

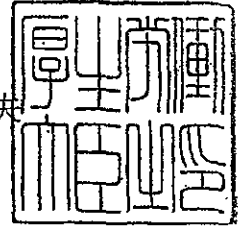
厚生労働省発食安第0309003号

平成 19 年 3 月 9 日

薬事・食品衛生審議会

会長 望月 正隆 殿

厚生労働大臣 柳澤 伯夫



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

次に掲げる動物用医薬品の食品中の残留基準設定について

ニトロフラン類(ニトロフラゾン、ニトロフラントイン、フラゾリドン及
びフラルタドンをいう)

※農薬・動物用医薬品部会報告(案) パブリックコメント平成 19 年 4 月 16 日まで募集

ニトロフラン類 (ニトロフラゾン、ニトロフラントイン、フラゾリドン及びフラルタドン) (案)

1. 概要

(1) 背景

ニトロフラン類(ニトロフラゾン、ニトロフラントイン、フラゾリドン及びフラルタドン)はフラン系の合成抗菌剤であり、動物用医薬品として細菌性感染症の治療等を目的として使用されるが、食用動物への使用は国内及び諸外国において多くで禁止されている。

国際的には、FAO/WHO合同添加物専門家会議(JECFA)において、ニトロフラゾン及びフラゾリドンについては発がん性又は遺伝毒性を有することから「NO ADI」と評価されている(1992年)。また、欧州医薬品審査庁(EMA)において、ニトロフラゾン、ニトロフラントイン及びフラルタドンについてはADIを設定するための情報が不十分であること(1993年)、フラゾリドンについてはNOELが得られないこと及び遺伝毒性が認められることから(1997年)、いずれもAnnex IV¹該当物質として評価されており、それぞれの代謝化合物を含め1 μ g/kgのMRPLs(Minimum Required Performance Limits)²が鶏肉及び水産製品に対して設定されている。

国内においては、過去にニトロフラゾンの代謝物であるセミカルバジド(SEM)及びフラゾリドンの代謝化合物である3-アミノ-2-オキサゾリドン(AOZ)が輸入粉卵から検出されたことから、薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会毒性部会においてこれらの評価がなされている(2003年6月)。その結果、フラゾリドンは遺伝毒性を有する発がん物質である可能性が高いこと、AOZについては*in vivo*及び*in vitro*の遺伝毒性が陽性と判断され発がん性を有する可能性が極めて高いと考えられることから許容一日摂取量(ADI)を設定することは適当でない、ニトロフラゾン及びSEMについては発がん性を示した試験結果があり、そのメカニズムは明らかでないもののADIを設定することは適当ではないとされ、これらが検出された食品はその流通を認めないこととされた。

これらの評価を踏まえ、食品中の残留農薬等に関するポジティブリスト制度の導入に際し、ニトロフラン類については、「食品、添加物の規格基準」(昭和34年厚生省告示第370号)の一般規則5において「食品中に不検出とする農薬等の成分である物質」として規定され、それぞれの代謝化合物を分析対象化合物として規制がなされている(2006年5月)。

一方、近年、SEMが瓶詰め食品から検出され、これがニトロフラゾンに由来するものではなく、金属蓋に装着されているシーリング剤に添加された発泡剤

¹ 食用動物への使用を認めない動物用医薬品のリスト。

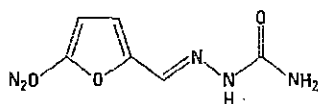
² 基準設定不可能な物質の分析法における不検出の精度を調和させることを目的として設定される検出限界値。

のアゾジカルボンアミドに由来することが明らかとなったことを端緒として、欧州食品安全機関(EFSA)において SEM のリスク評価がなされ(2003年10月、2005年7月)、国内においても複数の *in vivo* 遺伝毒性試験が報告される等、SEM の毒性等に関する新たな知見が得られている。また、カラギーナン、ゼラチン、粉卵等の食品や、食品原料を次亜塩素酸で処理した際、あるいは詳細な生成機構は不明であるが、自然に SEM が生じることも明らかとなっている。

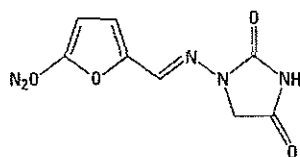
こうした状況を踏まえ、今般、食品安全委員会に対して食品安全基本法第24条第2項の規定に基づきニトロフラン類及びその代謝化合物に係る食品健康影響評価について意見を求め、その評価結果を踏まえてこれら物質の管理措置の見直しを行うものである。

(2) 構造式及び化学名

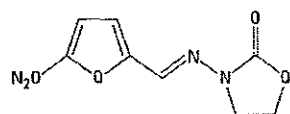
親化合物



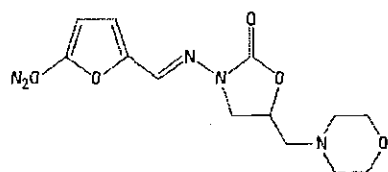
Nitrofurazone
(5-Nitro-2-furfural semicarbazone)
 $C_6H_6N_4O_4$



Nitrofurantoin
(N-(5-Nitro-2-furfurylidene)-1-aminohydantoin)
 $C_8H_6N_4O_5$

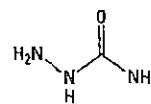


Furazolidone
(3-(5-Nitrofurfurylideneamino)-2-oxazolidinone)
 $C_8H_7N_3O_5$

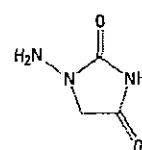


Furaltadone
(5-Morpholinomethyl-3-(5-nitrofurfurylideneamino)-2-oxazolidinone)
 $C_{13}H_{16}N_4O_6$

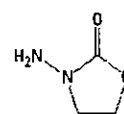
代謝化合物



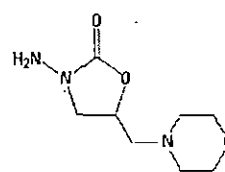
SEM
(Semicarbazide)
 CH_5N_3O



AHD
(1-aminohydantoin)
 $C_3H_5N_3O_2$



AOZ
(3-Amino-2-oxazolidinone)
 $C_3H_6N_2O_2$



AMOZ
(3-Amino-5-morpholinomethyl-2-oxazolidinone)
 $C_8H_{15}N_3O_3$

2. 許容一日摂取量(ADI)評価

食品安全基本法(平成15年法律第48号)第24条第2項の規定に基づき、平成19年1月12日付け厚生労働省発食安第0112018号により、食品安全委員会に対して意見を求めたニトロフラン類に係る食品健康影響評価については、以下のとおり評価されている。

【ニトロフラン類のADIの設定について】

ニトロフラン類は現在フラゾリドン、ニトロフランチン、フラルタドン、ニトロフラゾンを対象として、『食品において「不検出」とされる農薬等の成分である物質』に指定され、これらの代謝物であるAOZ、AHD、AMAZ及びSEMを分析対象化合物として規制が実施されている。

今般提出された資料からは、フラゾリドン及びAOZについては遺伝毒性発がん性を否定できず、ADIを設定することは適当でないとする薬食審の評価を変更する根拠は認められない。

ニトロフランチン及びAHDについては、NTPの報告においてマウス、ラットで発がん性が認められているが、そのメカニズムに関する情報は全く得られていないため、ADIの設定が可能であるかどうかは判断できない。JECFAにおいてはニトロフラゾンの評価書中でニトロフランチンはマウスにおける良性腫瘍の増加に対する影響は否定できず、NOELも求められないと評価され、EMEAにおいてもADI及びMRLを設定せず、食用動物への使用を禁じていることを考慮すると、現時点において、ADIを設定することは適当でないと考えられる。

フラルタドン及びAMAZについては、ほとんど情報が得られていない状況にあり、評価を行うことは出来ない。これらについてEMEAでは、ADI及びMRLは設定せず、食用動物への使用を禁じている。ニトロフラン類の多くが発がん性を疑われる物質であることを考慮すると、必要な科学的知見が得られるまで、ADIを設定することは適当でないと判断するのが適当であると考えられる。

ニトロフラゾンについては、従前の、発がん性のメカニズムは明らかでないものの、入手された資料から見る限り、ADIを設定することは適当でないとする薬食審の評価を変更する根拠は認められない。SEMについては、ニトロフラゾンの使用に伴うもの以外の暴露経路が明らかにされたことを踏まえて、2003及び2005年にEFSAにおいて新たにリスク評価が実施されている。また我が国において、新たに*in vivo*の遺伝毒性試験が報告されたことから、以下に別途考察を行った。

【SEMについて】

上記の通り、現時点において入手された科学的知見からは、ニトロフラゾンについてはADIあるいはTDIの設定は適当でないと判断され、不検出の対象として管理されることが適当である。しかしながら、現在ニトロフラゾンの分析対象とされているSEMについては、ニトロフラゾンの使用の有無にかかわらずいくつかの食品から検出されることが分かっており、SEMそのもののリスクの程度によっては分析対象としては適切でない可能性がある。このことから、厚生労働省からの意見聴取要請にあたって、別途の管理手法を検討していることが示され、あわせてSEMについての評価も求められている。

SEMそのもののリスクについては、発がん性、遺伝毒性、催奇形性の限られた

知見しか得られていない。動物実験で認められた発がん性については、雌マウスで 94~130 mg/kg 体重/日程度という高用量投与で対照群においても認められた肺腫瘍の発生頻度の増加が認められたもので、強いものではないと考えられる。遺伝毒性については、*in vitro* のいくつかの試験では弱い陽性結果が見られるものの、複数の *in vivo* 試験で陰性であり、現時点では *in vivo* において遺伝毒性を有することを示唆する報告はない。このため SEM が *in vivo* において問題となる遺伝毒性を示す可能性は低く、SEM の暴露が EFSA 等で報告されている程度であれば、生体にとって特段問題となる遺伝毒性を示すことはないと考えられる。催奇形性については約 30-40 mg/kg 体重/日の NOAEL が示されており、投与期間や観察項目が不十分であることについても、10 倍程度の安全率を考慮すれば問題がない程度と考えられる。このように、現在得られている知見から SEM について ADI あるいは TDI を設定するに足る十分な知見は得られていないが、その中で現時点において可能と考えられる評価を行うとすると、EFSA で実施されたものと同様、動物実験で認められた各種の知見と、食品から想定される暴露量との比較となる。

EFSA の評価では、体重当たりで最も多く SEM を摂取する可能性があるのは乳児であるが、最悪ケースの推定でもその摂取量は 0.35~1.4 μ g/kg 体重/日であった。この暴露量はマウスで弱い発がん性が認められた用量と少なくとも 5 桁のマージンがある。催奇形性についても 3 桁もしくはそれ以上のマージンがあると記載している。

発がん性と催奇形性に関連する知見が限定的であるが得られているものの、詳細な毒性情報が得られていないと言う状況において実施するものとしては、EFSA が実施した保守的な試算暴露量と、得られている範囲での動物における毒性発現用量との比較をもってリスクの程度を判断する手法は合理性があり、また一定の科学的根拠があるリスク評価であると考えられる。国内における SEM の食品中の含有量、暴露量が EFSA で検討されているものと同程度であれば、暫定的評価として、SEM が毒性影響を示す量と暴露量との MOE³ は大きく、リスクとしては小さいものであると判断できると考えられる。

なお、ニトロフラゾンそのものを測定対象とし、規制する場合は、その代謝物の暴露量も含めて毒性影響が十分に低いレベル、少なくとも SEM について上記で考察された食品中の含有量及びヒトが摂取する暴露量以下になると考えられるレベルの検出感度が得られる分析法を採用すべきである。

【食品健康影響評価について】

以上のことから、ニトロフラン類（フラゾリドン、ニトロフラントイン、フラルタドン、ニトロフラゾン）及びその代謝物である 3-アミノ-2-オキサゾリドン、1-アミノヒダントイン、3-アミノ-5-モルフォリノメチル-2-オキサゾリドンに ADI を設定することは適当でない。

SEM についてはニトロフラゾンの使用にかかわらず複数種の食品から暴露されることが想定されるが、SEM の食品中の含有量、暴露量が EFSA で検討されているものと同程度であれば、SEM が生体に毒性影響を示す量と暴露量との MOE は大きく、リスクとしては小さいものと考えられた。

しかしながら、本評価はあくまで暫定的なものであり、現在得られている知見からは ADI あるいは TDI を設定することは出来ないことから、今後、代謝・毒性

³ Margin Of Exposure ; 暴露マージン

(短期・長期毒性、遺伝毒性、生殖発生毒性等)等の知見の収集が引き続き行われるべきである。

また、国内における SEM の発生源、食品中の含有状況や乳幼児を含めたヒトの食品からの暴露量等について把握し、必要に応じて発生源対策や暴露の低減措置等が行われるべきであることを申し添える。

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。

4. 残留基準の設定

(1) ニトロフラントイン、フラゾリドン及びフラルタドン

食品安全委員会における食品健康影響評価の結果を踏まえ、ニトロフラントイン、フラゾリドン及びフラルタドンについては、食品中に「不検出」とする農薬等の成分である物質として定めるとともに、これらの物質の代謝化合物である AHD、AOZ 及び AMOZ を不検出確認のための分析対象化合物とする現行の管理措置を維持するものとする。

(2) ニトロフラゾン

食品安全委員会における食品健康影響評価の結果を踏まえ、ニトロフラゾンについては、食品中に「不検出」とする農薬等の成分である物質として定めることとする。ただし、その代謝化合物である SEM については、食品健康影響評価の結果を踏まえ、食品中の含有量、暴露量について以下のとおり考察を行った。

① EFSA における食品中の SEM の含有量調査

食品中に検出される SEM の量は瓶詰めベビーフードで高く、EFSA の報告によると、EU 諸国等における瓶詰めベビーフード中の SEM 検出量は以下のとおりとなっている(2005年7月)。

EU 諸国等における瓶詰めベビーフード中の SEM 検出量

調査国等	検体数	平均検出量(検出範囲)
オランダ	40	13 ppb (3-26 ppb)
スペイン	88	16 ppb (1-87 ppb)
フランス	10	— (6-15 ppb)
ドイツ	133	13 ppb (<0.5-140 ppb)
フィンランド	15	11 ppb (<1-28 ppb)
アイルランド	50	7ppb (<1-42 ppb)
スロベニア	12	— (1-17 ppb)
Industrial Group	63	11 ppb (0.1-27 ppb)

— : 平均値不明

調査の結果、各国間の平均検出量、検出範囲に大きな相違は見られず、これらを総合すると、ベビーフード中の SEM 検出量は 385 検体の調査で平均 13 ppb であった。また、果実、野菜、ジャム、ピクルス等の一般食品についての調査結果も各国間で相違は見られず、121 検体の調査で平均 1.0 ppb であった。

② EFSA における SEM の暴露評価

EFSA におけるリスク評価では、体重当たり最も多く SEM を摂取する可能性があるのは乳児であることから、乳児が日常的に摂取する食品のうち SEM を含有する可能性のあるベビーフードや飲料中に含まれる SEM の量を、瓶詰めベビーフードに平均的に含まれる量(13 ppb)と同量であるとのケースを想定し、以下のとおり SEM 暴露量の試算がなされている(2005 年 7 月)。

EU 諸国における乳児のベビーフード等摂取量及び SEM 暴露量 (SEM 含有量 13 ppb)

月齢	平均体重 (kg)	ベビーフード等摂取量		SEM 暴露量	
		平均値 (g/日)	95%上限値 (g/日)	平均値 ($\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日)	95%上限値 ($\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日)
3	5.8	67±65	192	0.15	0.43
6	7.8	195±114	407	0.33	0.68
9	8.8	234±127	464	0.35	0.69
12	9.8	208±128	424	0.28	0.56

この試算によると、9ヶ月齢の乳児における SEM 暴露量は、平均的なベビーフード等の摂取量(234 g/日)で $0.35 \mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日、95%上限値の摂取量(464 g/日)で $0.69 \mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日であるとされている。

一方で、動物実験において影響が認められている SEM の用量は、マウスの発がん性について $100 \text{mg}/\text{kg}$ 体重/日程度であり、最悪のケースを想定しても弱い発がん性が認められた用量と、乳児を含めたヒトの暴露との間には、少なくとも 5 桁の MOE があるとし、食品中に検出される SEM の発がん性によるヒトの健康影響は重要でないと評価されている。また、催奇形性についても 3 桁若しくはそれ以上の MOE があるとしている。

③ 国内における食品中の SEM の含有量及び推定暴露量

平成 15 年度の国内におけるベビーフード中の SEM 含有実態調査によると、市販の瓶詰めベビーフード 38 検体から検出された SEM の平均含有量は約 17 ppb(6-42 ppb)であり、EU 諸国等における調査結果(13 ppb)とほぼ同程度となっている。

一方、国内における乳児のベビーフード等の摂食量の調査結果はないが、国内において 8～11ヶ月齢の乳児を対象として市販されている瓶詰めベビーフ

一ドの摂食目安量は、一般的に一食当たり 100～130 g 程度⁴となっており、これを一日三回摂食するものと仮定した場合(300～390 g/日)、SEM 暴露量は以下のとおり試算される。

国内における乳児の瓶詰めベビーフード摂取量及び SEM 暴露量

月齢	平均体重 (kg)	瓶詰めベビーフード SEM 含有量 (ppb)	瓶詰めベビーフード 摂取量 (g/日)	SEM 暴露量 (μ g/kg 体重/日)
8～11	8.7	17	300～390	0.59～0.76

この結果、国内における乳児の瓶詰めベビーフード摂取による SEM 暴露量は最大で 0.76μ g/kg 体重/日となり、動物実験において発がん性が認められた用量 (100 mg/kg 体重/日) と、乳児を含めたヒトの暴露との間には、EFSA において評価されているものと同様に少なくとも 5 桁の MOE があると考えられ、食品安全委員会の食品健康影響評価の結果を踏まえれば、リスクとしては小さいものと考えられる。

したがって、SEM についてはニトロフラゾンの分析対象から除外し、別途ニトロフラゾンそのものを分析対象化合物とする分析方法を定めることが適当である(別紙)。

⁴ 日本ベビーフード協議会の見解による。

(別 紙)

ニトロフラゾン試験法 (案)

1. 装置

液体クロマトグラフ・質量分析計を用いる。

2. 試薬・試液

次に示すもの以外は、第2 添加物の部C 試薬・試液等の項に示すものを用いる。

アセトニトリル 液体クロマトグラフ用に製造したものを用いる。

水 液体クロマトグラフ用に製造したものを用いる。

3. 標準品

ニトロフラゾン 本品はニトロフラゾン 99%以上を含む。

融点 本品の融点は 238~240°Cである。

4. 試験溶液の調製

a はちみつの場合

検体を均一化した後、その 5.00 g を量り採る。

これに 0.1 mol/l 塩酸 10 ml を加え、溶解する。次いでアセトニトリル 20 ml 及び塩化ナトリウム 5 g を加え、振とう機を用いて 10 分間激しく振り混ぜた後、静置し、アセトニトリル層をすり合わせ減圧濃縮器中に移す。残留物及び水層にアセトニトリル 20 ml を加え、上記と同様に操作して、アセトニトリル層を上記のすり合わせ減圧濃縮器中に合わせる。これに *n*-プロパノール 10 ml を加えて、40°C以下でアセトニトリル及び *n*-プロパノールを除去する。この残留物にメタノール 1.0 ml を加えて溶かし、これを試験溶液とする。

b aに掲げる食品以外の食品の場合

検体を細切均一化した後、その 5.00 g を量り採る。なお筋肉の場合は、可能な限り脂肪層を除いた上で細切均一化を行う。

これにアセトニトリル 30 ml、アセトニトリル飽和 *n*-ヘキサン 20 ml 及び無水硫酸ナトリウム 10 g を加えて細砕した後、毎分 3,000 回転で 5 分間遠心分離し、アセトニトリル層をすり合わせ減圧濃縮器中に移す。アセトニトリル飽和 *n*-ヘキサン層及び残留物にアセトニトリル 20 ml を加え、振とう機を用いて 10 分間激しく振り混ぜた後、毎分 3,000 回転で 5 分間遠心分離し、アセトニトリル層を上記のすり合わせ減圧濃縮器中に合わせる。これに *n*-プロパノール 10 ml を加えて、40°C以下でアセトニトリル及び *n*-プロパノールを除去する。この残留物にメタノール 1.0 ml を加えて溶かし、これを試験溶液とする。

5. 操作法

a 定性試験

次の操作条件で試験を行う。試験結果は標準品と一致しなければならない。

操作条件

カラム充てん剤 オクタデシルシリル化シリカゲル（粒径2～5 μm）を用いる。

カラム管 内径 2.0～6.0 mm、長さ 100～250 mm のステンレス管を用いる。

カラム温度 40℃

移動相 アセトニトリル及び10 mmol/l 酢酸アンモニウムの混液（1:99）から（1:0）までの濃度勾配を35分間で行う。ニトロフラゾンが約20分で流出する流速に調整する。

b 定量試験

a 定性試験と同様の操作条件で得られた試験結果に基づき、ピーク高法又はピーク面積法により定量を行う*。

※ 定量限界：0.001 ppm

(答申案)

食品安全委員会の食品健康影響評価の結果を踏まえ、セミカルバジドについてはニトロフラン類の分析対象から除外し、以下に示すニトロフラゾンそのものを分析対象化合物とする分析法を定めることが適当である。

ニトロフラゾン試験法

1. 装置

液体クロマトグラフ・質量分析計を用いる。

2. 試薬・試液

次に示すもの以外は、第2 添加物の部C 試薬・試液等の項に示すものを用いる。

アセトニトリル 液体クロマトグラフ用に製造したものを用いる。

水 液体クロマトグラフ用に製造したものを用いる。

3. 標準品

ニトロフラゾン 本品はニトロフラゾン 99%以上を含む。

融点 本品の融点は 238~240℃である。

4. 試験溶液の調製

a はちみつの場合

検体を均一化した後、その 5.00 g を量り採る。

これに 0.1 mol/l 塩酸 10 ml を加え、溶解する。次いでアセトニトリル 20 ml 及び塩化ナトリウム 5 g を加え、振とう機を用いて 10 分間激しく振り混ぜた後、静置し、アセトニトリル層をすり合わせ減圧濃縮器中に移す。残留物及び水層にアセトニトリル 20 ml を加え、上記と同様に操作して、アセトニトリル層を上記のすり合わせ減圧濃縮器中に合わせる。これに *n*-プロパノール 10 ml を加えて、40℃以下でアセトニトリル及び *n*-プロパノールを除去する。この残留物にメタノール 1.0 ml を加えて溶かし、これを試験溶液とする。

b a に掲げる食品以外の食品の場合

検体を細切均一化した後、その 5.00 g を量り採る。なお筋肉の場合は、可能な限り脂肪層を除いた上で細切均一化を行う。

これにアセトニトリル 30 ml、アセトニトリル飽和 *n*-ヘキサン 20 ml 及び無水硫酸ナトリウム 10 g を加えて細砕した後、毎分 3,000 回転で 5 分間遠心分離し、アセトニトリル層をすり合わせ減圧濃縮器中に移す。アセトニトリル飽和 *n*-ヘキサン層及び残留物にアセトニトリル 20 ml を加え、振とう機を用いて 10 分間激しく振り混ぜた後、

毎分 3,000 回転で 5 分間遠心分離し、アセトニトリル層を上記のすり合わせ減圧濃縮器中に合わせる。これに *n*-プロパノール 10 ml を加えて、40℃以下でアセトニトリル及び *n*-プロパノールを除去する。この残留物にメタノール 1.0 ml を加えて溶かし、これを試験溶液とする。

5. 操作法

a 定性試験

次の操作条件で試験を行う。試験結果は標準品と一致しなければならない。

操作条件

カラム充填剤 オクタデシルシリル化シリカゲル (粒径 2~5 μm) を用いる。

カラム管 内径 2.0~6.0 mm、長さ 100~250 mm のステンレス管を用いる。

カラム温度 40℃

移動相 アセトニトリル及び 10 mmol/l 酢酸アンモニウムの混液 (1:99) から (1:0) までの濃度勾配を 35 分間で行う。ニトロフラゾンが約 20 分で流出する流速に調整する。

b 定量試験

a 定性試験と同様の操作条件で得られた試験結果に基づき、ピーク高法又はピーク面積法により定量を行う*。

※ 定量限界 : 0.001 ppm

※ 食品安全委員会における評価結果(案) パブリックコメント平成 19 年 4 月 6 日まで募集

動物用医薬品評価書

ニトロフラン類(フラゾリドン、ニトロフラントイン、フラルタドン、ニトロフラゾン)の食品健康影響評価について(案)

2007年3月

食品安全委員会 動物用医薬品専門調査会

〈目次〉

	頁
1. はじめに	3
2. フラゾリドン及びAOZについて	3
3. ニトロフラントイン及びAHDについて	4
4. フラルタドン及びAOMZについて	5
5. ニトロフラゾン及びSEMIについて	5
6. SEMIに関する毒性知見について	6
6-1. 遺伝毒性について	6
6-2. SEMIに係るその他の毒性知見について	9
6-3. ニトロフラゾンに由来しないSEM生成機構及び汚染状況に関する知見	9
6-4. SEMの暴露に係るEFSAの評価について	10
7. 食品健康影響評価について	11

〈審議の経緯〉

平成19年 1月12日	厚生労働大臣から食品健康影響評価について要請
平成19年 1月15日	関係書類の接受
平成19年 1月18日	第174回食品安全委員会（要請事項説明）
平成19年 1月26日	第66回動物用医薬品専門調査会
平成19年 2月23日	第68回動物用医薬品専門調査会
平成19年 3月 8日	第181回食品安全委員会（報告）
平成19年 月 日	国民からの意見情報の募集

〈食品安全委員会委員〉

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

*平成19年2月1日から

〈食品安全委員会動物用医薬品専門調査会専門委員〉

平成19年2月12日から

三森 国敏(座長)	三森 国敏(座長)
井上 松久(座長代理)	井上 松久(座長代理)
青木 宙 津田 修治	青木 宙 寺本 昭二
明石 博臣 寺本 昭二	明石 博臣 長尾 美奈子
江馬 眞 長尾 美奈子	江馬 眞 中村 政幸
大野 泰雄 中村 政幸	小川 久美子 林 眞
小川 久美子 林 眞	渋谷 淳 平塚 明
渋谷 淳 藤田 正一	嶋田 甚五郎 藤田 正一
嶋田 甚五郎 吉田 緑	鈴木 勝士 吉田 緑
鈴木 勝士	津田 修治

〈参考人〉

(器具・容器包装専門調査会) 河村 葉子
 堀江 正一
 (化学物質専門調査会) 太田 敏博

〈専門参考人〉

能美 健彦

要約

ニトロフラン類(フラゾリドン、ニトロフラントイン、フラルタドン、ニトロフラゾン)及びこれらの代謝物である 3-アミノ-2-オキサゾリドン(AOZ)、1-アミノヒダントイン(AHD)、3-アミノ-5-モルフォリノメチル-2-オキサゾリドン(AMOZ)及びセミカルバジド(SEM)について、食品健康影響評価を実施した。評価に用いた資料は薬事・食品衛生審議会評価書(2003年)、JECFA(1992年)及びEFSA(2003、2005年)レポート、EMEA、あるいは国内で実施された各種試験報告書及び公表文献等である。

ニトロフラン類の食用動物への使用は国内及び諸外国の多くで禁止されている。食品衛生法では、ニトロフラン類は、『食品において「不検出」とされる農薬等の成分である物質』に指定され、その代謝物である AOZ、AHD、AMOZ 及び SEM を分析対象化合物として規制が行われていて、今回の評価において SEM を除く各物質は、いずれも ADI を設定することは適当でないと判断された。

SEM については、ニトロフラゾンの使用の有無に係わらず、いくつかの食品から検出されることが判明しており、分析対象としては適切でない可能性がある。SEM そのもののリスクについては、発がん性試験、遺伝毒性試験、催奇形性試験といった限られた試験報告しか得られておらず、ADI あるいは TDI を設定するには不十分である。

しかし、EFSA で実施された、動物実験で認められた各種の知見と食品からの想定される暴露量とを比較考量する方法は、現時点でも可能な評価法であると考えられ、この方法を適すると、SEM を体重当たりで最も多く摂取する可能性がある乳児の最悪ケースでも、発がん性について 5 桁の安全マージン、催奇形性でも 3 桁もしくはそれ以上のマージンが見込まれている。国内における SEM の食品中の含有量、暴露量が EFSA で検討されたものと同程度であれば、暫定的評価として、SEM が毒性影響を示す量と暴露量間の MOE^a は大きく、リスクとしては小さいものであると考えられる。

^a Margin Of Exposure ; 暴露マージン

ニトロフラン類(ニトロフラゾン、ニトロフラントイン、フラゾリドン及びフラルタドンをいう)の食品健康影響評価について(案)

1. はじめに

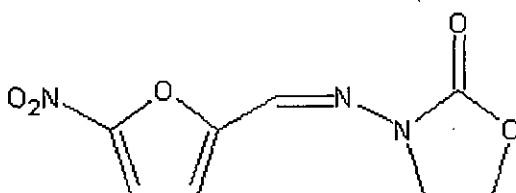
ニトロフラン類はフラン系の合成抗菌剤の総称であるが、食品衛生法においてはいわゆるポジティブリスト制度の導入に伴い、『食品において「不検出」とされる農薬等の成分である物質』に指定され、ニトロフラゾン、ニトロフラントイン、フラゾリドン、フラルタドンがその対象とされている。具体的には、これらの代謝物であるセミカルバジド(SEM)、1-アミノヒダントイン(AHD)、3-アミノ-2-オキサゾリドン(AOZ)及び 3-アミノ-5-モルフォリノメチル-2-オキサゾリドン(AMOZ)を分析対象化合物とした分析法が告示により規定され、これらの規制が実施されているところである。

ニトロフラン類の食用動物への使用は国内及び諸外国においても多くで禁止されている。フラゾリドンとニトロフラゾンについて平成 15 年に過去に厚生労働省の薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会毒性部会(以降薬食審)において評価され⁽¹⁾、フラゾリドンについては遺伝毒性発がん性物質である可能性が高く、その代謝物である AOZ については *in vivo* 及び *in vitro* の遺伝毒性が陽性であり発がん性を有する可能性が極めて高いと考えられることから、1 日摂取許容量(ADI)を設定することは適当でない、ニトロフラゾン及びその代謝物である SEM については発がん性を示した動物試験の結果があり、メカニズムは明らかでないものの ADI を設定することは適当でないとされている。ニトロフラントイン、フラルタドンについては国内で評価された事例はない。

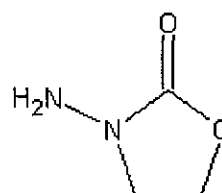
国際的には JECFA においてフラゾリドンについては遺伝毒性発がん性が否定できないこと、ニトロフラゾンについては発がん性に関する NOEL が得られていないことから ADI は設定されていない⁽²⁾⁽³⁾。EMEA においてはニトロフラゾン、ニトロフラントインについては ADI、MRL を設定するための情報が不十分、フラルタドンについては情報がないこと、フラゾリドンについては NOEL が得られないこと及び遺伝毒性が認められることからいずれも AnnexIV(食用動物への使用を認めない動物用医薬品)該当物質と評価され⁽⁴⁾⁽⁵⁾、1µg/kg の MRPLs (Minimum Required Performance Limits) が、鶏肉及び水産製品について設定されている⁽⁶⁾。一方、SEMについては近年ニトロフラゾンに由来するものだけではなく、アゾジカルボンアミドを使用したプラスチックガスケットや、カラギーナン、ゼラチン、粉卵等の食品あるいは食品原料を次亜塩素酸塩で処理した際、あるいは詳細な生成機構は不明であるが、自然にも生じることが明らかとなり、2003 年 10 月及び 2005 年 7 月に EFSA が評価を実施している⁽⁷⁾⁽⁸⁾。また、国内においても複数の *in vivo* 遺伝毒性試験が新たに実施されている。

このため、今般厚生労働省より、ニトロフラン類及びその代謝物についての暫定基準の評価に当たり、特に SEM の遺伝毒性及び現時点におけるリスクを含めた食品健康影響評価を行うことが食品安全委員会に依頼されたものである。

2. フラゾリドン及び AOZ について⁽¹⁾⁽³⁾⁽⁴⁾⁽⁵⁾



フラゾリドン



AOZ

フラゾリドン及びその主要な代謝物である AOZ については、過去に薬食審において JECFA あるいは EMEA において評価された試験成績の総括がなされており、その概要は次の通りである。

○フラゾリドン

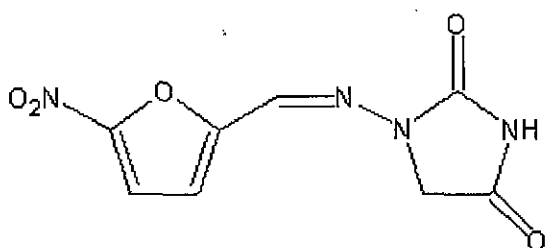
発がん性については、SwissMBR/ICR マウスを用いた混餌投与による試験において、24mg/kg 体重/日以上の投与群の雌雄で気管支癌、雄でリンパ肉腫の増加、Fischer ラット又は Sprague-Dawley ラットを用いた混餌投与による試験において、Fischer ラットでは 12.5mg/kg 体重/日投与群の雌で良性又は悪性の乳腺腫瘍の増加、25mg/kg 体重/日以上投与群の雌雄で皮脂腺腺腫及び甲状腺腺腫、雄で基底細胞腫及び基底細胞がんの増加、50mg/kg 体重/日投与群の雌で乳腺腫瘍の増加、Sprague-Dawley ラットでは 50mg/kg 体重/日投与群の雌で乳腺腫瘍の増加、雄で中枢神経系の星状膠細胞腫の増加が認められた。遺伝毒性については、*in vitro* の DNA 修復試験、Ames 試験、ほ乳類培養細胞を用いた UDS 試験、遺伝子突然変異試験、SCE 試験、及び染色体異常試験等が実施されほとんどの試験において陽性反応が認められ、*in vivo* ではキイロショウジョウバエを用いた伴性劣性致死試験で陽性、マウスを用いた小核試験は不明瞭であった。これらのことから、フラゾリドンは遺伝毒性を有する発がん物質である可能性が高い。

○AOZ

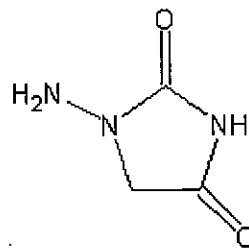
発がん性については評価されていないが、遺伝毒性について *in vitro* の Ames 試験(-S9 の *Salmonella typhimurium* TA100, TA1535, TA98, TA1537 及び±S9 の *E. coli* WP2uvrA)、ヒトの末梢リンパ球を用いた染色体異常試験(-S9)、*in vivo* のマウスを用いた小核試験で陽性を示したことから、発がん性を有する可能性は極めて高い。

これらのことから、フラゾリドン及び AOZ については入手された資料から見る限り、ADI を設定することは適当でないと考えられると評価している。この評価は現時点の JECFA、EMEA の評価とも矛盾が無く、今般の評価依頼に当たって、これらの結論を変更するに足りる新たな知見は提出されていないことから、この評価結果を見直す必要はないものと考えられる。

3. ニトロフラントイン及び AHD について^{(2),(4),(9)}



ニトロフラントイン



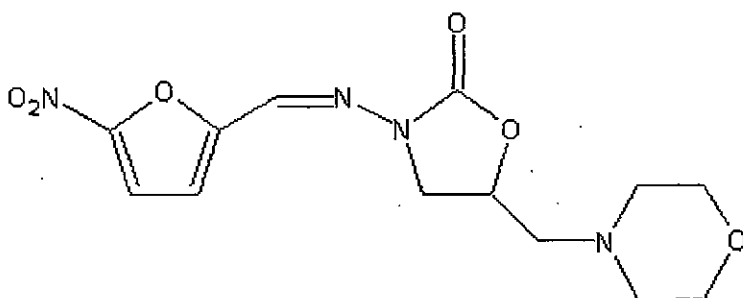
AHD

ニトロフラントイン及びその主要な代謝物である AHD については、国内における評価はない。ニトロフラントインについては米国 NTP において B6C3F₁ マウス及び F344/N ラットを用いた 2 年間の発がん性試験が実施されており、その結果 B6C3F₁ マウスの雄及び F344/N ラットの雌では発がん性を示す証拠はない(no evidence of carcinogenic activity)が、B6C3F₁ マウスの雌では卵巣で管状腺腫(tubular cell adenoma)、良性混合腫瘍(benign mixed tumor)、顆粒膜細胞腫(granulosa cell tumor)の増加 (clear evidence of carcinogenic activity)、及び F344/N ラットの雄ではまれにしか認められない腎臓の尿細管上皮由来の腫瘍(tubular cell neoplasms)の増加 (some evidence of carcinogenic activity)が示されたとしている。また、JECFA のニトロフラントインの評価書中でニトロフラントインはマウスにおいて卵巣で良性腫瘍が増加し、卵巣の萎縮に伴う二次的影響と思われるものの、ニトロフラン類の影響は否定できず、NOEL も求められないと記載されている。EMEA ではニトロフラントインについては情報が不足しており、ADI 及び MRL を設定せず食用動物への使用を認めない動物用医薬品リストに収載している。また、2006 年の Big Blue マウスの種々の臓器における導入 *c II* 遺伝子の突然変異試験の論文報告では、腎臓において弱いながら有意な変異プラーク数の増加が認められたとされている⁽¹⁰⁾。

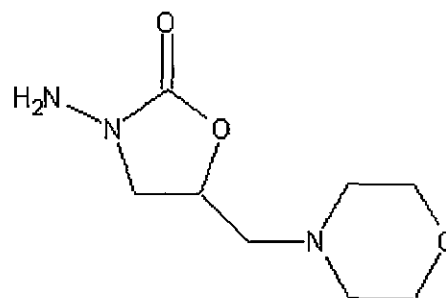
AHD については情報が得られていない。

今般の評価依頼に当たって、これらの結論を変更するに足る新たな知見は提出されておらず、発がん性が否定できず及びそのメカニズムも明確でないことから、ニトロフラントイン及び AHD について ADI を設定することは適当でないと考えられる。

4. フラルタドン及び AMOZ について⁽⁴⁾



フラルタドン

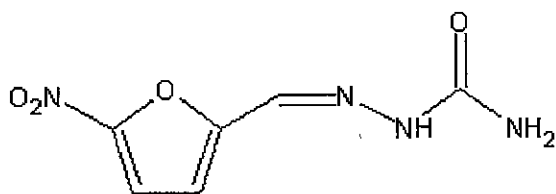


AMOZ

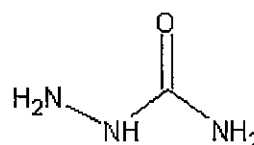
フラルタドン及び AMOZ については、国内や JECFA における評価、NTP による発がん性試験等の情報は得られていない。EMEA においてはフラルタドンについては情報がないため、ADI 及び MRL は設定せず食用動物への使用を認めない動物用医薬品リストに記載するとしている。

このように、フラルタドン及び AMOZ については、ほとんど情報が得られていない状況にあり、評価を行うことは出来ない。EMEA で ADI 及び MRL を設定せず、食用動物への使用を禁じていること、ニトロフラン類の多くが発がん性を疑われる物質であることを考慮すると、必要な科学的知見が得られるまで、ADI を設定することは適当でない判断するのが適当であると考えられる。

5. ニトロフラゾン及び SEM について^{(1),(2),(4)}



ニトロフラゾン



SEM

ニトロフラゾン及びその主要な代謝物である SEM については、過去に薬食審において JECFA あるいは EMEA において評価された試験成績の総括がなされており、その概要は次の通りである。

○ニトロフラゾン

発がん性については、B6C3F₁ マウスを用いた混餌投与による 2 年間の試験において、14mg/kg 体重/日以上の投与群の雌で卵巣萎縮、卵巣胚上皮過形成、卵巣顆粒膜細胞腫、卵巣の良性混合腫瘍の増加、Holtzman 雌ラットを用いた混餌投与による試験において 36 週間の 150mg/kg 体重/日の投与、あるいは 53 週間の 75mg/kg 体重/日以上以上の投与で良性乳腺腫瘍の増加、CFE ラットを用いた混餌投与(50-55mg/kg 体重/日)による 45 週間の試験において、雌で良性の乳腺腫瘍の増加、F344/N ラットを用いた混餌投与による

2年間の試験において、11mg/kg体重/日以上投与群の雌で乳腺線維腺腫の増加(腺がんは増加せず)が認められた。遺伝毒性については、*in vitro* のDNA損傷試験、Ames試験、ほ乳類培養細胞を用いた復帰突然変異試験、SCE試験及び染色体異常試験が実施され全てにおいて陽性反応が認められているが、*in vivo* では染色体異常試験、小核試験では陰性であった。

OSEM

発がん性については、Swissマウスの0.0625%SEM・HClの飲水投与^bによる試験において、雌に弱いながらも血管由来の腫瘍と肺腫瘍の増加、ddマウスの雌を用いた7ヶ月の混餌投与(0.1%SEM・HCl)試験で肺腫瘍の増加が認められた。ラットにおいては発がん性は認められない、あるいは評価するのに不十分な報告であった。遺伝毒性については*in vitro* のAmes試験では*S. typhimurium* TA1535の-S9条件下で弱い陽性反応が認められたが、TA1537、1538、98、100では陰性であった。*in vitro* では³²P標識DNAを用いたDNA損傷試験においてCu(II)存在下でDNA付加体の形成が認められた。*in vivo* では雄Swissマウスにおける肝及び肺のDNAアルカリ溶出法では陰性であった。

これらのことから、「ニトロフラゾン及びSEMについては発がん性を示した試験結果があり、発がん物質であると考えられる。発がん性のメカニズムは明らかでないものの、入手された資料から見る限り、ADIを設定することは適当でないと考えられる」と評価している。なお、SEMのIARCにおける評価はグループ3「人に対する発がん性について分類できない(Not classifiable as to its carcinogenicity to humans)」である。⁽¹¹⁾

ニトロフラゾンについては、今般の評価依頼に当たって、これらの結論を変更するに足る新たな知見は提出されていないことから、この評価結果を見直す必要はないものと考えられる。

一方、SEMについては、ニトロフラゾンの使用以外に、アゾジカルボンアミドを使用したプラスチックガasketや、カラギーナン、ゼラチン、粉卵等の食品あるいは食品原料を次亜塩素酸塩で処理した際、あるいは詳細な生成機構は不明であるが、自然にも生じることが明らかとなり、新たにEFSA等でより詳細なリスク評価が実施されている。また、国内においても*in vivo*の遺伝毒性試験が新たに実施され、その結果が報告されている。これらの知見に基づきSEMについては従前の評価を見直す必要があるかについても検討する必要があると考えられることから、毒性知見、ニトロフラゾンに由来しないSEMの生成機構及び汚染状況に関する知見等について以下にとりまとめを行った。

6. SEMに関する毒性知見について

6-1. 遺伝毒性について

これまでに報告されている遺伝毒性に関する主な報告は次の通りである。

in vitro 試験

試験	対象	投与量	結果
Ames	<i>S. typhimurium</i> TA1535, TA1537, TA1538, TA98, TA100	623~9988 µg/plate(±S9)	TA1535で陽性 ⁽¹²⁾
	<i>S. typhimurium</i> TA1535, TA1537, TA98, TA100, <i>E. coli</i> WP2 <i>uvrA</i>	62~5000 µg/plate(±S9)	TA1535, TA100で陽性 ⁽¹³⁾
染色体異常	チャイニーズハムスター卵巣(CHO)細胞(試験1)	75~600 µg/mL, (+S9; 4+14hr)	陰性 ⁽¹⁴⁾
		75~1115 µg/mL, (-S9; 4+14hr)	
	チャイニーズハムスター卵巣(CHO)細胞(試験2)	200~900 µg/mL, (-S9; 18hr, 32hr)	陰性 ⁽¹⁴⁾
		200~900 µg/mL, (+S9; 4+14hr, 28hr)	
前進突然変異(MLA)	L5178Y マウスリンパ腫細胞	0.013~10 mmol/L(±S9)	陽性 ⁽¹⁵⁾

^b SEM摂取量は雄4.8mg/匹/日、雌3.3mg/匹/日と推測されており、雌の体重を25~35g、雄の体重を30~40gとした場合おおよそ120~160mg/kg体重/日、94~130mg/kg体重/日

³² P-DNA 損傷試験	ヒト c-Ha-ras-1, p53、(Cu(II)存在下)	10~100µmol/L	損傷陽性 ⁽¹⁶⁾
--------------------------	--------------------------------	--------------	----------------------

in vivo 試験

試験系	試験対象	投与量	結果
不定期 DNA 合成	ラット肝	500, 2000 mg/kg, 単回経口投与	陰性 ⁽¹⁷⁾
小核	マウス骨髄	62.5, 125, 250 mg/kg/日, 2 日間	陰性 ⁽¹⁸⁾
突然変異試験 (lacZ 導入遺伝子)	雄 Muta™ Mouse 肝臓、肺	0, 12.5, 25.0, 50.0, 100mg/kg/日 28 日間強制経口	陰性 ⁽¹⁹⁾

① Ames 試験^{(12),(13)}

Parodiらの論文では、*S. typhimurium* TA1535, TA1537, TA1538, TA98, TA100 の5菌株について、8.3, 17, 43, 67, 133µmol/plate(623, 1277, 2553, 5032, 9988µg/plateに相当)の用量でS9代謝活性化系存在下及び非存在下の試験が行われ、TA1535のS9非存在下で陽性であったと報告されている。得られた復帰変異株数については、対照群(H₂O)の11±2に対し、67µmol/plate(5031µg/plate)のSEMで61±28であった。同報告中の他のヒドラジン誘導体では、Nialamideでは4.2µmol/plateで2586±203、ヒドラジン水和物では10µmol/plateで74±19、Isoniazidでは146µmol/plateで61±15と報告されている。なお、この復帰変異株数はラット肝臓あるいはマウス肝臓のS9存在下では減少した。また、133µmolの処理は細胞毒性を示した。

EFSAの報告では、*S. typhimurium* TA1535, TA1537, TA98, TA100及び*E. coli* WP2 *uvrA*の5菌株について、62, 185, 556, 1667, 5000µg/plateの用量でS9代謝活性化系存在下及び非存在下の試験が行われており、S9非存在下において、TA1535の556µg以上、TA100の1667µg以上で陽性であったと報告されている。これらで認められた復帰変異株数については、最大でTA1535では対照群(34±1)の16倍(548±131)、TA100(215±39)で3倍(624±44)であり、WP2 *uvrA* (40±5)は2倍に達していなかった(72±9)。この復帰変異株数はいずれもS9存在下では減少した。なお、陽性対照群はTA1535, TA100ではsodium azide 1.0µg/plateで525±39, 733±27、WP2*uvrA*ではN-ethyl-N-nitrosourea 100µg/plateで192±6であった(いずれも-S9)。また、S9存在下の5000µgの処理はTA1537, TA100, WP2 *uvrA*について細胞毒性を示した。2005年のEFSAの評価ではこの他に4つの報告が紹介されているが、いずれも陰性である。

このことから、SEMはその程度は弱いものの、Ames試験では特定の細菌株に対し陽性を示すと考えられる。なお、復帰変異が認められたのはいずれも塩基置換型の栄養要求性変異株^c(TA1535, TA100, WP2 *uvrA*)であり、フレームシフト型の変異株^d(TA1537, TA98)についてはいずれも陰性であった。

②染色体異常試験⁽¹⁴⁾

チャイニーズハムスター卵巣(CHO)細胞を用いた2つの独立した試験が行われ、試験1では75, 150, 300, 600µg/mLの用量、試験2では200, 400, 600, 700, 800, 900µg/mLの用量で、S9代謝活性化系存在下及び非存在下の試験が実施されているが、いずれも陰性であったと報告されている。また、本試験に先立って実施された用量設定試験においてS9非存在下の1115µg/mLの処理はmitotic index(分裂指数)^eを著しく低下させることが確認されている。

なお、試験1、試験2を通じて、S9存在下の300µg/mL以上の用量の短時間処理(4時間被験物質処理+14時間培養)では、endoreduplication^fが認められていた。ただし、これは4時間処理+28時間培養では認められなかった。

^c 基本的にDNAの1塩基対の変異により栄養要求性となった変異株。

^d DNAの塩基対に欠失あるいは挿入の変異が起こり栄養要求性となった変異株。遺伝暗号は3塩基対で1アミノ酸を指すことから、塩基対数の変化は変異部位以降の遺伝情報を大幅に書き換えることになる。

^e ある細胞集団の中で、細胞分裂を行っている細胞の割合のこと。この場合の分裂指数の低下は細胞に毒性影響があることを示唆している。

^f 全ての染色体が倍加(2本ずつ並ぶ)した状態をいう。

このことから、SEMはCHO細胞に染色体異常を示さないと考えられる。

③前進突然変異 (MLA)⁽¹⁵⁾

L5178Y マウスリンパ腫細胞の Tk-locus を用い、0.013, 0.026, 0.053, 0.11, 0.21, 0.42, 0.84, 1.7, 2.4, 3.4, 4.9, 7.0, 10mmol/L の用量で S9 代謝活性化系存在下及び非存在下の試験が行われており、S9 非存在下の 1.7, 4.9, 7.0, 10mmol/L、S9 存在下の 10mmol/L の用量で陽性であったと報告されている。この陽性所見は 4.9mmol/L 以上では用量依存的であった。

本報告において陽性の判定は変異の発生が、①対照群と比較して細胞 1,000,000 あたり 50 以上増加し、②用量依存的な反応が認められるか、再現性が認められる場合、とされている。S9 非存在下では 4.9, 7.0, 10mmol/L で用量依存的に、62, 106, 262 の変異の増加が認められており、この判定条件に合致していた。なお、1.7, 2.4, 3.4mmol/L における変異頻度の増加は 56, 48, 41 であり、この用量では用量依存性は認められなかった。また、変異コロニーサイズの割合では、特に小コロニーの増加は認められず、染色体異常誘発性を示唆する所見は認められなかった。

このことから、SEMは MLA において陽性を示すと考えられる。

④DNA 損傷試験⁽¹⁶⁾

³²P で 5'末端をラベルしたヒト c-Ha-ras-1 または p53 遺伝子のフラグメントを 10, 20, 50, 100μmol/L の SEM とインキュベートし、ゲル電気泳動により DNA 断片化の有無が検討され、Cu(II)存在下で、DNA の断片化が検出されたとしている。断片化はインキュベート後のピペリジン処理の有無にかかわらず検出されたが、処理により断片化の度合いは進行した。ピペリジン処理の有無にかかわらず DNA 断片化が起こったことから、Cu(II)依存性の SEM による DNA 損傷は DNA 鎖のバックボーンの切断を起こしていることが示唆され、また、同処理によって切断が促進されたことから塩基の修飾も同時に起こしていると考えられる。また、水酸化ラジカルスカベンジャーは断片化を阻害せず、メチオナル、カタラーゼ、bathocuproine により断片化が部分的に阻害されたことから、過酸化水素と Cu(I) が DNA 損傷に関与していることが示唆された。

このことから、SEMは *in vitro* の Cu(II)存在下において DNA に損傷を与えると考えられる。しかしながら、通常 Cu は *in vivo* では染色体に強固に結合しており、イオンとしては存在しないことから、この現象の重要性は不明である。

⑤ *in vivo* 不定期 DNA 合成試験(UDS 試験)⁽¹⁷⁾

本試験に先立って毒性予備試験が実施され、被験物質の推定最大耐量が 2000mg/kg、雌雄間で毒性影響に差が認められなかったとされている。このことから本試験は、最大投与量 2000mg/kg、雄ラットのみを対象として実施された。

雄 SD ラットに 500, 2000mg/kg の用量で単回経口投与し、投与後 2~4 時間(短時間処理)又は 12~16 時間(長時間処理)後に単離した肝細胞を用いた UDS 試験が行われ、いずれも陰性であった。核当たりのグレイン数(net)は、長時間処理では陽性対照群で 15.5 ± 7.1 に対し 2000mg/kg で 0.0 ± 0.8 、短時間処理では陽性対照群で 23.7 ± 1.7 に対し 2000mg/kg で 0.0 ± 0.8 と報告されている。

2005 年の EFSA の評価でも類似の試験報告が紹介されているが陰性である。

このことから、SEMはラットを用いた *in vivo* の UDS 試験において陰性であると考えられる。

⑥ *in vivo* 小核試験⁽¹⁸⁾

本試験に先立って毒性予備試験が実施され、被験物質の推定最大耐量が 250mg/kg、雌雄間で毒性影響に差が認められなかったとされている。このことから本試験は、最大投与量 250mg/kg、雄ラットのみを対象として実施された。

雄 ICR 系マウスに 62.5, 125, 250mg/kg/day の用量を 24 時間感覚で 2 回強制経口投与し、最終投与約 24 時間後に採取した骨髄について観察が行われ、いずれも陰性であった。なお、試験期間中に実験動物の死

亡や一般状態の異常は認められなかった。

このことから、SEM はマウスを用いた *in vivo* の小核試験において陰性であると考えられる。

⑦トランスジェニックマウスを用いた遺伝子突然変異試験⁽¹⁹⁾

Muta™ Mouse(雄各 6 匹/群⁵)に SEM・HCl 溶液を 28 日間強制経口(0、12.5、25.0、50.0、100mg/kg 体重/日)投与し、肝臓及び肺における導入 lacZ 遺伝子の突然変異試験が実施されている。肝臓、肺抽出 DNA とともにいずれの用量においても変異プラーク数の増加は認められなかった。一方、陽性対照である 7,12-ジメチルベンズ[α]アントラセンでは変異プラーク数の優位な増加が認められた。これらのことから、100mg/kg 体重/日までの SEM の経口投与は Muta™ Mouse の肝臓及び肺に対して遺伝子突然変異を誘発しなかった。

以上のように、SEM は *in vitro* のいくつかの試験において弱い陽性結果を示すものの、*in vivo* の複数の試験においてはいずれも陰性であった。

6-2. SEM に係るその他の毒性知見について

遺伝毒性、発がん性の他に、¹⁴C-標識 SEM のラットにおける吸収・排泄試験、不完全であるが SD ラットにおける催奇形性に関連した知見が得られている。

吸収・排泄については 2004 年に Cj:CD(SD)IGS 系雄ラットに ¹⁴C-標識 SEM を 0.1、1、10mg/kg を単回強制経口投与した試験が実施されている。C_{max} は 86.1、832、8049ng-eq/mL、T_{max} は 0.67、1.0、1.0 時間、T_{1/2} は 16、21、17 時間であった。排泄は主として尿中で投与後 168 時間までに 84.3、81.7、87.1%、糞には 6.9、9.4、3.7%、呼気には 4.7%、4.3%、4.1%が排泄され、体内には 2.0、1.1、1.3%が残存していた。投与後 30 分の全身オートラジオグラムからは、消化管内容物、腎臓、大動脈、胃及び肝臓で血液より高い放射能が認められた。他は、いずれも血液と同定度か低い放射能を示した。放射能はその後経時的に低下し、72 時間後には靭帯、大動脈で認められ、小腸、褐色脂肪、皮膚、肺、腎臓、骨髄、血液及び精巣で痕跡程度認められたのみで、特に特定臓器への蓄積などは認められていない。⁽²⁰⁾

SD ラットにおける催奇形性に関連した知見は、1972 年にラチロゲン^hについて実施された試験に含まれている。SD ラットに 5、10、25、50 あるいは 100mg/日の SEM・HCl を妊娠 10-16 日あるいは 12-15 日に強制経口投与し、出産予定 1 日前に剖検し、吸収胚及び胎児の口蓋裂の有無が確認されている。吸収胚の発生率は 3、0、3、38、56%、生存胎児の口蓋裂発生頻度は 0、0、43、95、100%であった。この試験における NOAEL は 10mg/日(約 30-40mg/kg 体重/日)であった。この試験は投与期間が器官形成期の全期間をカバーしておらず、内臓及び骨奇形は評価されていない等、限定的である。^{(8)、(21)}

6-3. ニトロフラゾンに由来しない SEM 生成機構及び汚染状況に関する知見

SEM は動物用抗菌剤であるニトロフラゾンの代謝物として生成することが確認されており、EU では畜水産食品中の SEM を指標として、ニトロフラゾンの使用の有無の判断材料としている。

一方、近年になってプラスチックガasketを使用した容器中の食品から SEM が検出されることが明らかとなり、その後の調査でこれはニトロフラゾンではなく、プラスチックガasketの製造工程で発泡剤として使用されるアゾジカルボアミド(azodicarbonamide)に由来すると考えられることが報告されている⁽⁷⁾。食品中に検出される量は瓶詰めめのベビーフードで高く、EFSA の 2005 年に報告によると、オランダでは 40 検体の調査で平均 13ppb(3-26ppb)、スペインでは 88 検体の調査で平均 16ppb(1-87ppb)、フランスでは 10 以上の検体の調査で 6-15ppb の範囲、ドイツでは 133 検体の調査で平均 13ppb(<0.5-140ppb)、フィンランドでは 15 検体の調査で平均 11ppb(<1-28ppb)、アイルランドでは 50 検体の調査で平均 7ppb(<1-42ppb)、スロベニアでは 12 検体の調

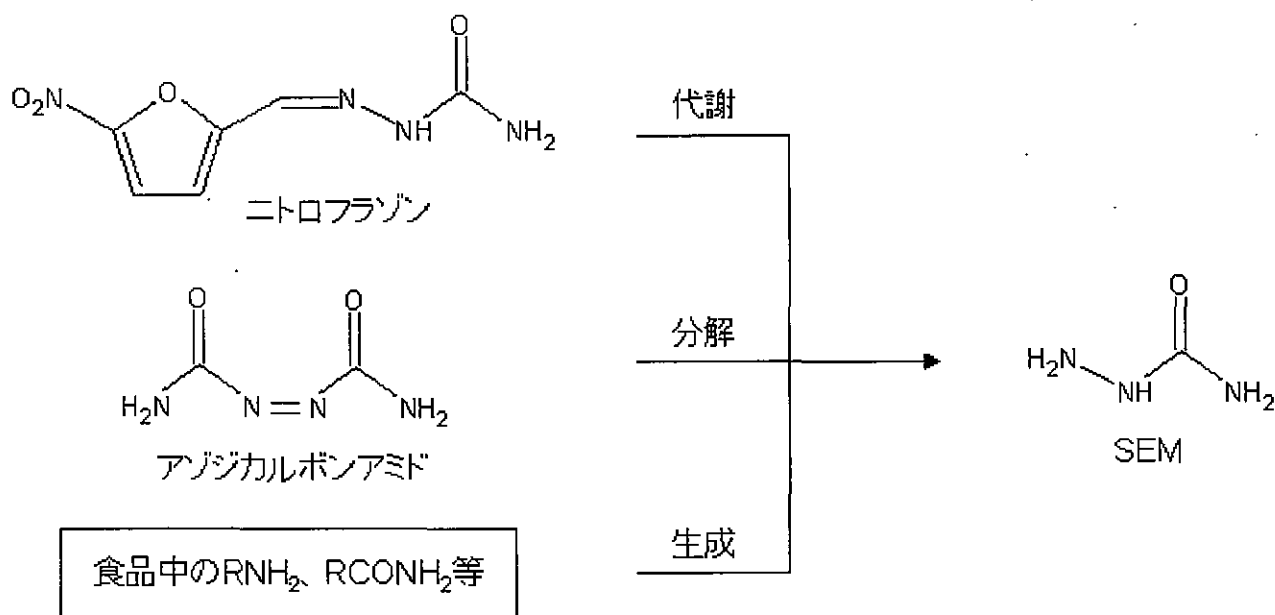
⁵ 解析は各 5 匹について実施。

^h ラチリウム(Lathyrus sativus を主食とする地域に流行する疾患で、実験的には被験物質の投与により、実験動物に骨疾患型が生じる)を誘発できる物質

査で1-17の範囲、工業界の報告では63検体の調査で平均11ppb(0.1-27ppb)であった。試験法の差はあるが、これらベビーフードについての結果を平均すると385検体の調査で平均13ppbであった。一方、その他の種々の食品についての結果を平均すると121検体の調査で平均1.0ppbであった。⁽⁸⁾

国内については、ベビーフードについて瓶詰め38検体、凍結乾燥食品4品目、レトルト4品目について実施され、瓶詰め食品から平均17ppb(6-42ppb)のSEMが検出されている。凍結乾燥、レトルト食品については定量限界(5ppb)未満であった。⁽²²⁾

さらに、最近になって、食品の加工処理あるいは自然にも微量であるがSEMが生成し、食品中に残留する可能性のあることが示唆されてきている。例えば、カラギーナンについては実験的に原材料の海草(Red seaweed)で0.2ppb、これを乾燥させると2ppb、粗精製処理で6.5ppb、漂白処理で68ppb、最終的なカラギーナンで0.6ppbのSEMが検出されたとしている。また、凍結乾燥した海草(Black seaweed)から1.1ppb、加熱処理したエビ(prawns)から1.6ppb、小エビ(shrimps)から0.9ppb、卵から0.6ppb、粉乳から0.2ppbのSEMが検出されている。さらには、実験的には、食品あるいは食品原料を次亜塩素酸塩で処理した際にはより多くのSEM(0-450ppb)が生じることが示唆されている。これらのように、いずれも微量ではあるが、SEMは天然に含有され、あるいは通常の食品の加工処理によっても生じている可能性が高い。⁽²³⁾



6-4. SEMの暴露に係るEFSAの評価について

上記のように、2003年以降、SEMが一部のガスカート、食品の殺菌、漂白、加熱、乾燥等の処理、あるいは詳細な生成機構は不明であるが、自然にも生じることが明らかになってきている。EFSAは2003年に予備的評価を実施していたが、その後SEMの食品中の汚染状況、生成条件、分析法等の情報を収集し、2005年に想定される暴露実態とその状況におけるリスク評価を実施している。

その結果、最も多くSEMを摂取する可能性があるのは乳児であり、暴露量の最悪のケースを推定したところ、9ヶ月の乳幼児(体重8.8kg)が13μg/kgのSEMを含有した食品や飲料を平均的な234g/日の摂取した場合で0.35μg/kg体重/日、95%上限値である464g/日の摂取で0.69μg/kg体重/日であり、体重4.5kgの乳児が9μg/kgのSEMを含有した包装済みの瓶詰めミルクを700mL摂取した場合は1.4μg/kg体重/日とされている。

一方、動物実験において影響が認められている用量は、マウスの発がん性について100mg/kg体重/日程度であり、最悪のケースを想定しても、弱い発がん性が認められた用量と、乳幼児を含めたヒトの暴露との間には、少なくとも5桁のマージンがあるとし、食品中に検出されるSEMの発がん性によるヒトの健康影響は重要でないと評価している。また、催奇形性についても3桁もしくはそれ以上のマージンがあると記載している。

なお、国内の状況については、平成 15 年度の国内におけるベビーフード中の SEM 含有量実態調査によれば、試買された瓶詰め食品 38 品目から検出された SEM の平均含有量は約 17ppb(6-42ppb)であり、EFSA の知見(平均 13ppb)とほぼ同様となっている。

7. 食品健康影響評価について

【ニトロフラン類の ADI の設定について】

ニトロフラン類は現在フラゾリドン、ニトロフラントイン、フラルタドン、ニトロフラゾンを対象として、『食品において「不検出」とされる農薬等の成分である物質』に指定され、これらの代謝物である AOZ、AHD、AMOZ 及び SEM を分析対象化合物として規制が実施されている。

今般提出された資料からは、フラゾリドン及び AOZ については遺伝毒性発がん性を否定できず、ADI を設定することは適当でないとする薬食審の評価を変更する根拠は認められない。

ニトロフラントイン及び AHD については、NTP の報告においてマウス、ラットで発がん性が認められているが、そのメカニズムに関する情報は全く得られていないため、ADI の設定が可能であるかどうかは判断できない。JECFA においてはニトロフラゾンの評価書中でニトロフラントインはマウスにおける良性腫瘍の増加に対する影響は否定できず、NOEL も求められないと評価され、EMEA においても ADI 及び MRL を設定せず、食用動物への使用を禁じていることを考慮すると、現時点において、ADI を設定することは適当でないと考えられる。

フラルタドン及び AMOZ については、ほとんど情報が得られていない状況にあり、評価を行うことは出来ない。これらについて EMEA では、ADI 及び MRL は設定せず、食用動物への使用を禁じている。ニトロフラン類の多くが発がん性を疑われる物質であることを考慮すると、必要な科学的知見が得られるまで、ADI を設定することは適当でないと判断するのが適当であると考えられる。

ニトロフラゾンについては、従前の、発がん性のメカニズムは明らかでないものの、入手された資料から見る限り、ADI を設定することは適当でないとする薬食審の評価を変更する根拠は認められない。SEM については、ニトロフラゾンの使用に伴うもの以外の暴露経路が明らかにされたことを踏まえて、2003 及び 2005 年に EFSA において新たにリスク評価が実施されている。また我が国において、新たに *in vivo* の遺伝毒性試験が報告されたことから、以下に別途考察を行った。

【SEM について】

上記の通り、現時点において入手された科学的知見からは、ニトロフラゾンについては ADI あるいは TDI の設定は適当でない判断され、不検出の対象として管理されることが適当である。しかしながら、現在ニトロフラゾンの分析対象とされている SEM については、ニトロフラゾンの使用の有無にかかわらずいくつかの食品から検出されることが分かっており、SEM そのもののリスクの程度によっては分析対象としては適切でない可能性がある。このことから、厚生労働省からの意見聴取要請にあたって、別途の管理手法を検討していることが示され、あわせて SEM についての評価も求められている。

SEM そのもののリスクについては、発がん性、遺伝毒性、催奇形性の限られた知見しか得られていない。動物実験で認められた発がん性については、雌マウスで 94~130mg/kg 体重/日程度という高用量投与で対照群においても認められた肺腫瘍の発生頻度の増加が認められたもので、強いものではないと考えられる。遺伝毒性については、*in vitro* のいくつかの試験では弱い陽性結果が見られるものの、複数の *in vivo* 試験で陰性であり、現時点では *in vivo* において遺伝毒性を有することを示唆する報告はない。このため SEM が *in vivo* において問題となる遺伝毒性を示す可能性は低く、SEM の暴露が EFSA 等で報告されている程度であれば、生体にとって特段問題となる遺伝毒性を示すことはないと考えられる。催奇形性については約 30-40mg/kg 体重/日の NOAEL が示されており、投与期間や観察項目が不十分であることについても、10 倍程度の安全率を考慮すれば問題がない程度と考えられる。このように、現在得られている知見から SEM について ADI あるいは TDI を設定するに足る十分な知見は得られていないが、その中で現時点において可能と考えられる評価を行うとすると、EFSA で実施されたものと同様、動物実験で認められた各種の知見と、食

品から想定される暴露量との比較となる。

EFSA の評価では、体重当たりで最も多く SEM を摂取する可能性があるのは乳児であるが、最悪ケースの推定でもその摂取量は 0.35～1.4 μ g/kg 体重/日であった。この暴露量はマウスで弱い発がん性が認められた用量と少なくとも 5 桁のマーヅンがある。催奇形性についても 3 桁もしくはそれ以上のマーヅンがあると記載している。

発がん性と催奇形性に関連する知見が限定的であるが得られているものの、詳細な毒性情報が得られていないと言う状況において実施するものとしては、EFSA が実施した保守的な試算暴露量と、得られている範囲での動物における毒性発現用量との比較をもってリスクの程度を判断する手法は合理性があり、また一定の科学的根拠があるリスク評価であると考えられる。国内における SEM の食品中の含有量、暴露量が EFSA で検討されているものと同程度であれば、暫定的評価として、SEM が毒性影響を示す量と暴露量間の MOE¹は大きく、リスクとしては小さいものであると判断できると考えられる。

なお、ニトロフラゾンそのものを測定対象とし、規制する場合は、その代謝物の暴露量も含めて毒性影響が十分に低いレベル、少なくとも SEM について上記で考察された食品中の含有量及びヒトが摂取する暴露量以下になると考えられるレベルの検出感度が得られる分析法を採用すべきである。

【食品健康影響評価について】

以上のことから、ニトロフラン類(フラゾリドン、ニトロフラントイン、フラルタドン、ニトロフラゾン) 及びその代謝物である 3-アミノ-2-オキサゾリドン、1-アミノヒダントイン、3-アミノ-5-モルフォリノメチル-2-オキサゾリドンに ADI を設定することは適当でない。

SEM についてはニトロフラゾンの使用にかかわらず複数種の食品から暴露されることが想定されるが、SEM の食品中の含有量、暴露量が EFSA で検討されているものと同程度であれば、SEM が生体に毒性影響を示す量と暴露量間の MOE は大きく、リスクとしては小さいものと考えられた。

しかしながら、本評価はあくまで暫定的なものであり、現在得られている知見からは ADI あるいは TDI を設定することは出来ないことから、今後、代謝・毒性(短期・長期毒性、遺伝毒性、生殖発生毒性等)等の知見の収集が引き続き行われるべきである。

また、国内における SEM の発生源、食品中の含有状況や乳幼児を含めたヒトの食品からの暴露量等について把握し、必要に応じて発生源対策や暴露の低減措置等が行われるべきであることを申し添える。

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。

¹ Margin Of Exposure ; 暴露マーヅン

<参考文献>

- (1) ; 薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会毒性部会取りまとめ(平成 15 年 6 月 27 日)
- (2) ; Nitrofurural (Nitrofurazone) (WHO Food Additives Series 31)
- (3) ; Furazolidone (WHO Food Additives Series 31)
- (4) ; COMMITTEE FOR VETERINARY MEDICINAL PRODUCTS ; NITROFURANS SUMMARY REPORT
- (5) ; COMMITTEE FOR VETERINARY MEDICINAL PRODUCTS ; FURAZOLIDONE SUMMARY REPORT
- (6) ; COMMISSION DECISION of 13 March 2003 ; amending Decision 2002/657/EC as regards the setting of minimum required performance limits (MRPLs) for certain residues in food of animal origin
- (7) ; Statement of the Scientific Panel on Food Additives, Flavourings, Processing Aids and Materials in Contact with Food updating the advice available on semicarbazide in packaged foods (Adopted on 1 October 2003)
- (8) ; Opinion of the AFC Panel related to Semicarbazide in food
- (9) ; Toxicology and Carcinogenesis Studies of Nitrofurantoin (CAS No. 67-20-9) in F344/N Rats and B6C3F₁ Mice (Feed Studies)
- (10) ; Quillardet P et al : Organ-targeted mutagenicity of nitrofurantoin in Big Blue transgenic mice. ; Mutagenesis. 2006 Sep;21(5):305-11
- (11) ; IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Man (1976)
- (12) ; Parodi S, et al ; DNA-damaging Activity *in vivo* and Bacterial Mutagenicity of Sixteen Hydrazine Derivatives as Related Quantitatively to their Carcinogenicity : Cancer Res. 1981(41), 1469-1482
- (13) ; Bacterial reverse mutation test with Semicarbazide ; TNO report V 5005/11 (2004)
- (14) ; Chromosomal aberration test with Semicarbazide in Chinese Hamster Ovary(CHO) cells ; TNO report V 5002/09 (2004)
- (15) ; Gene mutation test at the TK-locus of L5178Y cells with Semicarbazide ; TNO report V 5003/09 (2004)
- (16) ; Hirakawa K, et al. : Carcinogenic semicarbazide induces sequence-specific DNA damage through the generation of reactive oxygen species and the derived organic radicals ; Mut. Res. 2003(536), 91-101
- (17) ; 平成 15 年度セミカルバジドの調査及び毒性試験 ; セミカルバジドの *in vivo* ラット肝不定期 DNA 合成試験
- (18) ; 平成 15 年度セミカルバジドの調査及び毒性試験に係る試験等 ; セミカルバジドのマウスを用いる小核試験
- (19) ; 平成 15 年度食品・添加物等規格基準に関する試験検査等 ; セミカルバジドのトランスジェニックマウスを用いる遺伝子突然変異試験
- (20) ; 塩酸セミカルバジドの動態試験 ; ラットにおける ¹⁴C-塩酸セミカルバジド単回経口投与時の吸収、分布及び排泄
- (21) ; Steffek AJ et al ; Cleft palate in rodents after maternal treatment with various lathyrogenic agents. : Teratology. 1972 Feb;5(1):33-8.
- (22) ; 平成 15 年度食品・添加物等規格基準に関する試験検査等の実施について ; ベビーフード中のセミカルバジド含有量実態調査
- (23) ; Hoenicke K et al ; Formation of semicarbazide (SEM) in food by hypochlorite treatment: is SEM a specific marker for nitrofurazone abuse? ; Food Addit Contam. 2004 Jun;21(6):526-37.