（グルココルチコイド）活性に関与するものであると考えられた。母動物の一般状態は報告されなかった。（参照 3、5）

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）

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 日ごとに測定された。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 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、対照群及び 1.5 μg/kg 体重/日投与群の 88%と比較して、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）

JECFA は、本試験において、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）

食品安全委員会は、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 を 1.5 μg/kg 体重/日と設定した。なお、本試験の公比が大きいことに留意する必要があると考えた。

（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。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例以外全例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が、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）

JECFAは、本試験において、NOAEL等を設定していない。

食品安全委員会は、本試験において、MGA は排卵に対しては影響を及ぼさないものの、全群においてコルチゾール濃度の増加がみられたため、NOAEL等を設定できなかった。

（３）3月経周期投与試験（サル）

成獣カニクイザル（5～11歳齢、雌8頭/群）にMGAを3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。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については、投与開始後の第1周期では2日ごとに、第2周期以降は3日ごとに測定された。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動物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。第1周期の延長に用量相関性はみられたが、5 μg/kg 体重/日投与群では統計学的有意差はなかった。

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作用と一致していた。（参照3、5）

JECFAは、本試験において、5 μg/kg 体重/日でみられたホルモン影響は、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、5 μg/kg 体

重/日が最小有効量であり、ホルモン作用に対する NOEL に近いとみなしている。（参照3）

食品安全委員会は、本試験において、10 μg/kg 体重/日以上投与群で月経周期の変化がみられており、5 μg/kg 体重/日投与群においても同様のホルモン影響が僅かにみられたことから、LOAEL を 5 μg/kg 体重/日と設定した。

（４）投与試験（牛）①

① 16 日間投与試験＜参考資料[31]＞

未経産牛（品種不明、推定体重 400 kg、4～5 頭/群）に MGA を発情後 15 日目から 16 日間、混餌投与［0.0625、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、全例で排卵がみられたが、発情の抑制が 2/5 例でみられた。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/日以上投与群では、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。（参照 3、20）

② 111 日間投与試験＜参考資料[32]＞

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/日投与群以上では、黄体を有する動物数の割合は 6 %以下となり、卵胞液重量の有意な増加がみられた。（参照 3、21）

③ 投与試験＜参考資料[33]＞

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、22）

（５）投与試験（牛）②＜参考資料[34]＞

未経産牛（品種及び頭数不明）に MGA を 2.5～11.3 か月齢の期間、混餌投与（1.8

---

31 対照群が設定されていないことから、参考資料とした。
32 複数の品種を用いた試験であることから、参考資料とした。
33 投与群が 1 用量しか設定されていないことから、参考資料とした。
34 投与群が 1 用量しか設定されていないことから、参考資料とした。

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。投与群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（グルココルチコイド）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 は、牛を用いた投与試験［II. 8. (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（グルココルチコイド）作用に対する NOEL を設定できなかったとしている。（参照 3）

（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 25 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 26 に示した。最終検査時に、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。
毎日の検査では、投与による有害影響はみられなかった。
2 週間ごとの平均体重は 25 mg/kg 体重/日投与群で MEA の有無にかかわらず増加し、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。
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 の有無にかか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）
JECFA は、本試験において、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）
食品安全委員会は、本試験において、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 を 5 mg/kg 体重/日と設定した。

表 25　乳腺増殖性病変の修飾作用に関する特殊試験（マウス）の被験物質摂取量

投与群		0 ppm	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	0.5	1.5	2.5	5	10	25

表 26　乳腺増殖性病変の修飾作用に関する特殊試験（マウス）の群構成

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

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[35]において、抗炎症作用を示し、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、MGA を高用量投与した際には、コルチゾール及びメチルプレドニゾロンといったグルココルチコイドを高用量投与した際と同程度の抗炎症及び免疫抑制作用がみられた。

MGA の免疫毒性に係る試験の概要を表 27 にまとめた。（参照 3、4、6、23）

雌カニクイザルに、プロゲステロン作用の最小有効量である 5 μg/kg 体重/日を上回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ことから、MGA はプロゲステロン作用の最小有効量では抗炎症及び免疫抑制作用は示さないと考えられる。

表 27　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、イヌでは同種腎移植の生存の延長なし。

[35] 参照 4 の資料に基づき記載した。

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影響を示さなかったが、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、*Mannheimia haemolytica*（牛に呼吸器疾患を引き起こす細菌）を接種。接種 138 時間後に剖検し、肺病変の重篤性を調べた。対照群と比較して、投与群では炎症反応が増大し、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。

（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

牛及び *in vitro* 試験系において生成される MGA 代謝物は微量であるため、*in vivo* での牛又は実験動物モデルを用いた有効性又は毒性に関する試験を実施するには不十分であった。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 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 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 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 13）

② MGA のホルモン活性

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 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 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 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 PR は牛 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、24）

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 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 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）

c. **アンドロゲン活性**

組換えヒト 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、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及び 17β-トレンボロンは、組換えヒト 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）

③ エストロゲン受容体等への作用

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/頭/日）し、肝臓並びに頚部及び肩の筋肉における AR、PR、ERα、ERβ並びに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/頭/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/頭/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 受容体並びに頚部筋肉の 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、IGF-1 を介して行われ、*in vivo* 牛の AR 及び ERαに対する遺伝子の発現に関しては弱い活性を有する可能性があることが示唆された。（参照 6）

１０．ヒトにおける知見

ヒトにおける知見の概要を表 28 に示した。（参照 3、4）

表 28　ヒトにおける知見の概要

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。 副腎の反応の抑制に関する 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/ヒト/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/ヒト/日、月経周期 21 日目から 20 日間	経口	7.5 mg/ヒト/日以上の投与で月経開始の遅延。 5 mg/ヒト/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（MA）及び酢酸メドロキシプロゲステロン（MPA）が避妊、子宮内膜症並びに乳房、子宮内膜、卵巣及び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/ヒト/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/ヒト/日の範囲である。一方で、MA は 0.35～0.5 mg/ヒト/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 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。この情報及び MPA の薬理学的活性を示す最低用量（2.5～10 mg/ヒト/日）の情報から、MGA の避妊作用のある用量は、概ね 0.5 mg/ヒト/日（体重 60 kg のヒトで 8 μg/kg 体重/日）に相当することが示唆された。（参照 6）

１１．その他の知見

JECFA の評価（2009 年）以降に公表されている MGA に関する科学的知見を検索したが、本評価書に記載したものを除き、MGA のリスク評価に資する科学的知見は得られなかった。

III. 国際機関等における評価

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、欧州委員会（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、食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を定量的に推定するには不十分であるとされた。（参照 25）

（２）JECFA の評価（2000 年）の概要

JECFA は、2000 年に MGA の評価を行い、MGA の残留について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。カニクイザルを用いた 3 月経周期投与試験において雌の月経周期に及ぼした MGA の最小有効量である 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 NOEL に基づいていないために用いられた。（参照 3）

（３）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、結論は変わらなかった。（参照 26、27）

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。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、いま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とされた。結論は以下のとおり。

① 2002 年以降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、ここでの影響とは、特定の受容体との相互作用のみを介するものではない。

② *in vitro* の系において、ゼラノール、トレンボロン及び MGA のエストロゲン、アンドロゲン及びプロゲステロン受容体への親和性並びに遺伝子発現調節についての作用は、細胞増殖及びアポトーシスについての作用と同様に、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、食肉中残留に伴うばく露レベルでの知見は不足している。

③　成長促進ホルモン（検討した 5 種類全て）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でき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できる。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できるのみであり、より広範囲に適用できる方法が待たれている。
④　調査から得られるデータがないため、成長促進ホルモンの残留によるばく露量を定量することはできない。とりわけ、牛におけるトレンボロン、ゼラノール及び MGA の代謝に関するデータ、及び肉牛生産において実際の使用条件下での成長促進ホルモンを使用した場合の、組織中の残留量及びその性質のデータは、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 28）

（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 から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。このため、JECFA は、2009 年に MGA の再評価を行った。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を含む新たな資料が EC から提出された。

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（及びばく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、直接的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　動物用医薬品の適正使用（good practice of use of the veterinary drugs）による潜在的なばく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。検討結果は、以下のとおり。

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 MGA は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に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である。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何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何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る ADI 上限値での MGA 及び代謝物のばく露量は、薬理学的に活性を示すような摂取量の 1/200～1/300 倍であり、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 上限値のばく露よりも 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。1 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、子ども、胎児又は胚に対し何らかの有害影響を示すとは考えにくい。（参照 5、29）

２．FDA の評価

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）[36]。（参照 30）

３．豪州政府の評価

豪州政府は、2000 年に MGA の ADI を設定している。

サルの経口投与による慢性毒性試験の 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 31）

[36] カッコ内は該当セクションを指す。

Ⅳ. 食品健康影響評価

ウサギ、牛及びヒトにおける薬物動態試験の結果、投与後168時間における尿中排泄率から、MGAの吸収率は少なくとも15%と算出された。MGAは、血漿中よりも各組織に移行し、特に肝臓及び脂肪に高濃度に分布した。また、MGAは胎盤通過性を有した。脂肪中では未変化のMGAが多かった。MGAは主に胆汁を介して糞中排泄された。吸収されたMGAは水酸化され、モノ又はジ水酸化代謝物となり、その後抱合化されて排泄された。

牛を用いた残留試験の結果から、126日間MGAを0.5 mg/頭/日の用量で混餌投与した牛の最終投与2日後の組織中のMGA濃度は全てLOQ（25 ng/g）未満であった。

各種遺伝毒性試験により、MGAは生体にとって問題となる遺伝毒性を示さないと考えられたことから、MGAのADIを設定することは可能であると判断された。

in vitro での各種ヒトホルモン受容体（PR、GR、AR及びER）を用いたホルモン活性の試験から、MGAは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られた。また、MGAのプロゲステロン活性は、プロゲステロンより強いことが示された。

各種毒性試験の結果から、MGAの投与による影響は、血清プロラクチンの上昇、乳腺発達、黄体の欠如及び子宮内膜過形成等であった。C3Han/fマウスを用いた発がん性試験において、1.5 mg/kg体重/日投与群で乳腺腫瘍が誘発されたが、これはMGAの直接的な影響ではなく、MGAにより分泌が促進されたプロラクチンの影響であることがプロラクチン阻害剤を用いた試験で明らかにされた。生殖発生毒性試験では、雌に発情抑制、排卵抑制及び分娩障害等がみられた。ウサギを用いた発生毒性試験では、0.8及び1.6 mg/kg体重/日投与群で口蓋裂、弯曲足、臍ヘルニア及び不完全骨化等の形態異常が認められたが、これはMGAのコルチコステロイド（グルココルチコイド）活性によるものと考えられた。

イヌを用いた2年間慢性毒性試験と同時に行われた1世代繁殖毒性試験において、発情抑制及び分娩障害に基づく母動物に対するNOAELは2 μg/kg体重/日と考えられた。また、アカゲザルを用いた1月経周期投与試験において、排卵抑制に基づくNOAELは1.5 μg/kg体重/日と考えられた。更に、カニクイザルを用いた3月経周期投与試験において、高用量投与群でみられたホルモン影響である月経周期の変化が5 μg/kg体重/日投与群でも僅かにみられていることから、LOAELは5 μg/kg体重/日と考えられた。

エンドポイントを判断するに当たっては、非ヒト霊長類におけるMGAのホルモン作用を最も鋭敏な指標とすることが適当と判断した。

アカゲザルを用いた1月経周期投与試験において、NOAELが得られた用量とその一つ上の用量との公比が10と大きいことを考慮すると、実際のNOAELは1.5 μg/kg体重/日より大きいと考えられた。カニクイザルを用いた3月経周期投与試験において得られたLOAELは、生化学的指標に変動がみられ、また、月経周期の変化が僅かにみられたものの、機能的な異常には至っていないことから、NOAELに近いと考えられた。したがって、食品安全委員会は、カニクイザルを用いた3月経周期投与試験のLOAELをADIの設定根拠とし、NOAELに近いLOAELであることから、安全係数として2を追加することが適当と判断した。

これらのことから、MGA の ADI の設定に当たっては、この LOAEL 5 μg/kg 体重/日に安全係数として 200 を適用し、0.025 μg/kg 体重/日と設定することが適当であると考えられた。

以上から、MGA の食品健康影響評価については、ADI として次の値を採用することが適当であると考えられる。

MGA　0.025 μg/kg 体重/日

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 29　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（最小有効量） 発情抑制
	20 日間亜急性毒性試験①	0、0.25、0.5、2.5、5、10、15、20、25、40（混餌投与）	設定できず C3Han/f マウスで対照群の乳腺発達の程度が高い
	20 日間亜急性毒性試験②	0、0.5、1.5、2.5、5、10、25（混餌投与） ＋MEA	設定できず 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 体重増加
	30 日間亜急性毒性試験	0、1、3、10、30 （強制経口投与）	1 黄体の欠如
	24.5 か月間発がん性試験	0、0.017、17 （混餌投与）	－ 乳腺がんの僅かで有意ではない増加
	27 か月間発がん性試験	0、0.5、1、1.5、2.5、5、10、15、25（混餌投与）	1 乳腺腫瘍増加
	29 か月間発がん性試験	0、0.5、1.5、2.5、5、10、25（混餌投与） ＋MEA 100 μg/匹/日（皮下投与）	0.5 乳腺腫瘍発生
	33 か月間発がん性試験	0、0.017、17 （混餌投与）	－ 乳腺がんの増加
ラット	28 日間亜急性毒性試験	0、1、3、10 （強制経口投与）	設定できず 副腎、子宮及び卵巣の重量低下
	90 日間亜急性毒性試験①	0、0.015、0.15、0.3 （混餌投与）	0.015（最小有効量） 病理組織学的変化（乳腺腫大）
	90 日間亜急性毒性試験②	0、0.055 （混餌投与）	設定できず 副腎、卵巣及び精巣の重量低下
	1 世代繁殖毒性試験	0、0.03、0.06、0.13、0.25、1（混餌投与）	0.03 生殖毒性
	発生毒性試験①	2（皮下投与）	設定されず
	発生毒性試験②	0、15、25、50、100 （皮下投与）	設定されず 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
ウサギ	22 日間亜急性毒性試験	20（筋肉内投与）	設定できず Chol.、Glu、LDH 及び ALP 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
	発生毒性試験①	0、0.016、0.064、0.16、0.4、0.8、1.6、3.2、6.4 （混餌投与）	児動物：0.4 発生毒性（生存胎児数、平均同腹児及び胎児重量の低下）

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②	0、25、50（筋肉内投与） 0、5、15（筋肉内投与）	設定できず 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
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 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に脂肪染色陰性の淡明な細胞質を有する細胞
	2 年間慢性毒性試験	0、0.001、0.002、0.008/0.004（経口投与）	0.001 ホルモン影響
	1 世代繁殖試験①	0.001、0.005、0.01、0.02、0.04、0.08（経口投与）	設定できず NOAEL を求めるには不十分な試験
	1 世代繁殖試験②	0.1/匹 （経口投与）	設定できず 児の体重増加
	1 世代繁殖試験③	0、0.001、0.002、0.008/0.004（経口投与）	0.002 雌の繁殖能（発情抑制、分娩障害）
サル	1 月経周期投与試験①	0、0.0015、0.015、0.075、0.15（経口投与）	0.0015 排卵抑制
	1 月経周期投与試験②	0、0.0025、0.005、0.01 （経口投与）	設定できず LH の AUC の低下
	3 月経周期投与試験	0、0.005、0.01、0.025 （経口投与）	0.005（最小有効量） 月経周期の変化
牛	16 日間投与試験	0.00016 、 0.00031 、0.00063、0.0013、0.0025、0.005、0.01、0.02（混餌投与）	設定できず 発情抑制
	投与試験②	0、0.0018 （混餌投与）	設定できず ホルモン濃度変化
	1 世代繁殖毒性試験①	0、0.002 （混餌投与）	－ 異常はみられなかった
	1 世代繁殖毒性試験②	0、1 mg/頭 （混餌投与）	－ 異常はみられなかった
毒性学的 ADI			0～0.03 μg/kg 体重/日 最小有効量：5 μg/kg 体重/日 SF：200
毒性学的 ADI 設定根拠資料			サル 3 月経周期投与試験
ADI			0～0.03 μg/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
A	2α-hydroxy-MGA (17-acetoxy-2α-hydroxy-6-methyl-16-methylenepregna-4,6-diene-3,20-dione)
B	2β,15β-dihydroxy-MGA (17-acetoxy-2β,15β-dihydroxy-6-methyl-16-methylenepregna-4,6-dien-3,20-dione)
C	6'-hydroxy-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)

＜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 ［=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 ［=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
CONTAM パネル	The Panel on Contaminants in the Food Chain：EFSA の「フードチェーンにおける汚染物質に関する科学パネル」
CYP	チトクローム P450
EC	欧州委員会
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ィー
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	Good Laboratory Practice；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-UV	紫外吸光検出器付き高速液体クロマトグラフィー
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

NMR	核磁気共鳴
NOAEL	無毒性量
NOEL	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
SCVPH	The Scientific Committee on Veterinary Measures relating to Public Health
$T_{1/2}$	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
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
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
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
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.
8. JECFA: Residues of some veterinary drugs in animals and foods. FAO Food and Nutrition Paper 41/13, 2000
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
10. 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.
11. Cooper JM, Elce JS, Kellie AE: The metabolism of melengestrol acetate. The Biochemical Journal. 1967 Sep; 104(3): 57-58.
12. Tsukada A, Suemizu H, Murayama N, Takano R, Shimizu M, Nakamura M, Yamazaki H: Plasma concentrations of melengestrol acetate in humans extrapolated from the pharmacokinetics established in *in vivo* experiments with rats and chimeric mice with humanized liver and physiologically based pharmacokinetic modeling. Regulatory Toxicology and Pharmacology. 2013; 65: 316-24.
13. 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
14. JECFA: Residues of some veterinary drugs in animals and foods. FAO Food and Nutrition Paper 41/16, 2004
15. Metzler M, Pfeiffer E: Genotoxic potential of xenobiotic growth promoters and their metabolites. APMIS. 2001 Feb;109(2):89-95.

16. 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.
17. 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
18. 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
19. 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
20. 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
21. 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
22. Piedkalns J: Effect of melengestrol acetate on the bovine ovary. Zeitschrift fur Zellforschung und mikroskopische Anatomie, 1971; 122 (1): 85-110
23. 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.
24. Bauer ERS, Daxenberger A, Petri T, Sauerwein H, Meyer HHD: Characterisation of the affinity of different anabolics and synthetic hormones to the human androgen receptor, human sex hormone binding globulin and to the bovine progestin receptor. APMIS. 2000; 108: 838-46.
25. 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
26. 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
27. 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
28. 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
29. JECFA: Evaluation of certain veterinary drug residues in food. Seventieth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA). WHO Technical Report Series, No. 954, 2008
30. FDA (US Food and Drug Administration): 21CFR (Code of Federal Regulations title 21) 21CFR556.380 Revised as of April 1, 2015.
31. Australian Government Department of Health: ADI LIST. Acceptable Daily Intakes for Agricultural and Veterinary Chemicals. Current as of 31 December 2014.