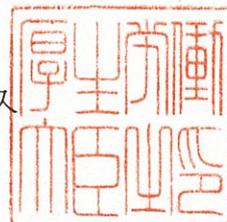


厚生労働省発生食 1204 第 2 号
平成 27 年 12 月 4 日

薬事・食品衛生審議会
会長 橋田 充 殿

厚生労働大臣 塩崎 恭久



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

次に掲げる農薬等の食品中の残留基準設定について

動物用医薬品イプロニダゾール
農薬チアメトキサム
動物用医薬品ツラスロマイシン
農薬ピコキシストロビン
農薬フェンメディファム

平成 28 年 1 月 26 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 27 年 12 月 4 日付け厚生労働省発生食 1204 第 2 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 項の規定に基づくイプロニダゾールに係る食品規格（食品中の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。

イプロニダゾール

今般の残留基準の検討については、食品中に「不検出」とする農薬等の成分である物質として新たに定めることについて、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、以下の報告を取りまとめるものである。

1. 概要

(1) 品目名：イプロニダゾール [Ipronidazole]

(2) 用途：寄生虫駆除剤/抗原虫剤

5-ニトロイミダゾール類に属する寄生虫駆除剤・抗原虫剤である。本剤及び類縁化合物のジメトリダゾール、ロニダゾール及びメトロニダゾールは類似の構造を有し、いくつかの共通した性質を示す。5-ニトロ基が作用に必須であり、その還元により種々の組織高分子に共有結合するN-ヒドロキシルアミン誘導体が生成され、抗菌作用及び抗原虫作用を示すと報告されている。

海外では、七面鳥のヒストモナス症及び豚赤痢の予防及び治療に用いられ、混餌投与又は飲水投与で使用される。

EU及び米国では、かつてイプロニダゾールを含有する動物用医薬品が承認されていたが、現在は承認されていない。

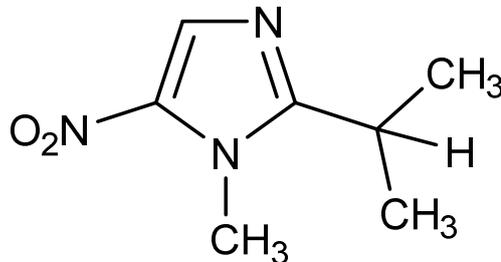
日本では、ヒト用及び動物用医薬品の承認はない。

(3) 化学名

2-isopropyl-1-methyl-5-nitro-1*H*-imidazole (IUPAC)

1-methyl-2-(1-methylethyl)-5-nitro-1*H*-imidazole (CAS)

(4) 構造式及び物性



分子式 C₇H₁₁N₃O₂

分子量 169.18

2. ADIの評価

食品安全基本法（平成15年法律第48号）第24条第1項第1号の規定に基づき、食品安全委員会あて意見を求めたイプロニダゾールに係る食品健康影響評価において、以下のとおり評価されている。

（1）JECFAにおける評価

JECFAは、1989年にイプロニダゾールを評価している。

イプロニダゾールは、細菌を用いた試験で変異原性を示したが、哺乳動物の試験では試験条件が不十分であり、遺伝毒性を適切に評価できなかった。また、ラットを用いた109週間慢性毒性/発がん性併合試験の結果から、イプロニダゾール高用量投与群の雌では乳腺腫瘍が形成されると結論された。しかし、この試験に用いられた系統のラットでは腫瘍発生率が一般的に高く、対照群において腫瘍発生率が高かったため明確なNOELの決定はできなかった。このため、イプロニダゾールのADIを設定することはできないと判断している。

他にも懸念事項として、代謝試験において、イプロニダゾールは5-ニトロイミダゾールを特徴付ける代謝経路、特に、酸化が2-アルキル基で起こり、還元が5-ニトロ基で起こる可能性、分子の切断によりイミダゾール環が断片化し、生体内成分への取り込みがある程度進むことが考えられたが、一方で結合残留物が形成される可能性があり、JECFAは、この可能性を安全性評価の際に考慮しなければならないとしている。

（2）食品健康影響評価について

イプロニダゾールについては、遺伝毒性を示す可能性を否定することができず、発がん性が示唆されたことから、ADIを設定すべきでない判断した。

3. 諸外国における状況

JECFAにおいて1989年に評価されているが、ADI及びMRLは設定出来ないと結論付けている。

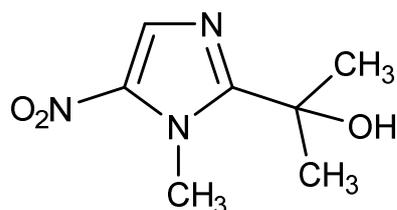
米国、カナダ、EU、豪州及びニュージーランドについて調査した結果、いずれの国及び地域においても基準値が設定されていない。

4. 基準値案

食品中に「不検出」とする農薬等の成分である物質として新たに定めることとし、イプロニダゾールは食品に含有されるものであってはならないものとする。

規制対象物質はイプロニダゾール及び代謝物Bとする。残留試験の結果から、親化合物が検出下限となった以降にも、代謝物Bが検出されていることから、規制対象に代謝物Bを含めることにした。

なお、JECFAにおける残留試験結果は以下のとおりである。



1-メチル-2-(2'-ヒドロキシイソプロピル)-5-ニトロイミダゾール(代謝物B)

(1) 豚における残留試験

① 豚(品種及び性別不明、5週齢、3頭/時点)にイプロニダゾールを6週間混餌投与(混餌濃度0.02%)し、最終投与0、3、4、5、6及び7日後の筋肉、脂肪、肝臓及び腎臓中のイプロニダゾール及び代謝物Bの濃度をGC(検出限界:50 ng/g)により測定した。

イプロニダゾールはいずれの組織からも検出されなかった。代謝物Bの平均組織中濃度は、最終投与0日後の筋肉及び脂肪中でそれぞれ327 ng/g及び検出限界未満(47 ng/g)であり、最終投与3日後以降はいずれの組織のいずれの測定時点においても検出されなかった。

② 豚(品種及び性別不明、5週齢、3頭/時点)にイプロニダゾールを6週間混餌投与(混餌濃度0.01%)し、最終投与0、2、3、4、5及び6日後の筋肉、皮膚/脂肪、肝臓及び腎臓中のイプロニダゾール及び代謝物Bの濃度をGC(検出限界:2 ng/g)により測定した。

イプロニダゾールの平均組織中濃度は、最終投与0日後の筋肉及び皮膚/脂肪中でそれぞれ検出限界以下(0.5及び1.6 ng/g)であり、最終投与2日後以降はいずれの組織のいずれの測定時点においても検出されなかった。

代謝物Bの平均組織中濃度は、最終投与0日後の筋肉及び皮膚/脂肪中でそれぞれ167.5及び77 ng/gであったが、最終投与2日後以降はいずれの組織のいずれの測定時点においても検出されなかった。

③ 豚(品種及び性別不明、7週齢、3頭/時点)にイプロニダゾールを14週間混餌投与(混餌濃度0.01%)し、最終投与0~5日後の大腿筋、腰筋、皮下脂肪、内部脂肪、肝臓及び腎臓中のイプロニダゾール及び代謝物Bの濃度がGC(検出限界:2 ng/g)により測定された。

最終投与0日後では、イプロニダゾールの平均組織中濃度は、腰筋及び内部脂肪中でそれぞれ2.8及び3.4 ng/g、大腿筋及び皮下脂肪で検出限界以下(それぞれ1.4及び1.9 ng/g)であり、代謝物Bの平均組織中濃度は、大腿筋、腰筋、皮下脂肪及び内部脂肪中でそれぞれ29.8、43.2、15.5及び7.1 ng/gであった。最終投与1日後以降はいずれの組織のいずれの測定時点においてもイプロニダゾール及び代謝物Bともに検出されなかった。

④ 豚(品種及び性別不明、平均体重77.6 kg、3頭/時点)にイプロニダゾールを7日間飲水投与[44 mg/kg体重(混餌投与時用量(混餌濃度0.01%)の7~15倍の用量に相当)]

し、最終投与0～7日後の各組織中のイプロニダゾール及び代謝物Bの濃度がGC（検出限界：2 ng/g）により測定された。

結果を表1に示した。イプロニダゾール及び代謝物Bの濃度は、それぞれ最終投与5日後及び3日後で、いずれの組織においても検出限界以下となった。

表1. 豚におけるイプロニダゾール7日間飲水投与後のイプロニダゾール及び代謝物Bの組織中濃度 (ng/g)

試料	最終投与後日数										
	イプロニダゾール						代謝物B				
	0	1	2	3	4	5	0	1	2	3	4
大腿筋	448.1	98.9	9.3	ND	7.5	ND	4,913.3	72.0	4.4	ND	ND
腰筋	433.4	69.0	5.6	ND	ND	ND	3,296.0	196.0	11.4	ND	ND
皮膚/脂肪	545.9	20.3	10.3	2.4	2.4	ND	934.4	64.6	19.1	ND	ND
内部脂肪	843.5	55.1	32.0	3.6	ND	2.0	2,064.0	74.4	5.6	ND	ND
肝臓	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
腎臓	5.4	ND	ND	ND	ND	ND	2.1	ND	ND	ND	ND

ND : 検出されず(検出限界:2 ng/g)

(2) 七面鳥における残留試験

① 七面鳥(9週齢、性別不明、10羽/時点)にイプロニダゾールを12週間混餌投与(混餌濃度0.00625%)し、最終投与0～6日後の各組織中のイプロニダゾール及び代謝物Bの濃度をGC-ECD(検出限界：2 ng/g)により測定した。

イプロニダゾールは12週間混餌投与後の組織中からは検出されなかった。組織中の代謝物B濃度を表2に示した。代謝物Bは最終投与4日後以降の組織では検出されなかった。

表2. 七面鳥におけるイプロニダゾール12週間混餌投与後の代謝物Bの組織中濃度 (ng/g)

試料	最終投与後日数				
	0	1	2	3	4
筋肉	64.2	21.5	ND	ND	ND
皮膚/脂肪	90	8.5	3.6	2.0	ND
肝臓	ND	ND	ND	ND	ND
腎臓	ND	ND	ND	ND	ND

ND : 検出されず(検出限界:2 ng/g)

② 七面鳥(24週齢、雄5羽/時点)にイプロニダゾールを7日間飲水投与(飲水濃度0.0125%)し、最終投与0～9日後の各組織中のイプロニダゾール及び代謝物Bの濃度をGC(検出限界：2 ng/g)により測定した。

結果を表3に示した。イプロニダゾールの残留は休薬期間1日を超えた時点で、代謝物

Bの残留は最終投与4日後を超えた時点では認められなかった。

表3. 七面鳥におけるイプロニダゾール7日間飲水投与後のイプロニダゾール及び代謝物Bの

組織中濃度 (ng/g)

試料	最終投与後日数						
	イプロニダゾール		代謝物B				
	0	1	0	1	2	3	4
筋肉	ND	ND	24.5	8.0	ND	ND	ND
皮膚/脂肪	52.0	ND	35.5	22.1	5.5	4.2	ND
肝臓	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
腎臓	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

ND : 検出されず(検出限界:2 ng/g)

③ 七面鳥(24週齢、雄5羽/時点)にイプロニダゾールを7日間混餌投与(混餌濃度0.025%)し、最終投与0~9日後の各組織中のイプロニダゾール及び代謝物Bの濃度をGC(検出限界:2 ng/g)により測定した。

結果を表4に示した。イプロニダゾールは最終投与1日後、代謝物Bは最終投与2日後以降の組織で検出されなかった。

表4. 七面鳥におけるイプロニダゾール7日間混餌投与後のイプロニダゾール及び代謝物Bの

組織中濃度 (ng/g)

試料	最終投与後日数					
	イプロニダゾール		代謝物B			
	0	1	0	1	2	
筋肉	ND	ND	106.8	17.7	ND	
皮膚/脂肪	115.0	ND	66.2	19.9	ND	
肝臓	ND	ND	ND	ND	ND	
腎臓	ND	ND	ND	ND	ND	

ND : 検出されず(検出限界:2 ng/g)

④ 七面鳥[18週齢、雌雄計54羽(5羽/時点)]にイプロニダゾールを4週間混餌投与(混餌濃度0.0625%)した後、引き続き標準用量の10倍の濃度で2日間混餌投与(混餌濃度0.0625%)して、最終投与0~6日後の各組織中のイプロニダゾール及び代謝物Bの濃度をGC(検出限界:2 ng/g)により測定した。

結果を表5に示した。イプロニダゾールは最終1日後、代謝物Bは休薬2日後の組織で検出されなかった。イプロニダゾールの残留は最終投与後1日を超えた時点で、代謝物Bの残留は最終投与3日後を超えた時点では認められなかった。

表5. 七面鳥におけるイプロニダゾール7日間混餌投与後のイプロニダゾール及び代謝物Bの組織中濃度 (ng/g)

試料	最終投与後日数					
	イプロニダゾール		代謝物B			
	0	1	0	1	2	3
筋肉	10.2	ND	1,185.5	113.0	ND	ND
皮膚/脂肪	8.2	ND	957.3	152.4	2.2	ND
肝臓	ND	ND	ND	ND	ND	ND
腎臓	ND	ND	ND	ND	ND	ND

ND : 検出されず(検出限界:2 ng/g)

⑤ 七面鳥 [18週齢、雌雄計50羽(5羽/時点)] にイプロニダゾールを7週間混餌投与(混餌濃度0.00625%)し、7週間の投与期間の最後の7日間は飲水投与(飲水濃度0.0125%)を併用して、最終投与0～7日後の各組織中のイプロニダゾール及び代謝物Bの濃度をGC(検出限界:2 ng/g)により測定した。

結果を表6に示した。イプロニダゾールの残留は最終投与1日後を超えた時点で、代謝物Bの残留は最終投与2日後を超えた時点では認められなかった。

表6. 七面鳥におけるイプロニダゾール7日間混餌投与後のイプロニダゾール及び代謝物Bの組織中濃度 (ng/g)

試料	最終投与後日数				
	イプロニダゾール		代謝物B		
	0	1	0	1	2
筋肉	ND	ND	141.5	ND	ND
皮膚/脂肪	96.9	ND	172.4	3.3	ND
肝臓	ND	ND	ND	ND	ND
腎臓	ND	ND	ND	ND	ND

ND : 検出されず(検出限界:2 ng/g)

(参考)

これまでの経緯

- 平成27年 1月 8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27年10月27日 食品安全委員会委員長から厚生労働大臣あてに食品健康影響評価について通知
- 平成27年12月 4日 薬事・食品衛生審議会へ諮問
- 平成27年12月15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]

- | | |
|--------|-----------------------------|
| 石井 里枝 | 埼玉県衛生研究所水・食品担当部長 |
| ○大野 泰雄 | 公益財団法人木原記念横浜生命科学振興財団理事長 |
| 尾崎 博 | 東京大学大学院農学生命科学研究科獣医薬理学教室教授 |
| 斉藤 貢一 | 星薬科大学薬品分析化学教室教授 |
| 佐々木 一昭 | 東京農工大学大学院農学研究院動物生命科学部門准教授 |
| 佐藤 清 | 一般財団法人残留農薬研究所技術顧問 |
| 佐野 元彦 | 東京海洋大学海洋生物資源学部門教授 |
| 永山 敏廣 | 明治薬科大学薬学部薬学教育研究センター基礎薬学部門教授 |
| 根本 了 | 国立医薬品食品衛生研究所食品部第一室長 |
| 二村 睦子 | 日本生活協同組合連合会組織推進本部組合員活動部部長 |
| 宮井 俊一 | 一般社団法人日本植物防疫協会技術顧問 |
| 由田 克士 | 大阪市立大学大学院生活科学研究科公衆栄養学教授 |
| 吉成 浩一 | 静岡県立大学薬学部衛生分子毒性学分野教授 |
| 鰐淵 英機 | 大阪市立大学大学院医学研究科分子病理学教授 |

(○：部会長)

答申

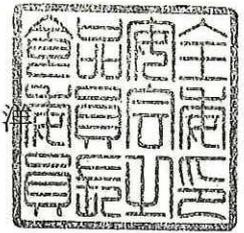
イプロニダゾールについては、食品に含有されるものであってはならないとする食品規格を設定することが妥当である。



府食第830号
平成27年10月27日

厚生労働大臣
塩崎 恭久 殿

食品安全委員会
委員長 佐藤



食品健康影響評価の結果の通知について

平成27年1月8日付け厚生労働省発食安0108第10号をもって厚生労働大臣から食品安全委員会に意見を求められたイプロニダゾール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

イプロニダゾールについて遺伝毒性を示す可能性を否定することができず、発がん性が示唆されたことから、一日摂取許容量を設定すべきでない。

動物用医薬品評価書

イプロニダゾール

2015年10月

食品安全委員会

目次

	頁
○審議の経緯	3
○食品安全委員会委員名簿	3
○食品安全委員会動物用医薬品専門調査会専門委員名簿	3
○要約	4
I. 評価対象動物用医薬品の概要	5
1. 用途	5
2. 有効成分の一般名	5
3. 化学名	5
4. 分子式	5
5. 分子量	5
6. 構造式	5
7. 使用目的及び使用状況	5
II. 安全性に係る知見の概要	7
1. 薬物動態試験	7
(1) 薬物動態試験 (ラット)	7
(2) 薬物動態試験 (豚)	8
(3) 薬物動態試験 (七面鳥)	8
(4) 代謝試験 (イヌ) <参考資料>	9
(5) 代謝試験 (<i>in vitro</i>)	9
2. 残留試験	10
(1) 残留試験 (豚)	10
(2) 残留試験 (七面鳥)	11
3. 遺伝毒性試験	13
4. 急性毒性試験	14
5. 亜急性毒性試験	14
(1) 13 週間亜急性毒性試験 (ラット) ①<参考資料>	14
(2) 13 週間亜急性毒性試験 (ラット) ②<参考資料>	15
(3) 13 週間亜急性毒性試験 (イヌ) <参考資料>	15
6. 慢性毒性及び発がん性試験	15
(1) 104 週間慢性毒性試験 (イヌ)	15
(2) 109 週間慢性毒性/発がん性併合試験 (ラット)	16
(3) 89 又は 100 週間発がん性試験 (マウス)	17
7. 生殖発生毒性試験	18
(1) 3 世代繁殖試験 (ラット)	18
(2) 発生毒性試験 (ラット)	19

(3) 発生毒性試験（ウサギ）	19
III. 国際機関等における評価	20
1. JECFA における評価	20
IV. 食品健康影響評価	21
・表 14 JECFA における各種試験の無毒性量等の比較	22
・別紙 1：代謝物/分解物略称	23
・別紙 2：検査値等略称	23
・参照	23

<審議の経緯>

- 2005年 11月 29日 一律基準告示（参照1）
2015年 1月 13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0108第10号）、関係資料の接受
2015年 1月 20日 第545回食品安全委員会（要請事項説明）
2015年 7月 17日 第181回動物用医薬品専門調査会
2015年 8月 25日 第574回食品安全委員会（報告）
2015年 8月 26日から9月24日まで 国民からの意見・情報の募集
2015年 10月 21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
2015年 10月 27日 第582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>

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

<食品安全委員会動物用医薬品専門調査会専門委員名簿>

(2015年9月30日まで)		
山手 丈至 (座長)	須永 藤子	山崎 浩史
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
青山 博昭	能美 健彦	渡邊 敏明
石川 さと子	舞田 正志	
石川 整	松尾 三郎	
川治 聡子	宮田 昌明	

(2015年10月1日から)		
青山 博昭 (座長)	須永 藤子	山崎 浩史
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	

要 約

寄生虫駆除剤である「イプロニダゾール」(CAS No.14885-29-1) 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 (ラット、豚、七面鳥及びイヌ)、残留 (豚及び七面鳥)、遺伝毒性、急性毒性 (マウス、ラット及びウサギ)、亜急性毒性 (ラット及びイヌ)、慢性毒性及び発がん性 (マウス、ラット及びイヌ)、生殖発生毒性 (ラット及びウサギ) 等の試験成績である。

イプロニダゾールは、*in vitro* の細菌を用いた復帰突然変異試験及び Fluctuation test で陽性であった。また、*ex vivo* (宿主経路試験) の復帰突然変異試験で陽性であった。一方、哺乳動物を用いた試験では、試験条件が不適切で遺伝毒性を評価できなかったとする報告があった。以上のことから、イプロニダゾールが生体にとって問題となる遺伝毒性を示す可能性については否定できないと判断した。

マウスを用いた 89 又は 100 週間発がん性試験及びラットを用いた 109 週間慢性毒性/発がん性併合試験が実施されている。マウスを用いた試験では、1,000 ppm 投与群で肺腫瘍の有意な増加が、ラットを用いた試験では、2,000 ppm 投与群の雌で乳腺腫瘍の発生率の上昇がみられたことから、発がん性が示唆された。また、腫瘍発生への遺伝毒性の可能性を否定できなかった。

以上のことから、イプロニダゾールについては、遺伝毒性を示す可能性を否定することができず、発がん性が示唆されたことから、ADI を設定すべきでないと判断した。

I. 評価対象動物用医薬品の概要

1. 用途

寄生虫駆除剤

2. 有効成分の一般名

和名：イプロニダゾール

英名：Ipronidazole

3. 化学名

IUPAC

英名：2-isopropyl-1-methyl-5-nitro-1*H*imidazole

CAS (No. 14885-29-1)

英名：1-methyl-2-(1-methylethyl)-5-nitro-1*H*imidazole

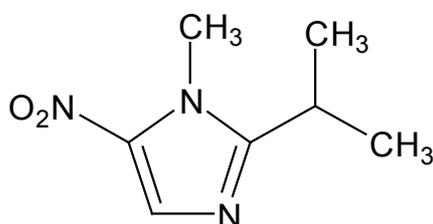
4. 分子式

$C_7H_{11}N_3O_2$

5. 分子量

169.18

6. 構造式



(参照 2)

7. 使用目的及び使用状況

イプロニダゾールは、5-ニトロイミダゾール類に属する寄生虫駆除剤・抗原虫剤である。本剤及び類縁化合物のジメトリダゾール、ロニダゾール及びメトロニダゾールは類似の構造を有し、いくつかの共通した性質を示す。5-ニトロ基が作用に必須であり、その還元により種々の組織高分子に共有結合する *N*-ヒドロキシルアミン誘導体が生成され、抗菌作用及び抗原虫作用を示すと報告されている。(参照 3)

JECFA の評価書によれば、海外では、七面鳥のヒストモナス症及び豚赤痢の予防及び治療に使用される。(参照 3~5) 予防及び治療には、それぞれ約 0.00625%及び 0.025%の混餌濃度で用いられる。また、すでに混餌投与 (0.00625%) 中の七面鳥には、治療のために飲水投与 (0.0125%) が可能であるとされている。豚赤痢の予防には連続混餌投与 (混餌濃度：100 g/トン) が、治療には 7 日間の飲水投与 (飲水濃度：200~800 mg/ガロン) が有効であるとされている。(参照 5)

EU 及び米国では、かつてイプロニダゾールを含有する動物用医薬品が承認されていたが、現在は承認されていない。(参照 6、7)

日本では、ヒト用及び動物用医薬品の承認はない。

今回、厚生労働大臣から食品衛生法（昭和 22 年法律第 23 号）第 11 条第 1 項の規定に基づき、食品中の残留基準を設定することについて、食品健康影響評価が要請されている。

II. 安全性に係る知見の概要

本評価書では、JECFA の評価書等を基に、イプロニダゾールの毒性に関する主な知見を整理した。(参照 2~5)

検査値等略称を別紙 1 及び 2 に示した。

1. 薬物動態試験

(1) 薬物動態試験 (ラット)

① 経口投与

胆管カニューレを装着したラット (系統不明、雌 5 匹) にイミダゾール環の 2 位の炭素を ^{14}C で標識したイプロニダゾール (以下「[ring- ^{214}C]標識イプロニダゾール」という。) を 4 日間連続経口投与 (22.5 mg/kg 体重/日)¹ し、薬物動態試験が実施された。

投与した総放射活性の 31% が糞中 (消化管内容物含む) に排泄され、胆汁中には 34%、尿中には 27% が排泄された。カーカス²、肝臓及び腸からは総放射活性の 1.4% が回収された。放射活性の総回収率は 92% であった。(参照 3、4) 糞中放射活性の 71% が水溶性であった。核磁気共鳴、赤外分光法、質量分析法等の分析法により、糞中の水溶性代謝物の約 34% は、2,3-ジヒドロ-2-(2'-ヒドロキシイソプロピル)-3-メチル-4-ニトロ-1*H*-イミダゾール-5-オール (以下「代謝物 A」という。) と同定された。カニューレを装着したラットへの総投与量の約 15% がこの水溶性代謝物として単離された。(参照 5)

上記の試験において、[ring- ^{214}C]標識イプロニダゾールの 4 日間連続経口投与後の尿、糞、胆汁並びにカーカス、肝臓及び腸の放射活性が、それぞれ 27%、31%、34% 及び 1.4% であったことから、イプロニダゾールの経口吸収率は、少なくとも 60% 以上と推定された。

② 腹腔内投与

ラット (系統、性別及び匹数不明) を用い独立して実施された 2 試験において、[ring- ^{214}C]標識イプロニダゾールの単回腹腔内投与 (20.5 mg/kg 体重) 後の尿、糞及び呼気中から、それぞれ投与放射活性の約 30%、58% 及び 3% が検出された。グルスラーゼ³処理前及び処理後ともに、尿及び糞中からベンゼン抽出された投与放射活性は、それぞれ僅かに 0.5% 及び 1.0% であった。尿並びに糞中の水及びベンゼン抽出物のペーパークロマトグラフィー及び TLC では、イプロニダゾール及び 1-メチル-2-(2'-ヒドロキシイソプロピル)-5-ニトロイミダゾール (HIP、以下「代謝物 B」という。) のどちらも認められなかった。クロマトグラムの上に残った放射活性は、極性成分を示すものであり、 $^{14}\text{CO}_2$ の産生はイミダゾール環の開環を示すものと結論された。(参照 5)

¹ 参照 5 の資料では、20 mg/kg 体重/日と記載されている。

² 臓器を取り除いた残渣 (以下同じ)

³ 6-グルクロニダーゼ/スルファターゼ (加水分解酵素、以下同じ)

(2) 薬物動態試験 (豚)

豚 (4 週齢、体重 7 kg、雄 1 頭) に[ring-2¹⁴C]標識イプロニダゾールを単回経口投与 (43.11 mg カプセル/頭、混餌濃度 0.0126%相当) し、薬物動態試験が実施された。

投与後 5 日間で、投与放射活性の 97.9%が尿、糞及び組織中に回収された。

投与 5 日後の各組織における各抽出画分中の総残留濃度を表 1 に示した。(参照 3、5) 各組織中残留物の約 31~71%は水溶性であった。消化管内容物の放射活性は、総回収放射活性の 53.3%を占めるが、ベンゼン抽出されず、消化管内容物にはイプロニダゾール及び代謝物 B は存在しないことが示された。また、約 29~68%が組織中残留物として留まった。抽出不可能な残留物は、共有結合 (結合残留) 又はイプロニダゾール由来断片の生体内成分への取り込みを含むと考えられた。この試験では、代謝物は同定されなかった。(参照 5)

表 1 [ring-2¹⁴C]標識イプロニダゾール投与 5 日後の豚組織における各抽出画分中の総残留濃度

組織	総残留濃度 (ng eq/g)			
	ベンゼン可溶画分	水溶性画分	不溶性画分	合計
肝臓	0.10	136.95	55.62	192.7
腎臓	ND	129.44	60.04	189.5
筋肉	0.486	12.66	27.97	41.1
脂肪	2.95	7.70	9.95	20.6
皮膚	2.09	13.81	20.36	36.3
血液	0.07	47.55	4.39	52.01

ND : 検出されず (ベンゼン可溶画分 (腎臓) の検出限界 : 0.132 ng eq/g)

上記試験の豚より採取した肝臓を凍結乾燥し、ラット (系統、性別不明、4 匹) に経口投与 (肝臓中総残留濃度 : イプロニダゾールとして 0.62 µg eq/g) した。

豚由来肝臓組織を投与したラットの排泄物及び組織中の放射活性回収率を表 2 に示した。(参照 5)

(3) 薬物動態試験 (七面鳥)

1 日齢から生後 14 週までイプロニダゾールを混餌投与 (混餌濃度 0.00625%) して前処理した七面鳥 (14 週齢、2 羽) に[ring-2¹⁴C]標識イプロニダゾールを単回経口投与 (20 mg カプセル/匹、混餌濃度 0.00625%相当) し、薬物動態試験が実施された。

投与 5 日後の組織中の平均総放射活性濃度は、肝臓 285.40、腎臓 257.72、胸筋 64.85、脚及び翼筋 71.21、脂肪 24.81 及び皮膚/脂肪 92.18 ng eq/g であった。(参照 3、5)

各組織から 2 種類の関連化合物が同定されたが、未変化のイプロニダゾール及び代謝物 B であった。代謝物 B の構造は、赤外分光法、核磁気共鳴、紫外線分光法及び質量分析法から推定され、合成された標準物質との比較により確認された。

未変化のイプロニダゾール及び代謝物 B が排泄量の約 40%を占めた。その他の代謝物は高親水性であり、酵素による加水分解前及び加水分解後ともに有機溶媒中に抽出されなかった。(参照 3、5)

上記試験の七面鳥から採取した肝臓又は筋肉を凍結乾燥後にペレット化し、ラット（系統、性別及び匹数不明）に経口投与（肝臓及び筋肉中総残留濃度：イプロニダゾールとしてそれぞれ 0.96 及び 0.22 µg eq/g）した。七面鳥組織の投与前 24 時間、投与（24 時間）中及び投与後 24 時間の尿、胆汁及び糞を採取し、投与 24 時間後のカーカス、肝臓、消化管及び消化管内容物を採取して総放射活性を測定した。

七面鳥由来肝臓又は筋肉組織を投与したラットの排泄物及び組織中の放射活性回収率を表 2 に示した。（参照 3、5）

表 2 豚又は七面鳥の[ring-2¹⁴C]標識イプロニダゾール残留組織の経口投与後におけるラットの排泄物及び組織中の投与放射活性回収率（%）

投与組織 ^a		ラットの排泄物及び組織								
		糞	消化管内容物	合計 ^b	胆汁	カーカス	消化管組織	肝臓	尿	合計 ^c
豚	肝臓	45.61	0.09	45.70	1.72	—	0.13	0.52	42.54	44.91
七面鳥	肝臓	56	0.36	56.36	2.77	3.11	0.25	0.42	42.8	49.35
	筋肉	23.3	0.38	23.68	5.96	8.23	0.51	0.73	52.35	67.78

a: 投与組織中総残留濃度：豚/肝臓 0.62 µg eq/g、七面鳥/肝臓 0.96 µg eq/g、七面鳥/筋肉 0.22 µg eq/g、

b: 非吸収放射活性の合計、c: 吸収放射活性の合計、—: 記載なし

(4) 代謝試験（イヌ）＜参考資料 4＞

イヌ（ビーグル種、雌、匹数不明）にイミダゾール環の 2 位の炭素を ¹⁴C で標識したイプロニダゾールの異性体⁵を経口投与（50 mg/kg 体重）し、代謝試験が実施された。総投与放射活性の 50%が尿中に排泄された。

少量の未変化体とともに、ニトロ基を含む 3 種類の主要代謝物が単離された。そのうちの 1 種類は、イプロニダゾールの主要代謝物である代謝物 B の異性体と同定された。他の 2 種類の極性代謝物もイソプロピル鎖の酸化により第一級炭素原子がジオール及びカルボン酸に変換され生成された。（参照 3）

(5) 代謝試験（*in vitro*）

[ring-2¹⁴C]標識イプロニダゾール及び豚肝臓ミクロソーム調製物を好気性又は嫌気性条件下でインキュベートし、代謝物が検討された。グルスラーゼ処理前及び処理後に、ベンゼン可溶性代謝物をペーパークロマトグラフィーで分離し、ラジオクロマトグラムスキャンにより同定して、試料の酸化及び LSC により定量した。

好気性条件下では、ベンゼン抽出物から代謝物 B のみが検出され、遊離型 31.2%、結合同型 3.8%であった。

フラビンアデニンジヌクレオチド（ニトロ還元エンハンサー）を含む嫌気性条件下では、グルスラーゼ処理前及び処理後のいずれの場合においても、ベンゼン抽出物からは

⁴ イプロニダゾールを用いた試験ではないことから参考資料とした。

⁵ 2 位のイソプロピル基と 5 位のニトロ基を入れ替えたイプロニダゾールの異性体（5-イソプロピル-1-メチル-2-ニトロ-1*H*イミダゾール）

イプロニダゾール及び代謝物 A は検出されなかった。(参照 5)

2. 残留試験

(1) 残留試験 (豚)

① 混餌投与

豚 (品種及び性別不明、5 週齢、3 頭/時点) にイプロニダゾールを 6 週間混餌投与 (混餌濃度 0.02%) し、休薬期間 (0、3、4、5、6 及び 7 日) 後の各組織 (肝臓、腎臓、筋肉及び脂肪) 中のイプロニダゾール及び代謝物 B の濃度が GC (検出限界 : 50 ng/g) により測定された。

イプロニダゾールはいずれの組織からも検出されなかった。代謝物 B の平均組織中濃度は、休薬 0 日後の筋肉及び脂肪中でそれぞれ 327 ng/g 及び検出限界未満 (47 ng/g) であり、休薬後はいずれの組織のいずれの測定時点においても検出されなかった。(参照 5)

豚 (品種及び性別不明、5 週齢、3 頭/時点) にイプロニダゾールを 6 週間混餌投与 (混餌濃度 0.01%) し、休薬期間 (0、2、3、4、5 及び 6 日) 後の各組織 (肝臓、腎臓、筋肉及び皮膚/脂肪) 中のイプロニダゾール及び代謝物 B の濃度が GC (検出限界 : 2 ng/g) により測定された。

イプロニダゾールの平均組織中濃度は、休薬 0 日後の筋肉及び皮膚/脂肪中でそれぞれ検出限界以下 (0.5 及び 1.6 ng/g) であり、休薬後はいずれの組織のいずれの測定時点においても検出されなかった。

代謝物 B の平均組織中濃度は、休薬 0 日後の筋肉及び皮膚/脂肪中でそれぞれ 167.5 及び 77 ng/g であったが、休薬後はいずれの組織のいずれの測定時点においても検出されなかった。(参照 5)

豚 (品種及び性別不明、7 週齢、3 頭/時点) にイプロニダゾールを 14 週間混餌投与 (混餌濃度 0.01%) し、休薬期間 (0~5 日) 後の各組織 (肝臓、腎臓、大腿筋、腰筋、皮下脂肪及び内部脂肪) 中のイプロニダゾール及び代謝物 B の濃度が GC (検出限界 : 2 ng/g) により測定された。

休薬期間 0 日では、イプロニダゾールの平均組織中濃度は、腰筋及び内部脂肪中でそれぞれ 2.8 及び 3.4 ng/g、大腿筋及び皮下脂肪で検出限界以下 (それぞれ 1.4 及び 1.9 ng/g) であり、代謝物 B の平均組織中濃度は、大腿筋、腰筋、皮下脂肪及び内部脂肪中でそれぞれ 29.8、43.2、15.5 及び 7.1 ng/g であった。休薬後はいずれの組織のいずれの測定時点においてもイプロニダゾール及び代謝物 B とともに検出されなかった。(参照 5)

② 飲水投与

豚 (品種及び性別不明、平均体重 77.6 kg、3 頭/時点) にイプロニダゾールを 7 日間飲水投与 [44 mg/kg 体重 (混餌投与時用量 (混餌濃度 0.01%) の 7~15 倍の用量に相当)] し、休薬期間 (0~7 日) 後の各組織 (肝臓、腎臓、大腿筋、腰筋、皮膚/脂肪及び内部脂肪) 中のイプロニダゾール及び代謝物 B の濃度が GC (検出限界 : 2 ng/g) によ

り測定された。

結果を表 3 に示した。イプロニダゾール及び代謝物 B の濃度は、それぞれ休薬 5 日後及び 3 日後で、いずれの組織においても検出限界以下となった。(参照 5)

表 3 豚におけるイプロニダゾール 7 日間飲水投与 (44 mg/kg 体重) 後のイプロニダゾール及び代謝物 B の組織中濃度 (ng/g)

試料	休薬期間 (日)											
	イプロニダゾール						代謝物 B					
	0	1	2	3	4	5	0	1	2	3	4	
肝臓	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
腎臓	5.4	ND	ND	ND	ND	ND	2.1	ND	ND	ND	ND	ND
大腿筋	448.1	98.9	9.3	ND	7.5	ND	4,913.3	72.0	4.4	ND	ND	ND
腰筋	433.4	69.0	5.6	ND	ND	ND	3,296.0	196.0	11.4	ND	ND	ND
皮膚/脂肪	545.9	20.3	10.3	2.4	2.4	ND	934.4	64.6	19.1	ND	ND	ND
内部脂肪	843.5	55.1	32.0	3.6	ND	2.0	2,064.0	74.4	5.6	ND	ND	ND

ND : 検出されず (検出限界 : 2 ng/g)

(2) 残留試験 (七面鳥)

① 混餌投与

七面鳥 (9 週齢、性別不明、10 羽/時点) にイプロニダゾールを 12 週間混餌投与 (混餌濃度 0.00625%) し、休薬期間 (0、1、2、3、4、5 及び 6 日) 後の各組織中のイプロニダゾール及びヒドロキシ代謝物 (代謝物 B) の濃度が GC-ECD (検出限界 : 2 ng/g) により測定された。

イプロニダゾールは 12 週間混餌投与後の組織中からは検出されなかった。組織中の代謝物 B 濃度を表 4 に示した。代謝物 B は休薬 4 日後以降の組織では検出されなかった。(参照 5)

表 4 七面鳥におけるイプロニダゾール 12 週間混餌投与 (0.00625%) 後の代謝物 B の組織中濃度 (ng/g)

組織	休薬期間 (日)				
	0	1	2	3	4
肝臓	ND	ND	ND	ND	ND
腎臓	ND	ND	ND	ND	ND
筋肉	64.2	21.5	ND	ND	ND
皮膚/脂肪	90	8.5	3.6	2.0	ND

ND : 検出されず (検出限界 : 2 ng/g)

七面鳥 (24 週齢、雄 5 羽/時点) にイプロニダゾールを 7 日間混餌投与 (混餌濃度 0.025%) し、休薬期間 (0~9 日) 後の各組織中のイプロニダゾール及び代謝物 B の濃度が GC (検出限界 : 2 ng/g) により測定された。

結果を表 5 に示した。イプロニダゾールは休薬 1 日後、代謝物 B は休薬 2 日後の組織で検出されなかった。(参照 5)

表 5 七面鳥におけるイプロニダゾール混餌投与（0.025%、7日間）後の
イプロニダゾール及び代謝物 B の組織中濃度（ng/g）

組織	休薬期間（日）				
	イプロニダゾール		代謝物 B		
	0	1	0	1	2
肝臓	ND	ND	ND	ND	ND
腎臓	ND	ND	ND	ND	ND
筋肉	ND	ND	106.8	17.7	ND
皮膚/脂肪	115.0	ND	66.2	19.9	ND

ND：検出されず（検出限界：2 ng/g）

七面鳥 [18 週齢、雌雄計 54 羽（5 羽/時点）] にイプロニダゾールを 4 週間混餌投与（混餌濃度 0.00625%）した後、引き続き標準用量の 10 倍の濃度で 2 日間混餌投与（混餌濃度 0.0625%）して、休薬期間（0～6 日）後の各組織中のイプロニダゾール及び代謝物 B の濃度が GC（検出限界：2 ng/g）により測定された。

結果を表 6 に示した。イプロニダゾールの残留は休薬期間 1 日を超えた時点で、代謝物 B の残留は休薬期間 3 日を超えた時点では認められなかった。（参照 5）

表 6 七面鳥におけるイプロニダゾール混餌投与（0.00625%を 4 週間及び 0.0625%及び 2 日間）後のイプロニダゾール及び代謝物 B の組織中濃度（ng/g）

組織	休薬期間（日）					
	イプロニダゾール		代謝物 B			
	0	1	0	1	2	3
肝臓	ND	ND	ND	ND	ND	ND
腎臓	ND	ND	ND	ND	ND	ND
筋肉	10.2	ND	1,185.5	113.0	ND	ND
皮膚/脂肪	8.2	ND	957.3	152.4	2.2	ND

ND：検出されず（検出限界：2 ng/g）

② 飲水投与

七面鳥（24 週齢、雄 5 羽/時点）にイプロニダゾールを 7 日間飲水投与（飲水濃度 0.0125%）し、休薬期間（0～9 日）後の各組織中のイプロニダゾール及び代謝物 B の濃度が GC（検出限界：2 ng/g）により測定された。

結果を表 7 に示した。イプロニダゾールの残留は休薬期間 1 日を超えた時点で、代謝物 B の残留は休薬期間 4 日を超えた時点では認められなかった。（参照 5）

表 7 七面鳥におけるイプロニダゾール 7 日間飲水投与 (0.0125%) 後の
イプロニダゾール及び代謝物 B の組織中濃度 (ng/g)

組織	休薬期間 (日)						
	イプロニダゾール		代謝物 B				
	0	1	0	1	2	3	4
肝臓	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
腎臓	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
筋肉	0.9	ND	24.5	8.0	0.6	0.4	ND
皮膚/脂肪	52.0	0.8	35.5	22.1	5.5	4.2	0.4

ND : 検出されず (検出限界 : 2 ng/g)

③ 混餌投与及び飲水投与の併用投与

七面鳥 [18 週齢、雌雄計 50 羽 (5 羽/時点)] にイプロニダゾールを 7 週間混餌投与 (混餌濃度 0.00625%) し、7 週間の投与期間の最後の 7 日間は飲水投与 (飲水濃度 0.0125%) を併用して、休薬期間 (0~7 日) 後の各組織中のイプロニダゾール及び代謝物 B の濃度が GC (検出限界 : 2 ng/g) により測定された。

結果を表 8 に示した。イプロニダゾールの残留は休薬期間 1 日を超えた時点で、代謝物 B の残留は休薬期間 2 日を超えた時点では認められなかった。(参照 5)

表 8 七面鳥におけるイプロニダゾール 7 日間混餌 (0.0625%) 及び飲水 (0.0125%)
併用投与後のイプロニダゾール及び代謝物 B の組織中濃度 (ng/g)

組織	休薬期間 (日)				
	イプロニダゾール		代謝物 B		
	0	1	0	1	2
肝臓	ND	ND	ND	ND	ND
腎臓	ND	ND	ND	ND	ND
筋肉	0.6	ND	141.5	0.9	ND
皮膚/脂肪	96.9	0.3	172.4	3.3	0.6

ND : 検出されず (検出限界 : 2 ng/g)

3. 遺伝毒性試験

イプロニダゾールの遺伝毒性試験結果を表 9 にまとめた。(参照 3)

ほかに 3 種類の試験 (小核試験、優性致死試験及びヒト細胞遺伝学試験) が実施され、いずれも結果は陰性であったが、試験条件が不適切であった。(参照 3)

表 9 イプロニダゾールの遺伝毒性試験結果

試験		対象	用量	結果
<i>in vitro</i>	復帰突然変異試験	<i>Salmonella typhimurium</i> TA100	0.1~0.5 mmol/L (-S9)	陽性
		<i>S. typhimurium</i> TA1530、TA1532、TA1964	1~4 mg/mL (-S9)	陽性

	Fluctuation test	<i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Citrobacter freundii</i>	0.02～1.0 mmol/L 0.02～1.0 mmol/L 0.1～1.0 mmol/L	陽性 陽性 陽性
ex vivo	宿主経由試験 (復帰突然変異試験)	<i>S. typhimurium</i> TA1530	100 又は 150 mg/kg 体重、経口投与 宿主：マウス	陽性

JECFA は、イプロニダゾールは細菌を用いた試験で変異原性を示したが、哺乳動物の試験では試験条件が不十分であり、遺伝毒性を適切に評価できなかつたと報告している。(参照 3、4)

イプロニダゾールは、*in vitro* の細菌を用いた復帰突然変異試験及び Fluctuation test で陽性であった。また、**ex vivo** (宿主経由試験) の復帰突然変異試験で陽性であった。JECFA で報告されている哺乳動物を用いた試験 (小核試験、優性致死試験及びヒト細胞遺伝学試験) については、試験条件が不適切であったとする報告のみで、詳細が不明である。

以上のことから、食品安全委員会は、イプロニダゾールが生体にとって問題となる遺伝毒性を示す可能性については否定できないと判断した。

4. 急性毒性試験

イプロニダゾールの急性毒性試験結果を表 10 に示した。(参照 3)

表 10 イプロニダゾールの各種動物における LD₅₀ (mg/kg 体重)

動物種	性別等	投与経路	LD ₅₀ (mg/kg 体重)
マウス	雌雄	経口	970
		腹腔内	600
		皮下	>400
ラット	雌雄 (成体)	経口	920
	雌雄 (新生児)	経口	205
ウサギ	雌雄	経口	960

5. 亜急性毒性試験

(1) 13 週間亜急性毒性試験 (ラット) ①<参考資料⁶>

ラット (系統不明、雌雄各 5 匹/群) を用いたイプロニダゾールの 13 週間混餌投与 (0、20、80 又は 320 mg/kg 体重/日) による亜急性毒性試験が実施された。

体重増加量及び摂餌量は、全ての群で同等であった。

血液学的検査及び尿検査では、投与による影響はみられなかった。

剖検では投与による病理学的変化はみられなかった。臓器重量では、全ての投与群の雄の肝臓及び腎臓の絶対重量が増加し、320 mg/kg 体重/日投与群で肝臓の相対重量が増

⁶ 病理組織学的検査が実施されず、試験の詳細が報告されていないことから参考資料とした。

加した。病理組織学的検査は実施されなかった。(参照 3)

JECFA は本試験の NOEL を設定していない。

(2) 13 週間亜急性毒性試験 (ラット) ②<参考資料 7>

ラット (系統不明、雌雄各 8 匹/群) を用いたイプロニダゾールの 13 週間混餌投与 (0、20、80 又は 320 mg/kg 体重/日) による亜急性毒性試験が実施された。

体重は 320 mg/kg 体重/日投与群の雌雄で有意に減少した。

摂餌量は、20 mg/kg 体重/日投与群の雌を除く全ての群で同等であった。この 20 mg/kg 体重/日投与群の雌は他の群の雌よりも摂餌量が多かった。

眼検査、血液学的検査、臨床生化学的検査及び尿検査では、投与による変化はみられなかった。

320 mg/kg 体重/日投与群の雄では肝細胞肥大がみられた。(参照 3、4)

JECFA は、320 mg/kg 体重/日投与群の雄の肝細胞肥大に基づき、本試験の NOEL を 80 mg/kg 体重/日と設定している。(参照 4)

(3) 13 週間亜急性毒性試験 (イヌ) <参考資料 8>

イヌ (ビーグル種、雌雄各 2 匹/群) を用いたイプロニダゾールの 13 週間経口投与 (0、20、80 又は 160 mg/kg 体重/日、カプセル、週 6 日投与) による亜急性毒性試験が実施された。

160 mg/kg 体重/日投与群では、2 例が死亡し、更に 1 例は瀕死状態のため安楽死処置された。4 例目についても試験開始後 7 週間で投与を中止した。この投与群の全例で体重減少、脱水症状、流涎、流涙、振戦、運動失調及び瞳孔拡張がみられた。剖検では、内臓のうっ血及び肝腫大がみられた。

80 mg/kg 体重/日投与群では、軽度の流涙及び流涎、僅かな体重減少並びに肝臓重量の増加がみられた。病理組織学的検査では、肝細胞質の軽度の顆粒状変化及び胆管周囲における間葉系細胞の増加がみられた。(参照 3、4)

JECFA は、本試験の NOEL を 20 mg/kg 体重/日と設定している。(参照 4)

6. 慢性毒性及び発がん性試験

(1) 104 週間慢性毒性試験 (イヌ)

イヌ (ビーグル種、雌雄各 8 匹/群) を用いたイプロニダゾールの 104 週間混餌投与 [混餌濃度 : 0、20、200 又は 2,000 ppm (0、0.51、5.4 又は 62 mg/kg 体重/日に相当)] による慢性毒性試験が実施された。投与開始約 1 年後に各群雌雄各 2 匹を中間検査に用いた。毒性所見を表 11 に示した。

投与開始後 99 週で死亡した 1 例 (雄) を除き全例が試験期間終了まで生存した。

一般状態では、投与群で皮膚炎、耳の炎症及び流涎の発生頻度が増加した。

体重では、試験終了時に 2,000 ppm 投与群の雌雄で対照群より有意な低下がみられ

7 試験の詳細が報告されていないことから参考資料とした。

8 動物数が少ないことから参考資料とした。

た。

平均摂餌量は、試験期間を通して、投与群で対照群に比べて少ない傾向がみられた。しかし、有意な変化はなかった。

眼検査では、投与による影響はみられなかった。

血液生化学的検査では、2,000 ppm 投与群の雌雄で ALP が試験期間を通して有意に上昇した。また、雄では、投与開始後 24 か月を除き K が有意に低下した。雌では、投与開始 6 か月後及び 9 か月後のみ K の有意な低下がみられた。

剖検では、2,000 ppm 投与群で脂肪組織の減少が認められた (10/11 例)。

臓器重量では、2,000 ppm 投与群で肝臓 (雌雄) 及び肺 (雌) の相対重量が有意に増加した。

病理組織学的検査では、2,000 ppm 投与群で肝細胞内の顆粒状色素の増加がみられた。200 ppm 以下投与群では投与による影響は認められなかった。(参照 3、4)

JECFA は、本試験の NOEL を 200 ppm (5.4 mg/kg 体重/日に相当) と設定している。(参照 4)

食品安全委員会は、本試験において、2,000 ppm (62 mg/kg 体重/日に相当) 投与群に体重低下及び肝細胞内の顆粒状色素の増加がみられたことから、NOAEL を 200 ppm (5.4 mg/kg 体重/日に相当) と設定した。

表 11 イヌを用いた 104 週間慢性毒性試験の毒性所見

投与量	雌雄
2,000 ppm	・体重低下 ・ALP 上昇 ・K 低下 (雄: 3~21 か月、雌: 6~9 か月のみ) ・脂肪組織の減少 ・肝臓相対重量増加 ・肝細胞内顆粒状色素増加
200 ppm	毒性所見なし

(2) 109 週間慢性毒性/発がん性併合試験 (ラット)

ラット (SD 系、雌雄各 50 匹/群) を用いたイプロニダゾールの 109 週間混餌投与 [混餌濃度: 0、20、200 又は 2,000 ppm (0、1、10 又は 110 mg/kg 体重/日に相当)] による慢性毒性/発がん性併合試験が実施された。

生存率は、雄では全ての群で同等であったが、雌では 20 ppm 及び 2,000 ppm 投与群で対照群より低かった。

一般状態では、投与に起因する変化はみられなかった。

体重では、2,000 ppm 投与群の雌雄で投与開始後 51 週に有意な減少がみられた。数例で大きな乳腺腫瘍がみられたため、その後の体重の統計学的解析は行われなかった。しかし、投与開始 2 年目以降では、全ての投与群の平均体重が対照群よりも低値であった。

摂餌量は、全ての投与群ともに対照群と同等であった。

血液学的検査及び血液生化学的検査では、ある種の測定項目で投与による変化がみら

れた。これらの変化は僅かであり、この試験より高い用量で実施された 13 週間亜急性試験 [II. 5. (1) 及び(2)] では変化がみられなかったことから、変化がみられたこれらの所見は、生物学的に重要なものではないと考えられた。

剖検及び病理組織学的検査では、投与による非腫瘍性病変はみられなかった。腫瘍性病変については、2,000 ppm 投与群の雌で乳腺腫瘍の発生率の上昇がみられた。また、同群では、腫瘍の発現が早く (75 週間後の腫瘍発生率の比較)、担がん動物 1 匹当たりの乳腺腫瘍の発生個数は、対照群に比べ増加していた (表 12)。(参照 3、4)

JECFA は、本試験の結果から、2,000 ppm 投与群の雌では乳腺腫瘍が形成されると結論した。しかし、この系統のラットでは腫瘍発生率が一般的に高く、対照群における高い腫瘍発生率のため明確な NOEL の設定はできなかつたと報告している。(参照 4)

本試験において、対照群を含む全群の腫瘍発生率が高く、各検査項目への影響が考えられたが、詳細な情報が不明であることから、食品安全委員会は、明確な NOAEL を設定することはできないと判断した。また、2,000 ppm (110 mg/kg 体重/日に相当) 投与群の雌で乳腺腫瘍の発生率の上昇がみられたことから、発がん性が示唆された。

表 12 ラットを用いたイプロニダゾールの 109 週間慢性毒性/発がん性併合試験における雌の乳腺腫瘍の発生数 (発生率%)

項目	投与量 (ppm)			
	0	20	200	2,000
乳腺腫瘍発生数*	42 (84%)	32 (64%)	37 (74%)	48 (96%)
投与開始 75 週間後の腫瘍発生数及び発生率	7 (14%)	12 (24%)	10 (20%)	18 (36%)
担がん動物 1 匹当たりの乳腺腫瘍の発生個数	2.76	2.72	3.08	3.68

n=50

* : 過去の 3 試験から得られた背景データ (非投与群の雌における良性乳腺腫瘍発生数) : 22/43 (51%)、31/44 (70%) 及び 29/47 (62%)

(3) 89 又は 100 週間発がん性試験 (マウス)

マウス (CD-1 系、雌雄各 80 匹/群) を用いたイプロニダゾールの混餌投与 [混餌濃度 : 0 (2 群)、20、200 又は 1,000 ppm (0、3、30 又は 150 mg/kg 体重/日に相当)] による発がん性試験が実施された。投与期間は雄で 89 週間、雌で 100 週間であった。

体重及び摂餌量は、投与群と対照群で同等であった。生存率には投与群と対照群で有意な差はなかった。100 週間混餌投与後の生存率は 20%であった。

剖検では、投与による変化はみられなかった。

腫瘍性病変については、1,000 ppm 投与群の雌雄で肺の良性増殖性病変 (過形成及び腺腫) の有意な増加がみられた ($p < 0.05$)。肺の過形成及び腫瘍性病変の発生数を表 13 に示した。病変数の有意な増加は、肺の過形成及び腺腫のみであったが、1,000 ppm 投与群では複数の腫瘍 (雌雄) 及び癌 (雄) を有する個体数の軽度の増加がみられた。肺腺腫は、この系統のマウスにおける一般的な腫瘍であるが、1,000 ppm 投与群での発生率は背景データ (同一施設における過去の 8 試験の対照データ : 雄 2/50~10/59、雌 2/59

～11/59) を超えていた。過形成については、背景データがなかったが、対照群より有意に増加していた ($p<0.05$)。

白内障の発症に関する追加の眼検査が 13 週間毎及び試験終了時に実施された。投与による眼に対する影響はみられなかった。(参照 3、4)

JECFA は、本試験の NOEL を 200 ppm (30 mg/kg 体重/日に相当) と設定している。(参照 4)

食品安全委員会は、本試験において、肺の過形成以外の非腫瘍性病変に係る詳細な情報が不明であることから、NOAEL を設定することは適切ではないと判断した。また、1,000 ppm (150 mg/kg 体重/日に相当) 投与群で肺腫瘍の有意な増加がみられたことから、発がん性が示唆された。

表 13 マウスを用いたイプロニダゾールの 89 又は 100 週間発がん性試験における肺の過形成及び腫瘍性病変の発生数

性別	雄					雌				
	0	0	20	200	1,000	0	0	20	200	1,000
投与量 (ppm)	0	0	20	200	1,000	0	0	20	200	1,000
被験動物数	78	79	77	78	78	79	78	80	79	79
過形成	8	8	3	11	36*	8	8	7	13	25*
腺腫	8	8	7	13	25*	6	5	3	4	20*
複数の腺腫を有する 個体数	0	2	1	2	7	0	0	1	1	6
癌腫	3	2	3	1	7	0	3	0	3	2
複数の癌腫を有する 個体数	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1
腺腫及び/又は癌腫	11	9	10	13	27	6	8	3	6	21

* $p<0.05$

7. 生殖発生毒性試験

(1) 3 世代繁殖試験 (ラット)

ラット (CFY 系、雄 10 匹及び雌 20 匹/群) にイプロニダゾールを混餌投与 [混餌濃度: 0、20、200 又は 2,000 ppm (0、1、10 又は 100 mg/kg 体重/日に相当)] し、3 世代繁殖試験が実施された。各群ともに 80 日間混餌投与した後、交配した。

2,000 ppm 投与群の親動物 (雌雄) 及び妊娠雌で体重増加抑制がみられた。交尾行動、分娩、同腹児数及び出生後の成長には、投与による影響はみられなかった。精巣の退行性変化 (精細管の損傷、精子形成の不全) が各投与群で 1 例ずつみられたが、受胎率には投与による影響はみられなかった。(参照 3、4)

JECFA は、本試験における NOEL を 200 ppm (10 mg/kg 体重/日に相当) と設定している。(参照 4)

食品安全委員会は、本試験において、2,000 ppm (100 mg/kg 体重/日に相当) 投与群の親動物及び妊娠雌で体重増加抑制がみられたことから、NOAEL を 200 ppm (10 mg/kg 体重/日に相当) と設定した。

(2) 発生毒性試験 (ラット)

妊娠ラット (Füllingsdorf アルビノ、39 匹/群) に、イプロニダゾールを強制経口投与 (0、10 又は 100 mg/kg 体重/日) し、発生毒性試験が実施された。投与を妊娠 6~15 日に行った。対照群及び投与群をそれぞれ 2 群に分け、第 1 群の母動物を妊娠 20 日に安楽死させ、子宮及び胎児の検査を行った。第 2 群の母動物は出産させ、授乳期間を通じて哺育させた。児動物は、生後 22 日に安楽死させた。

受胎率、同腹児数、同腹児体重及び吸収胚率は、全ての群で同等であった。骨格奇形及び内臓奇形はみられなかった。児動物の生存率及び発育には投与による影響はみられなかった。(参照 3、4)

JECFA は、100 mg/kg 体重/日投与群で投与による何らの影響もみられなかったことから、本試験の NOEL を 100 mg/kg 体重/日と設定している。(参照 4)

食品安全委員会は、本試験において、最高用量の 100 mg/kg 体重/日投与群で投与による影響がみられなかったことから、母動物、胎児及び児動物に対する NOAEL をいずれも 100 mg/kg 体重/日と設定した。催奇形性はみられなかった。

(3) 発生毒性試験 (ウサギ)

妊娠ウサギ (Yellowsilver、20 匹/群) に、イプロニダゾールを強制経口投与 (0、1、10 又は 100 mg/kg 体重/日) し、発生毒性試験が実施された。投与を妊娠 6~18 日に行い、妊娠 29 日に全ての母動物を検査した。

100 mg/kg 体重/日投与群の母動物に、体重増加抑制及び鎮静がみられ、吸収胚数が有意に増加した。

胎児には、投与に起因する骨格奇形及び内臓奇形はみられなかった。(参照 3、4)

JECFA は、10 mg/kg 体重/日投与群で投与による何らの影響もみられなかったことから、本試験の NOEL を 10 mg/kg 体重/日と設定している。(参照 4)

食品安全委員会は、本試験において、100 mg/kg 体重/日投与群の母動物に体重増加抑制、鎮静及び吸収胚数の増加がみられたことから、母動物及び胎児に対する NOAEL を 10 mg/kg 体重/日と設定した。催奇形性はみられなかった。

III. 国際機関等における評価

1. JECFA における評価

JECFA は、1989 年にイプロニダゾールを評価している。

イプロニダゾールは、細菌を用いた試験で変異原性を示したが、哺乳動物の試験では試験条件が不十分であり、遺伝毒性を適切に評価できなかった。また、ラットを用いた 109 週間慢性毒性/発がん性併合試験の結果から、イプロニダゾール高用量投与群の雌では乳腺腫瘍が形成されると結論された。しかし、この試験に用いられた系統のラットでは腫瘍発生率が一般的に高く、対照群において腫瘍発生率が高かったため明確な NOEL の決定はできなかった。

このため、JECFA は、ラットを用いた 109 週間慢性毒性/発がん性併合試験が NOEL を決定するには不適切であったことから、イプロニダゾールの一日摂取許容量 (ADI) を設定することはできないと判断している。(参照 3、4)

他にも懸念事項として、代謝試験において、イプロニダゾールは 5-ニトロイミダゾールを特徴付ける代謝経路、特に、酸化が 2-アルキル基で起こり、還元が 5-ニトロ基で起こる可能性、分子の切断によりイミダゾール環が断片化し、生体内成分への取り込みがある程度進むことが考えられたが、一方で結合残留物が形成される可能性があり、JECFA は、この可能性を安全性評価の際に考慮しなければならないとしている。(参照 5)

IV. 食品健康影響評価

イプロニダゾールは、*in vitro* の細菌を用いた復帰突然変異試験及び Fluctuation test で陽性であった。また、*ex vivo* (宿主経由試験) の復帰突然変異試験で陽性であった。一方、哺乳動物を用いた試験では、試験条件が不適切で遺伝毒性を評価できなかったとする報告があった。以上のことから、イプロニダゾールが生体にとって問題となる遺伝毒性を示す可能性については否定できないと判断した。

マウスを用いた 89 又は 100 週間発がん性試験及びラットを用いた 109 週間慢性毒性/発がん性併合試験が実施されている。マウスを用いた試験では、1,000 ppm 投与群で肺腫瘍の有意な増加が、ラットを用いた試験では、2,000 ppm 投与群の雌で乳腺腫瘍の発生率の上昇がみられたことから、発がん性が示唆された。また、腫瘍発生への遺伝毒性の可能性を否定できなかった。

以上のことから、イプロニダゾールについては、遺伝毒性を示す可能性を否定することができず、発がん性が示唆されたことから、ADI を設定すべきでないと判断した。

表 14 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)	無作用量 (mg/kg 体重/日)
マウス	89～100 週間発がん性	0、20、200、1,000 ppm (0、3、30、150)、混餌投与	30 (200 ppm、NOEL) 肺腫瘍増加
ラット	13 週間亜急性毒性	0、20、80、320、混餌投与	- 320 雄：肝臓重量増加
	13 週間亜急性毒性	0、20、80、320、混餌投与	80 (NOEL) 肝細胞肥大 (雄)、体重減少
	109 週間慢性毒性/発がん性併合	0、20、200、2,000 ppm (0、1、10、110)、混餌投与	- 110 雌：乳腺腫瘍の発生率上昇
	3 世代繁殖	0、20、200、2,000 ppm (0、1、10、100)、混餌投与	10 (200 ppm、NOEL) 親動物及び妊娠雌の成育不良、
	発生毒性	0、10、100、強制経口投与	100 (NOEL) 投与による影響なし 催奇形性なし
ウサギ	発生毒性	0、1、10、100、強制経口投与	10 (NOEL) 母動物：体重増加遅延、鎮静 胚：吸収胚数増加 催奇形性なし
イヌ	13 週間亜急性毒性	0、20、80、160、経口投与 (カプセル)、週 6 日	20 (NOEL) 肝臓重量増加、肝臓病変 (肝細胞の細胞質顆粒状変化、胆管周囲における間葉系細胞の増加)
	104 週間慢性毒性	0、20、200、2,000 ppm (0、0.51、5.4、62)、混餌投与	5.4 (200 ppm、NOEL) 体重増加量減少、肝細胞変化 (細胞内顆粒状色素の増加)
ADI 設定根拠			-
ADI 設定根拠資料			-
ADI			-

-：設定せず

<別紙1：代謝物/分解物略称>

略称等	化学名
代謝物 A	2,3-ジヒドロ-2-(2'-ヒドロキシイソプロピル)-3-メチル-4-ニトロ-1H-イミダゾール-5-オール
代謝物 B	1-メチル-2-(2'-ヒドロキシイソプロピル)-5-ニトロイミダゾール (HIP)

<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
EMEA	欧州医薬品審査庁
FDA	米国食品医薬品庁
GC	ガスクロマトグラフィー
GC-ECD	電子捕獲型検出器付きガスクロマトグラフィー
JECFA	FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議
LD ₅₀	半数致死量
LSC	液体シンチレーションカウンター
NOAEL	無毒性量
NOEL	最大無作用量
TLC	薄層クロマトグラフィー

<参照>

1. 食品衛生法（昭和22年法律第233号）第十一条第三項の規定により人の健康を損なうおそれのない量として厚生労働大臣が定める量を定める件（平成17年厚生労働省告示第497号）
2. The Merck Index, 15th, 2013.
3. JECFA: Toxicological evaluation of certain veterinary drug residues in food. WHO Food Additives Series, No. 25, 1990.
4. JECFA: Evaluation of certain veterinary drug residues in food (Thirty-fourth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives). WHO Technical Report Series, No. 788, 1989.
5. JECFA: Residues of some veterinary drugs in foods and animals. FNP 41/2, 1989.
6. EMEA: COMMITTEE FOR VETERINARY MEDICINAL PRODUCT, Position Paper on Availability of Veterinary Medicines agreed on March 1999. EMEA/CVMP/151/99-FINAL, 1999.
7. FDA: Approved Product, Section 6.0-Voluntary Withdrawal, 2015.