

ウ. 排泄

(ア) 単回経口投与

健康成人男性に ^{14}C 標識ネオテーム (約 0.25 mg/kg 体重) を経口投与後、168 時間までに投与放射能の 34.3%が尿中に、63.7%が糞中に排泄された²⁰⁾。

また、非標識ネオテーム (0.1、0.25、0.50 mg/kg 体重) を単回経口投与したとき、尿中には、投与後 84 時間までに投与量の約 1%が未変化体として、約 20%が NC-00751 として尿中に排泄された。尿中排泄率及び腎クリアランスは投与量にかかわらず一定であった²¹⁾。

(イ) 8 回反復経口投与

健康成人男性にネオテーム (0.25 mg/kg 体重) を 1 時間おきに 8 回反復経口投与したとき、初回投与後 168 時間までに総投与量の約 3%が未変化体として、約 23%が NC-00751 として尿中に排泄された²²⁾。

(ウ) 製剤の生物学的同等性

ヒトにネオテームを 10 mg×2 カプセル投与と 20 mg 溶液投与したときの血漿中濃度の薬物動態パラメータを調べたところカプセル投与した場合のネオテーム及び NC-00751 の生物学的利用率は、溶液投与と同等かそれ以上であった²⁵⁾。

(2) 毒性

①反復投与毒性試験

ア. マウス 13 週間混餌投与試験

ICR マウス (各群雌雄各 20 匹) にネオテーム (0、100、1,000、4,000、8,000 mg/kg 体重/日) を 13 週間混餌投与した。4,000 mg/kg 体重/日以上以上の投与群の雌で平均赤血球容積 (MCV) の有意な低下が認められた。変動の程度は小さく、他の赤血球パラメータに影響がみられなかったことから、投与による影響ではないと考えられた。4,000 mg/kg 体重/日以上以上の投与群で肝比重量の増加、8,000 mg/kg 体重/日投与群で肝重量の増加が認められた²⁶⁾。

以上から 4,000 mg/kg 体重/日以上以上の投与群における肝比重量の増加に基づき、本試験における無毒性量 (NOAEL) は 1,003 mg/kg 体重/日^{※4}と考えられる。

イ. ラット 13 週間混餌投与及び 4 週間回復性試験

SD ラット (各群雌雄各 20 又は 25 匹) にネオテーム (0、100、300、1,000、3,000 mg/kg 体重/日) を 13 週間混餌投与し、その後、0、1,000 及び 3,000 mg/kg 体重/日投与群 (各群雌雄各 5 匹) については 4 週間回復性試験を行った。3,000 mg/kg 体

※4 摂餌量から換算した実際のネオテーム摂取量

重/日投与群の雄で最終体重、体重増加量及び摂餌量の減少が認められた。最終体重及び体重増加量の減少は摂餌量の減少に伴うものであり、それらは本物質の高濃度添加によるラットの嗜好性の低下によるものと考えられる。1,000 mg/kg 体重/日投与群の雄及び 3,000 mg/kg 体重/日投与群でアルカリホスファターゼ（ALP）の上昇が認められた。3,000 mg/kg 体重/日投与群の雄で臓器重量（肝、腎、副腎、心、脾、胸腺及び前立腺）の減少、脾比重量の減少、脳及び精巣比重量の増加が認められたが、それらの変動は体重増加抑制に付随するものと考えられる。1,000、3,000 mg/kg 体重/日投与群の雌で腎の皮髄境界部石灰化が認められたが、これは性成熟と関連して雌ラットで頻繁に観察される病変であり、4 週間回復期間終了時には認められなかった²⁷⁾。

以上から 1,000 mg/kg 体重/日以上投与群における ALP の上昇に基づき、本試験における NOAEL は 293 mg/kg 体重/日^{*4}と考えられる。

ウ. イヌ 13 週間混餌投与及び 4 週間回復性試験

ビーグル犬（各群雌雄各 4 又は 6 匹）にネオテーム（0、60、200、600、2,000/1,200 mg/kg 体重/日（2,000/1,200 mg/kg 体重/日投与群：14 日まで 2,000 mg/kg 体重/日））を 13 週間混餌投与し、その後 4 週間回復性試験を行った。2,000/1,200 mg/kg 体重/日投与群で体重増加抑制及び摂餌量の低下が認められた。体重増加抑制は摂餌量の減少に伴うものであり、摂餌量の低下は高濃度のネオテームを含む餌を忌避したことに起因していると考えられる。2,000/1,200 mg/kg 体重/日投与群で RBC、ヘモグロビン濃度（Hb）及びヘマトクリット値（Hct）の低下が認められた。また、200 及び 600 mg/kg 体重/日投与群の雌及び 2,000/1,200 mg/kg 体重/日投与群で ALP の上昇が認められた。なお、イヌ 52 週間混餌投与及び 4 週間回復性試験（後述 オの項参照）の 200 mg/kg 体重/日投与群では、ALP 上昇の程度は小さかった。600 mg/kg 体重/日投与群の雌及び 2,000/1,200 mg/kg 体重/日投与群で肝比重量の増加、2,000/1,200 mg/kg 体重/日投与群の雄で副腎比重量の増加、肺及び精巣上体重量の減少が認められたが、これらの変化は摂餌量の低下に伴う体重の変化によるものと考えられる。また、600 及び 2,000/1,200 mg/kg 体重/日投与群で肝細胞グリコーゲン増加が認められたが、毒性学的意義に乏しいと考えられる²⁸⁾。

以上から 200 mg/kg 体重/日以上投与群における ALP の上昇に基づき、本試験における NOAEL は 59.7 mg/kg 体重/日^{*4}と考えられる。

エ. 暴露雌ラットの児を用いた 52 週間混餌投与及び 4 週間回復性試験

SD ラット（各群雌雄各 25 匹）にネオテーム（0、10、30、100、300、1,000 mg/kg 体重/日）を交配前 4 週間と交配期間中、さらに雌には妊娠期間、授乳期間及び分娩後 21 日（離乳時）まで混餌投与した。ただし、1,000 mg/kg 体重/日投与群の母動物に対する分娩後 14～21 日の投与量は、300 mg/kg 体重/日とし、児（F₁）にも同用量のネオテーム（300 mg/kg 体重/日）を離乳時から 26～28 日（52 週間毒性試験開始

時)まで混餌投与した。その後、児 (F_1) (各群雌雄各 20 匹) にネオテーム (0、10、30、100、300、1,000 mg/kg 体重/日) を 52 週間混餌投与し、その後各群雌雄各 10 匹について 4 週間回復性試験 (0、100、300、1,000 mg/kg 体重/日) を行った。

300 mg/kg 体重/日投与群以上の雄で対照群と比べ興奮性を示す行動がやや高い頻度で認められたが、本所見は高齢の雄ラットで一般的に観察される所見であり、さらに長期の発がん性試験 (104 週間) において同様の所見がみられなかったことから、投与に起因する影響ではないと考えられる。100 mg/kg 体重/日以上投与群の雌で体重減少及び摂餌量の低下、300 mg/kg 体重/日以上投与群の雌で体重増加量の減少が認められたが、これらの変化は嗜好性の低下を裏付けるものと考えられた。100 mg/kg 体重/日以上投与群の雌では心臓重量の低値を示したが、心臓比重量は対照群と同等であった。病理組織学的検査では、30 mg/kg 体重/日投与群の雌で下垂体腺腫の発生頻度が有意に増加したが、用量依存性はみられず、その頻度は背景データの範囲内であった²⁹⁾。

以上から、本試験において毒性を示唆する所見は認められず、本試験における NOAEL は 1,006 mg/kg 体重/日以上^{*4}と考えられる。

オ. イヌ 52 週間混餌投与及び 4 週間回復性試験

ビーグル犬 (各群雌雄各 4 又は 6 匹) にネオテーム (0、20、60、200、800 mg/kg 体重/日) を 52 週間混餌投与し、その後各群雌雄各 2 匹について 4 週間回復性試験 (0、200、800 mg/kg 体重/日) を行った。800 mg/kg 体重/日投与群で、摂餌量の低下、投与期間中いずれの検査時期においても ALP の有意な上昇が認められた。ALP アイソザイムは肝由来の ALP であり、ALP の増加は、回復期間中に正常値に復す可逆的な変化であった。また、肝重量、肝の病理解剖学的又は病理組織学的検査で投与による影響は認められなかった³⁰⁾。

以上から 800 mg/kg 体重/日投与群における ALP の上昇に基づき、本試験における NOAEL は 197mg/kg 体重/日^{*4}と考えられる。

②繁殖試験

SD ラット (各群雌雄各 28 匹) にネオテーム (0、100、300、1,000 mg/kg 体重/日) を F_0 の雄に交配前 10 週から計 14 週間、雌に交配前 4 週間及び F_1 離乳までの計 10~11 週間、 F_1 の雄に離乳から 15~16 週間、 F_1 の雌に離乳から F_2 離乳までの 17~20 週間混餌投与し、二世世代繁殖試験を行った。

親動物 (F_0 、 F_1) では、1,000 mg/kg 体重/日投与群で摂餌効率の低下が交配前期間に認められた。交配前期間に 1,000 mg/kg 体重/日投与群の雄で、交配前及び妊娠期間に 1,000 mg/kg 体重/日投与群の雌で、低体重及び体重増加量の減少が認められた。1,000 mg/kg 体重/日投与群の各種臓器の絶対重量の減少と相対重量の増加が認められたが、それらは動物の低体重に伴うものと考えられた。その他、性周期、交尾能、受胎能、妊娠期間、出産率、妊娠率等について、投与による影響は認められ

なかった。

児動物 (F₁、F₂) では、F₁ の 300 mg/kg 体重/日投与群の雄及び 1,000 mg/kg 体重/日投与群の生後 1 日の低体重、並びに F₁ の 300 mg/kg 体重/日以上投与群及び F₂ の 1,000 mg/kg 体重/日投与群の生後 21 日の低体重がみられた。F₁ の学習能を水迷路で検査した結果、1,000 mg/kg 体重/日投与群の雄で有意な水泳時間の延長が認められたが、変動は小さく、背景データの範囲内であった。その他、一般状態、出産児数、胎児生存率、性比、身体的、機能的発達等について、投与による影響は認められなかった³¹⁾。

以上から本試験において繁殖能力に影響は認められず、F₁ の 300 mg/kg 体重/日以上投与群における生後 1 日の低体重に基づき、本試験における NOAEL は 96.5 mg/kg 体重/日^{※4} と考えられる。(本試験における NOAEL は、親動物の一般毒性に対して 299 mg/kg 体重/日^{※4}、生殖発生毒性に対して 96.5 mg/kg 体重/日^{※4} と考えられた。繁殖指標に対する影響はみられなかった。)

③催奇形性試験

ア. ラット催奇形性試験

SD ラット (各群雌 24 匹) にネオテーム (0、100、300、1,000 mg/kg 体重/日) を交配前 28 日間、交配期間及び妊娠 20 日まで混餌投与した後、妊娠 20 日に妊娠ラットを帝王切開し、胎児を調べた。母動物について、1,000 mg/kg 体重/日投与群で投与開始 1 週間の総摂餌量、低体重及び体重増加量の減少が認められたが、これらの変化は餌に対する忌避行動によるものと考えられた。妊娠率、黄体数、胎児数、胎児生存率、着床前胚死亡率及び着床後胚/胎児死亡率に投与の影響はみられなかった。胎盤重量、生存胎児の体重、外表・骨格・内部器官の形態的所見に投与による影響はみられなかった³²⁾。

以上から、本試験における母動物及び胎児に対する NOAEL は 964 mg/kg 体重/日以上^{※4} と考えられる。催奇形性は認められなかった。

イ. ウサギ催奇形性試験

ニュージーランド白色ウサギ (各群雌 20~25 匹) に、妊娠 6 日から 19 日までの 14 日間、ネオテーム (0、50、150、500 mg/kg 体重/日) を強制経口投与し、妊娠 29 日に妊娠ウサギを帝王切開し、胎児を調べた。

全胚/胎児死亡が対照群及び 500 mg/kg 体重/日投与群の各 1 母体にみられ、500 mg/kg 体重/日投与群の例は 1 個の胚のみが着床し死亡胚であった。また、500 mg/kg 体重/日投与群の 1 例に死亡、2 例に流産がみられた。これらの変化は、これらの妊娠ウサギいずれにも観察された摂餌量の著減及びそれに続く体重減少によるものと考えられた。群平均の摂餌量及び体重増加量に対照群との有意差はなかった。胎児数、胎児生存率、着床前胚死亡率及び着床後胚/胎児死亡率に投与の影響はみられなかった。胎盤重量、生存胎児の体重、外表・骨格・内部器官の形態的所見に投

与による影響はみられなかった³³⁾。

以上から、本試験における母動物に対する NOAEL は、500 mg/kg 体重/日投与群において死亡例、流産例が認められたことに基づき 150 mg/kg 体重/日、胎児に対する NOAEL は 500 mg/kg 体重/日以上と考えられる。催奇形性は認められなかった。

④発がん性試験

ア. マウス 104 週間発がん性試験

ICR マウス（対照群：雌雄各 140 匹、投与群：各群雌雄各 70 匹）にネオテーム（0、50、400、2,000、4,000 mg/kg 体重/日）を 104 週間混餌投与した。400 mg/kg 体重/日以上投与群で体重が対照群に比べて低く推移し、摂餌量が低下した。4,000 mg/kg 体重/日投与群の雌で心重量が減少したが、病理解剖学的検査において、投与に起因する影響はみられなかった。4,000 mg/kg 体重/日投与群の雄で肝細胞腺腫の、雌で細気管支／肺胞腺がんの発生頻度の増加傾向がみられたが有意差はみられなかった³⁴⁾。

以上から、発がん性は認められないと考えられる。

イ. ラット *in utero* 暴露／104 週間発がん性試験

SD ラット (F₀)（対照群：雌雄各 170 匹、投与群：各群雌雄各 85 匹）にネオテーム（0、50、500、1,000 mg/kg 体重/日）を交配前 4 週間と交配期間中、雌にはさらに出産後 21 日目まで混餌投与し、得られた児 (F₁)（対照群：雌雄各 147 匹、投与群：各群雌雄 73～75 匹）に同用量のネオテームを 104 週間混餌投与した。F₁ の投与群で体重増加抑制及び摂餌量の低下が認められた。病理組織学的検査において、50 mg/kg 体重/日投与群の雄で腎腺腫の発生頻度が有意に増加したが、用量依存性が認められないことから、偶発的なものと考えられた³⁵⁾。

以上から、発がん性は認められないと考えられる。

⑤抗原性試験

モルモット皮膚感作性の有無について、Cri:(HA)BR モルモット（対照群：雌雄各 5 匹、投与群：雌雄各 10 匹）にネオテーム（0、0.4 g/匹）を接着パッチにのせ、週 1 回 6 時間を 3 週間（計 3 回）にわたり貼付し感作暴露した後、2 週間後に誘発暴露を行った。その結果、両群ともに皮膚反応は認められなかった³⁶⁾。

なお、各種動物試験及びヒトへの投与試験において、アレルギーを示唆する所見は認められていない。

⑥遺伝毒性試験

ア. 細菌を用いた復帰突然変異試験

細菌 (*Salmonella typhimurium* TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA1538、*Escherichia coli* WP2uvrA) を用いた復帰突然変異試験 (312～10,000 µg/プレート) の結果、S9mix

の有無にかかわらず、陰性であった³⁷⁾。

イ. L5178Y マウスリンパ腫細胞を用いた遺伝子突然変異試験

L5178Y マウスリンパ腫細胞を用いた遺伝子突然変異試験 (100~1,000 µg/mL) において、チミジンキナーゼ遺伝子座 (tk) の変異誘発について検討した結果、S9mix の有無にかかわらず、変異誘発は認められなかった³⁸⁾。

ウ. チャイニーズハムスター卵巣 (CHO) 由来細胞を用いた染色体異常試験

チャイニーズハムスター卵巣 (CHO) 由来細胞を用いた染色体異常試験 (S9mix 存在下 : 250~1,000 µg/mL、S9mix 非存在下 : 62.5~250 µg/mL) の結果、S9mix の有無にかかわらず、染色体異常の誘発は認められなかった³⁹⁾。

エ. 雌雄 ICR マウスを用いた小核試験

雌雄 ICR マウス (各群 10 匹) を用いた強制経口投与による小核試験 (500、1,000、2,000 mg/kg 体重) の結果、小核の誘発は認められなかった⁴⁰⁾。

以上から、ネオテームには遺伝毒性はないものと考えられる。

⑦一般薬理試験

ア. 一般症状及び行動に及ぼす影響

ラット及びイヌを用いた 13 週間混餌投与試験において、投与に起因する一般症状及び行動に及ぼす影響はみられなかった^{27), 28)}。(「①反復投与毒性試験」の項参照)

イ. 中枢神経系に及ぼす影響

(ア) 自発運動量に及ぼす影響

ラットを用いた繁殖試験において、自発運動量に及ぼす影響を検討したところ、自発運動量に及ぼす影響は認められなかった³¹⁾。(「②繁殖試験」の項参照)

(イ) 麻酔作用に及ぼす影響

SD ラット (各群雌雄各 5 匹) にネオテーム (5、15 mg/kg 体重) を経口投与し、30 分後にヘキソバルビツール (雄 : 150 mg/kg 体重、雌 : 100 mg/kg 体重) を腹腔内投与したところ、ヘキソバルビツール誘発睡眠時間への影響はみられなかった⁴¹⁾。

(ウ) その他

ラット及びイヌを用いた 13 週間混餌投与試験において、中枢神経系に及ぼす影響は認められなかった^{27), 28)}。またイヌにおいては、体温に及ぼす影響は認められなかった。(「①反復投与毒性試験」の項参照)

ウ. 自律神経系に及ぼす影響

雄 Dunkin-Hartley モルモットの摘出回腸をネオテーム (0、20、60、200 ng/mL) 及び NC-00751 (60、200、600 ng/mL) に暴露し、アセチルコリン、ヒスタミン等の収縮薬の反応に対する作用を検討したところ、各種収縮薬誘発収縮及び回腸の緊張レベルに影響はみられず、また、試験した受容体系に対して活性化作用、協同的及び拮抗的作用を示さなかった⁴²⁾。

エ. 呼吸・循環器系及び腎機能に及ぼす影響

ビーグル犬 (各群雄 6 匹) にネオテーム (5、15 mg/kg 体重) を十二指腸内投与し、血圧、心拍数、呼吸数、一回呼吸量、尿中ナトリウム及びタンパク質等を測定したが影響はみられなかった⁴³⁾。

オ. 消化器系に及ぼす影響

SD ラット (各群雄 10 匹) にネオテーム (5、15 mg/kg 体重) を経口投与し、約 30 分後に炭末の 5% (w/v) 水懸濁液を経口投与した結果、幽門括約筋と盲腸間における炭末の移動距離に影響は認められなかった⁴⁴⁾。

⑧ラット嗜好性試験

SD ラット (各群雌雄各 14 匹) にネオテーム (0、50、150、500、1,500、5,000、15,000 ppm) を混合した餌を自由に摂取させて餌の嗜好性を検討したところ、50 ppm の雄を除く全ての投与群でネオテームを混合した餌に対する嗜好性の低下がみられ、5,000 ppm 以上の濃度では完全に忌避行動を示した⁴⁵⁾。

⑨ネオテーム分解物の安全性試験

ネオテームの分解物について各種動物試験が行われている。参考までに、図 2 に苛酷条件下におけるネオテームの分解経路を示す。

ア. 単回投与毒性試験

SD ラット (各群雌雄各 10 匹) に NC-00764 (0、0.6、2.0、6.0 mg/kg 体重)、NC-00777 (0、0.6、2.0、6.0 mg/kg 体重) 又は NC-00779 (0、0.3、1.0、3.0 mg/kg 体重) を強制経口投与し、14 日間観察したところ、投与による影響は認められなかった^{46), 47), 48)}。

イ. 反復投与毒性試験

SD ラット (各群雌雄各 15 匹) に NC-00764、NC-00777 及び NC-00779 の混合物 (NC-00764/NC-00777/NC-00779 がそれぞれ 0.2/0.2/0.1、0.6/0.6/0.3、2.0/2.0/1.0、6.0/6.0/3.0 mg/kg 体重/日) を 4 週間混餌投与したところ、投与による影響は認められなかった⁴⁹⁾。

ウ. 遺伝毒性試験

(ア) 細菌を用いた復帰突然変異試験

NC-00751 又は NC-00764 の細菌 (*Salmonella typhimurium* TA98、TA100、TA102、TA1535、TA1537) を用いた復帰突然変異試験 (50~5,000 µg/プレート) の結果、S9mix の有無にかかわらず、陰性であった^{50), 51)}。

NC-00777 又は NC-00779 の細菌 (*Salmonella typhimurium* TA97a、TA98、TA100、TA102、TA1535) を用いた復帰突然変異試験 (10~5,000 µg/プレート) の結果、S9mix の有無にかかわらず、陰性であった^{52), 53)}。

(イ) ほ乳類培養細胞 (AS52/XPRT 細胞) を用いた遺伝子突然変異試験

NC-00751 又は NC-00764 のほ乳類培養細胞 (AS52/XPRT 細胞) を用いた遺伝子突然変異試験 (625~5,000 µg/mL) の結果、S9mix の有無にかかわらず、陰性であった^{54), 55)}。

NC-00777 又は NC-00779 のほ乳類培養細胞 (AS52/XPRT 細胞) を用いた遺伝子突然変異試験 (NC-00777 : 100~390、NC-00779 : 313~5,000 µg/mL) の結果、S9mix の有無にかかわらず、陰性であった^{56), 57)}。

(ウ) ICR マウスを用いた小核試験

NC-00764 (500、1,000、2,000 mg/kg 体重) の ICR マウス (各群雌雄各 10 匹) を用いた小核試験の結果、小核の誘発は認められなかった⁵⁸⁾。

NC-00777 又は NC-00779 (500、1,000、2,000 mg/kg 体重) の ICR マウス (各群雌雄各 10 匹) を用いた小核試験の結果、小核の誘発は認められなかった^{59), 60)}。

以上から、ネオテーム分解物 (NC-00751、NC-00764、NC-00777、NC-00779) には遺伝毒性はないものと考えられる。

⑩ヒトにおける知見

ア. 単回投与試験

健康成人男子 (各群 6 名) にネオテーム (0.1、0.25、0.5 mg/kg 体重) をミネラル水に溶解したものを単回経口投与したところ、投与に起因した異常は認められなかった⁶¹⁾。

イ. 2 週間投与試験

健康成人男女 (各群 12 名) にネオテーム (0、0.5、1.5 mg/kg 体重/日) を 1 日 3 回 2 週間反復経口投与したところ、投与に起因した異常は認められなかった²³⁾。

ウ. 13 週間投与試験

健康成人男女 (各群 24 名、ただし、最高用量群は各群 23 名) にネオテーム (0、

0.5、1.5 mg/kg 体重/日) を1日3回13週間反復経口投与したところ、投与に起因した異常は認められなかった⁶²⁾。

エ. インスリン非依存性糖尿病 (NIDDM) 患者の2週間三期クロスオーバー試験
インスリン非依存性糖尿病 (NIDDM) 患者 (男性17名、女性17名) にネオテーム (0、0.5、1.5 mg/kg 体重/日) を1日3回2週間反復経口投与する三期クロスオーバー試験を実施したところ、投与に起因した異常は認められず、血漿中グルコース及びインスリン濃度に影響を及ぼさなかった⁶³⁾。

⑪アスパルテームに関する評価

2005年及び2006年に、イタリアの財団 (European Foundation of Oncology and Environmental Sciences "B. Ramazzini") が、ラットを用いた実験でアスパルテーム投与により白血病などの発生頻度が増加したとの試験結果を公表した^{64), 65)}。ネオテームと構造が類似しているアスパルテームについてこのような情報が得られたことから、これに関する詳細なデータを入手し⁶⁶⁾、評価した。

SDラット (各群雌雄各100~150匹) にアスパルテーム (0、80、400、2,000、10,000、50,000、100,000 ppm ; 4、20、100、500、2,500、5,000 mg/kg 体重/日^{※5)} を動物が自然死するまで混餌投与したところ、400 ppm以上の投与群の雌において、リンパ腫と白血病の総発生頻度が有意に増加した。しかし、その総発生頻度の増加には用量相関性は認められず、かつ、総発生頻度を背景データと比較すると、偶発的に雌対照群において発生頻度が低くなったことに基づく見かけ上の有意差と考えられ、さらに、発生起源の異なる腫瘍を区別して発生頻度をみた場合、有意差は認められなかった。また、対照群でもほぼ100%に気管支肺炎 (雄93.3%、雌96.7%) がみられ、その他に脳膿瘍、髄膜炎、胸膜炎、心嚢炎、肝膿瘍、腎盂腎炎及び腹膜炎が少なからぬ頻度で観察されたことから、本試験では炎症に伴うリンパ球の増生に関連した腫瘍の発生を考慮すべきであり、雌におけるリンパ腫及び白血病の総発生頻度の増加と投与との関連性はないと考えられる。

また、100,000 ppm投与群の雌で腎盂・尿管癌の発生が有意に増加していたが、これらの腫瘍は刺激性の物質によって石灰化が起り、その結果生じたものと考えられる。このような変化はラットに特異的なものであり、ヒトには外挿できないと考えられる。

その他、投与群に悪性神経鞘腫がみられたが、全体に発生頻度が低く、対照群との有意差はなかった。

以上より、本試験結果からアスパルテームによる腫瘍の誘発はないと評価した。

※5 JECFA で用いられている換算値を用いて摂取量を推定⁶⁷⁾

種	最終体重 (kg)	摂餌量 (g/動物/日)	摂餌量 (g/kg 体重/日)
ラット	0.4	20	50

なお、EFSA (European Food Safety Authority) では、本試験結果について次のように評価している。リンパ腫と白血病の総発生頻度の僅かな増加については、用量相関性がなく、背景にみられている肺の慢性炎症が主な要因である。また、主に雌の腎臓、尿管及び膀胱でみられた増殖性変化については、アスパルテーム投与に特有のものではなく、カルシウム代謝のアンバランスに起因して腎盂の石灰化をきたす化学物質を高用量投与した際にみられるラット特有のものである。さらに、悪性神経鞘腫については、発生数が少なく、用量相関性もない上、腫瘍の診断が不確かである。これらのことから、本試験結果は発がん性の可能性を示唆するものではなく、アスパルテームについて再評価の必要はないとしている⁶⁸⁾。

6. 国際機関等における評価

(1) オーストラリア/ニュージーランド (ANZFA) における評価 (2001)⁶⁹⁾

ネオテームについて実施された各種動物試験及びヒトへの投与試験を評価した結果、ネオテームは、実施した試験の全ての投与量において良好な忍容性を示した。高用量において体重増加抑制がみられたが、この所見は、ネオテームを混合した食餌の嗜好性低下に起因する食餌摂取量の減少に伴うものであり、毒性を示唆するものではなかった。唯一の所見は、イヌ 52 週間反復投与毒性試験における血清アルカリホスファターゼ (ALP) 値の上昇であった。

毒性学的意義は不明であるが、イヌ 52 週間反復投与毒性試験において ALP 値の上昇が認められた用量を影響量とし、NOEL を 200 mg/kg 体重/日、安全係数を 100 とし、一日摂取許容量 (ADI) を 2.0 mg/kg 体重/日と設定した。

(2) 米国食品医薬品局 (FDA) における評価 (2002)⁸⁾

ネオテームについて実施された各種動物試験及びヒトへの投与試験を評価した結果、実施された試験において、毒性学的所見は認められなかった。

ラットを用いた 52 週間反復投与毒性試験において体重増加量抑制がみられた用量を影響量とし、NOEL を 30 mg/kg 体重/日、安全係数を 100 とし、ADI を 0.3 mg/kg 体重/日と設定した。

(3) フランス食品衛生安全局 (AFSSA) における評価 (2004)⁷⁰⁾

ネオテームについて実施された各種動物試験及びヒトへの投与試験を評価した結果、実施された試験において、ネオテームは何ら毒性を惹起しなかった。

イヌの 13 週間及び 52 週間反復投与毒性試験において ALP 値の上昇がみられた用量を影響量とし、NOEL を 60 mg/kg 体重/日、安全係数を 100 とし、暫定 ADI^{*6)} を

^{*6)} イヌにおける 13 週および 52 週間毒性試験において観察された血清アルカリホスファターゼ値の上昇の無影響量 (NOEL) 60 mg/kg 体重/日に安全係数 100 を適用し、ADI 0.6mg/kg 体重/日と設定されたが、追加試験を実施することによって、血清アルカリホスファターゼ活性の

0.6 mg/kg 体重/日と設定した。

(4) JECFA における評価 (2003) ^{71), 72), 73)}

ネオテームについて実施された各種動物試験及びヒトへの投与試験を評価した結果、実施された試験において、ネオテームは何ら毒性を惹起しなかった。

唯一の所見はイヌの 13 週間及び 52 週間反復投与毒性試験における血清 ALP 値の上昇であった。ALP の上昇は緩やかで可逆性であり、肝毒性を示唆するものではなかったが、再現性、統計学的有意差及び用量依存性が認められたことから、イヌの 52 週間反復投与毒性試験において ALP 値の上昇が認められた用量を影響量とし、NOEL を 200 mg/kg 体重/日、安全係数を 100 として、ADI を 0-2 mg/kg 体重/日と設定した。

7. 一日摂取量の推計等

ネオテームは、甘味料として様々な食品に使用されることが推定される。

平成 13 年国民栄養調査成績の食品群別摂取量 (総数) ⁷⁴⁾ をもとに、食品中の砂糖をすべてネオテームに置き換えた場合を仮定し、食品摂取量とネオテームの添加量から算出すると、ネオテームの推定摂取量^{※7} は 3.84 mg/ヒト/日 (体重 50kg として 0.0769 mg/kg 体重/日) となる。同様に、年齢別の食品群別摂取量より、1~6 歳は 3.54 mg/ヒト/日 (0.225 mg/kg 体重/日)、7~14 歳は 4.45 mg/ヒト/日 (0.118 mg/kg 体重/日) と推定される。また、ネオテーム摂取に伴う分解物 NC-00777、NC-00764 及び NC-00779 の一日推定摂取量^{※7} は、それぞれ、0.042 µg/kg 体重/日、0.136 µg/kg 体重/日及び 0.021 µg/kg 体重/日と推定される ^{7), 75)~91)}。

一方、平成 14 年度マーケットバスケット方式による 8 種甘味料の摂取量調査 ⁹²⁾ をもとに、アスパルテームをすべてネオテームで置き換えた場合を仮定し、摂取量をアスパルテームに対するネオテームの甘味度比 40 倍^{※8} で除すると、ネオテームの推定摂取量は 0.146 mg/ヒト/日 (0.00292 mg/kg 体重/日) となる。同様に、英国 ⁹³⁾ 及び米国 ⁹⁴⁾ のアスパルテームの平均及び 90 パーセンタイル^{※9} 摂取量をもとに、甘味度比を

上昇から示唆される肝臓への影響の懸念を払拭できる可能性があることから、追加試験が提出されることを期待して 2 年間の期限付きの暫定 ADI とされた。

※7 平成 13 年国民栄養調査成績の食品群別摂取量 (総数) から食品毎に使用される砂糖の推定摂取量をもとに、ネオテーム添加量の目安値 (甘味の強さを官能的に判断し算出された値) を使い、食品毎に使用が想定されるネオテーム添加量を算出している。ネオテームの分解物については、算出したネオテーム添加量に各分解物の生成率を乗じて算出している。

※8 一般的な食品に使用される場合のアスパルテームの甘味度 (砂糖の 200 倍) とネオテームの甘味度 (砂糖の約 8,000 倍) を基に算出した値 (8000/200=40)。

※9 パーセンタイル値とは、計測値を小さい順に並べたときに、計測値の個数が任意のパーセントの位置にある測定値。例) 1,000 個の測定値における 10 パーセンタイル値とは、計測値の小さい方から 10%(100 番目)に位置する計測値をさす。

31^{※10}として算出すると、ネオテームの平均及び90パーセンタイル推定摂取量は、英国で0.01及び0.05 mg/kg 体重/日、米国で0.04及び0.10 mg/kg 体重/日となる。

なお、ネオテームは、フレーバー増強剤（香料）として、様々な食品に甘味の発現しない低濃度（閾値（4.1 ppm）以下）で使用されることが推定されるが、香料として使用される量は、甘味料として使用する量と比較して著しく少ないと推定され、また、既に甘味料としてネオテームが使用されている食品においては、香料として使用することはないと考えられることから、上記の一日推定摂取量には、香料としての一日推定摂取量が包括されると考えられる。

8. フェニルアラニン摂取量に関する考察

ネオテームは、通常の保存条件下ではフェニルアラニンを遊離しない⁷⁾ことから、ネオテームを摂取することによるフェニルアラニンのリスクは無視できると考えられる。

仮に、ネオテームがすべてフェニルアラニンに変換されると想定した場合、国民栄養調査⁷⁴⁾をもとにした一日推定摂取量から、わが国におけるフェニルアラニンの推定摂取量を算出すると、成人で1.68 mg/ヒト/日（0.034 mg/kg 体重/日）、1～6歳で1.55 mg/ヒト/日（0.098 mg/kg 体重/日）となり、フェニルケトン尿症患者の摂取目安量⁹⁵⁾（1～3歳で40～20 mg/kg 体重/日、3歳以上で35～15 mg/kg 体重/日）の0.7%以下に相当する。

同様に、米国の90パーセンタイルネオテーム一日摂取量から推定されるフェニルアラニンの暴露量は、成人では2.64 mg/ヒト/日であり、健常者が食事から摂取するフェニルアラニンの量2.5～10 g/日と比較すると、ネオテーム摂取から推定される暴露量はごく微量であると考えられる。また、体重20 kg 児では1.50 mg/ヒト/日となり、体重20 kg のフェニルケトン尿症児のフェニルアラニン一日摂取量（0.4～0.6 g/日）の0.4%以下に相当する⁸⁾。これら比較に基づき、米国FDAはネオテーム摂取に由来するフェニルアラニンの摂取量は、安全性上何ら問題ないと結論している。

9. 評価結果

ネオテームの各種動物試験やヒトへの投与試験データを評価した結果、催奇形性、遺伝毒性及び発がん性はなく、本物質の摂取による主な影響は、高用量投与群でみられた体重増加抑制と血清アルカリフォスファターゼ（ALP）の上昇であった。このうち、イヌやラットで認められたALPの上昇については、他の酵素活性は変動せず、かつ、病理組織学的検査等においても投与による影響は認められなかったが、ヒトへの影響を必ずしも完全に否定できるわけではないという安全サイドに立った

※10 米国及び英国におけるアスパルテームの一日摂取量を基に算出した値。一番多い用途である炭酸飲料への平均的な添加量（アスパルテーム550～600 ppm、ネオテーム17 ppm）の比から算出している（550/17=31）。