

体重、摂餌量及び飲水量についても、投与による影響は認められず、むしろ50,000ppm 投与群の摂餌量は対照群よりも多く、特に雌では体重増加が対照群を上回った。

投与量と相関のあった変化は、血清総タンパクの低下(2,000及び10,000 ppm 投与群の雌、50,000 ppm 投与群の雌雄)、A/G比の上昇(10,000及び50,000 ppm 投与群の雄)であった。血清総タンパクの低下については、血液学的検査等(赤血球数、ヘマトクリック値及びヘモグロビン値)の値に異常が認められないことから、血液希釈によるものではないと考えられた。また、A/G比の上昇は背景データの範囲内であり、偶発的なものと考えられた。

剖検や器官重量においては、投与に起因する変化は認められなかった。

病理組織学的検査では、50,000 ppm 投与群の雄1例に肝臓の好酸性細胞小増殖巣が認められたが、それ以外に投与に起因する変化は認められなかった。

#### (4) 6ヶ月間亜急性毒性試験(イヌ)

イヌ(純系ビーグル種、雌雄各4匹/群)を用いた精製級ノシヘプタイド(937 mg(力価)/g)の6ヶ月間反復経口投与(0、9.4、46、234 mg(力価)/kg体重)による亜急性毒性試験が実施された。

投与群及び対照群の平均体重と摂餌量は、試験期間を通じてほぼ同様であり、死亡例も認められなかった。一般臨床上の観察では、46 mg(力価)/kg体重投与群と234 mg(力価)/kg体重投与群に、黄色糞便の排泄がときおり認められたが、その他の臨床徴候は認められなかった。

剖検所見では、9.4 mg(力価)/kg体重投与群の雄1例に肺の肉芽腫、46 mg(力価)/kg体重投与群の雌1例に眼瞼の瞬膜におけるリンパ様組織の肥厚が認められたが、投与量との相関性はなく、その他の変化も認められなかった。

臓器重量では、9.4 mg(力価)/kg体重投与群の雄の精巣、46 mg(力価)/kg体重投与群の雄の腎臓、46 mg(力価)/kg体重投与群の雌の卵巣、肝臓及び子宮における相対重量の増大、46 mg(力価)/kg体重投与群の雌の甲状腺における絶対重量の減少が認められたが、投与量との相関性がないことから、投与による影響とは考えられなかった。また、組織学的検査では、腎臓、肝臓及び前立腺の間質に限局性の単球細胞の浸潤が認められたが、投与量との相関性はなかった。また、腫瘍は認められなかった。

以上のことから、ノシヘプタイドの234 mg(力価)/kg体重以下の投与について、イヌに対する毒性影響は認められなかった。

#### 4. 慢性毒性試験及び発がん性試験

慢性毒性試験及び発がん性試験は実施されていない。

## 5. 生殖発生毒性試験

### (1) 発生毒性試験 (マウス)

マウス (ICR 系、雌 25 匹/群) を用いて妊娠 6~15 日目に精製級ノシヘプタイド (965 mg (力価) /g) の強制経口投与 (0、193、965、4,825 mg (力価) /kg 体重) による発生毒性試験が実施された。

母動物については、193 mg (力価) /kg 体重以上の投与群では、胎盤重量に軽度ではあるが有意な減少が認められたが、用量依存性は認められず、偶発的な変化であると考えられた。また、193 mg (力価) /kg 体重投与群では、母体重、摂餌量及び飲水量に対する影響は認められなかった。965 mg (力価) /kg 体重投与群では、母体重及び摂餌量に影響は認められなかったが、飲水量が投与 7 日後まで有意に増加した。4,825 mg (力価) /kg 体重投与群では、母体重が投与 8~10 日後まで有意に低下したほか、対照群と比較して、飲水量の増加、子宮重量の減少について、有意差が認められた。

胎児については、4,825 mg (力価) /kg 体重投与群で、生存児数が対照群と比較して有意に少なかった。また、頸肋骨の出現率が 965 及び 4,825 mg (力価) /kg 体重投与群で有意に高く、用量依存性の傾向を示したが、外表、内臓及び骨格の異常については、投与群と対照群との間で差が認められなかった。

以上のことから、本試験におけるノシヘプタイドの NOAEL は 193 mg (力価) /kg 体重/日と考えられた。

### (2) 発生毒性試験 (ラット)

① ラット (雌 25 匹/群) を用いて妊娠 5~15 日目に精製級ノシヘプタイド (力価不明) の強制経口投与 (0、50、150、450 mg/kg 体重) による発生毒性試験が実施された。

母動物については、投与期間中の死亡例はなく、投与に起因すると考えられる影響は認められなかった。

胎児については、投与群における胚・胎児毒性及び奇形の発生は認められなかった。

以上のことから、本試験におけるノシヘプタイドの NOAEL は本試験の最高用量である 450 mg/kg 体重/日と考えられた。

② ラット (Crj : CD (SD) 系、雌 24 匹/群) を用いて妊娠 7~17 日目に飼料級ノシヘプタイド (77.0 mg (力価) /g) の強制経口投与 (0、15.4、46.2、154 mg (力価) /kg 体重) による発生毒性試験が実施された。

母動物については、投与群において初期に摂餌量の減少が認められたが、体重は対照群と同様に増加し、一般状態や飲水量にも影響は認められなかった。剖検では、46.2 及び 154 mg (力価) /kg 体重投与群の 2 及び 3 例に盲腸の膨満が認められた。一般に抗生物質の投与により腸内細菌叢が変化し、盲腸が膨

満する場合がある。しかし、肉眼所見では内容物の充満による膨満であり、ガスの貯留や出血等の異常は認められていないこと、発生頻度が低いこと、亜急性毒性試験等において同様な症状が認められていないことから、毒性学的意義は乏しいものと考えられた。また、卵巣及び子宮内胚児の検査では、15.4 mg (力価) /kg 体重投与群において着床前胚死亡率に有意な増加が認められたが、黄体数、着床数、生存胎児数、死亡胚数、生存胎児体重及び性比のいずれについても、投与の影響を示唆する変化は認められなかった。

胎児については、154 mg (力価) /kg 体重投与群で観察された下顎の奇形、迷走右鎖骨下動脈及び肋骨欠損は、自然発生的にもみられる所見であり、発現数も 1~2 例とごく少数であることから、投与に起因する影響ではないと考えられた。その他、外表、内臓及び骨格検査で認められた様々な変異及び奇形については、用量依存性がなく、同系統ラットにおいて自然発生の範囲内であることから、投与とは関係のない変化であると考えられた。また、骨化進行度においても投与による影響を示唆する変化は認められなかった。

以上のことから、本試験におけるノシヘブタイトの NOAEL は本試験の最高用量である 154 mg (力価) /kg 体重/日と考えられた。

### (3) 発生毒性試験 (ウサギ)

ウサギ (日本白色種、雌 12 匹/群) を用いて妊娠 6~18 日目に飼料級ノシヘブタイト (77.0 mg (力価) /g) の強制経口投与 (0、3.85、23.1、154 mg (力価) /kg 体重) による発生毒性試験が実施された。

母動物については、一般状態における投与による毒性学的な影響は認められなかった。23.1 mg (力価) /kg 体重投与群で 4 例、154 mg (力価) /kg 体重投与群で 8 例において、赤褐色尿が妊娠 11 日目から認められたが、妊娠 22 日目までに消失した。これは、排尿直後の尿色調は通常の黄白色を呈していたが、時間の経過 (数分) とともに赤褐色に変色するというものであった。摂餌量及び飲水量については、154 mg (力価) /kg 体重投与群で妊娠 9 日目に減少したが、妊娠 15 日目及び 12 日目以降はそれぞれ対照群と同様に推移した。妊娠 9 日目以降の 154 mg (力価) /kg 体重投与群において、有意差はないものの、体重の増加抑制傾向が認められ、投与の影響が示唆された。また、早産動物が妊娠 28~29 日目に対照群において 2 例、3.85 及び 154 mg (力価) /kg 体重投与群において各 1 例認められた。これらの早産動物は、いずれも妊娠後期から摂餌量の減少又は無摂餌が認められており、妊娠中のウサギは摂餌量の著しい減少による流産が知られていること及び早産動物が対照群にも認められていることから、投与に起因したものではないと考えられた。

胎児については、死亡あるいは吸収胚 (胎児) の発現率や、同腹児数に差が認められないことから、投与による胎児致死作用はないものと考えられた。外表及び内臓検査では、奇形は認められなかった。骨格検査においても、胸骨分節の癒

合は 23.1 及び 154 mg (力価) /kg 体重投与群の各 1 例に認められただけであり、投与による奇形の誘発は認められなかった。また、内臓及び骨格の変異についても、投与による増加は認められなかった。

以上のことから、本試験におけるノシヘプタイトの NOAEL は、母動物については 23.1 mg (力価) /kg 体重/日、胎児については本試験の最高用量である 154 mg (力価) /kg 体重/日と考えられた。

## 6. 遺伝毒性試験

ノシヘプタイトの遺伝毒性に関する *in vitro* 及び *in vivo* 試験の結果は表 4 のとおりであり、全て陰性であった。

他に、ノシヘプタイトは、雄マウス (CD 系) 及び *Salmonella typhimurium* (TA1535、TA1538) を用いた宿主経路試験においても陰性であった。

表 4 遺伝毒性試験の概要

試験	対象	用量等	結果
復帰突然変異試験 ( <i>in vitro</i> )	<i>S. typhimurium</i> TA98、TA100、TA1535、 TA1538	精製級ノシヘプタイト (965 mg (力価) /g) : 3.86~482.5 µg (力価) /plate (965 µg (力価) /plate で供試菌株の生育阻害)	陰性
小核試験 ( <i>in vivo</i> )	ICR 系マウス骨髄細胞	飼料級ノシヘプタイト (89.2 mg (力価) /g) : 0、44.6、89.2、178.4 mg (力価) /kg 体重 (投与 18、24、30 時間後に標本作成)	陰性
小核試験 ( <i>in vivo</i> )	マウス多染性赤血球	精製級ノシヘプタイト (947 mg (力価) /g) : 1,183.8、2,367.5、4,735 mg (力価) /kg 体重 (2 日間強制経口投与)	陰性

## 7. その他の試験

### (1) 飼養試験 (鶏)

① ブロイラー (アーバーエーカー種、雌雄各 12 羽/群) を用いた飼料級ノシヘプタイト (89.2 mg (力価) /g) の混餌投与 (0、50、100 mg (力価) /kg 飼料添加) による餌付けから 56 日間の飼養試験が実施された。

体重は雌雄ともに添加群で多い傾向であり、特に雄では、50 mg (力価) /kg 飼料添加群の各測定時点、100 mg (力価) /kg 飼料添加群の投与 56 日時点に

において有意に高かった。増体重は、対照群と比較して、雄で8~9%、雌で3~5%の増加を示した。

添加群のみにおける一般状態の異常例は、関節障害による脚弱 (50 mg (力価) /kg 飼料添加群の雌 2/12 例、100 mg (力価) /kg 飼料添加群の雌 1/12 例)、主に腹水症によると考えられた腹部膨満 (100 mg (力価) /kg 飼料添加群の雄 1/12 例)、沈鬱 (50 mg (力価) /kg 飼料添加群の雄 1/12 例)、筋胃のびらん又は潰瘍を伴ったそ嚢拡張及び脚弱 (50 mg (力価) /kg 飼料添加群の雌 1/12 例、100 mg (力価) /kg 飼料添加群の雄 1/12 例) であった。しかし、これらの症状はブロイラーに自然発生的にみられること、発生数がごく少数であること、添加群間で発生率に用量依存性が認められないことから、投与とは無関係な偶発所見と考えられた。

臨床病理学的検査所見では、50 mg (力価) /kg 飼料添加群の雌雄において、血糖値の軽度な増加が認められたが、その他の変化は認められず、生理的変動の範囲内であると考えられた。

病理学的検査では、対照群及び添加群の雌に肝臓の黄色化が散見されたが、高栄養のブロイラーでみられる軽度の脂肪肝であると考えられた。

- ② ブロイラー (Pilch-Vantress 系、雌雄各 100 羽/群) を用いた精製級ノシヘプタイトの混餌投与 (0、6、29、63、109、224 mg (力価) /kg 飼料添加) による 0~8 週齢までの飼養試験が実施された。

試験中に死亡した個体及び試験終了後にと殺した個体のいずれにおいても、異常な所見は認められず、添加群における増体重、飼料効率等が対照群と比較して有意に増加した。

- ③ ブロイラー (アーバーエーカー種、雌雄各 15 羽/群) を用いた精製級ノシヘプタイトの混餌投与 (0、2.5、20、125、250 mg (力価) /kg 飼料添加) による 1~8 週齢までの飼養試験が実施された。

臓器重量、血液検査及び解剖所見においても、異常は認められず、育成率及び増体重はともに対照群以上であった。

## (2) 飼養試験 (豚)

- ① 豚 (体重約 20 kg、雌及び去勢雄各 2 頭/群) を用いた精製級ノシヘプタイト (855 mg (力価) /g) の混餌投与 (0、約 17,000 mg (力価) /kg 飼料添加) による 22 日間 (投与前の予備期間 (7 日間)、投与期間 (7 日間)、投与後の回復期間 (8 日間)) の飼養試験が実施された。

添加群と対照群の飼料効率に差は認められなかったほか、異常行動や下痢などの異常も示さず、投与による毒性は認められなかった。添加群において、糞が濃黄色の変色を示したが、この変色は次第に消失した。

- ② 豚 (LW×D の 3 元交配種、36 日齢、対照群：雌雄各 2 頭、添加群：雌雄各 4 頭/群) を用いた精製級ノシヘプタイド (10 mg (力価) /g に調製したもの) の混餌投与 (0、10、500 mg (力価) /kg 飼料添加) による 6 週間の飼養試験が実施された。

添加群の発育成績は対照群よりも優れており、临床上の異常も観察されなかった。また、剖検でも、添加群及び対照群において異常は認められなかった。

- ③ 豚 (LW 系、雄 5 頭/群) を用いた飼料級ノシヘプタイド (89.2 mg (力価) /g) の混餌投与 (0、100、200 mg (力価) /kg 飼料添加) による 13 週間の飼養試験が実施された。

投与期間における一般状態の異常は認められなかった。

投与による影響としては、投与 49 日後の血液生化学的検査において、添加群の尿素窒素量が対照群と比較して有意な高値を示し、用量依存性が認められた。尿素窒素量の上昇は、一般的に腎臓の障害に伴って認められるが、両添加群のいずれの時点においても、腎臓障害に伴って発現する血液生化学的な異常値 (クレアチニン、ナトリウム、カリウム、カルシウム及びクロールの量) が認められなかったほか、投与終了時には添加群と対照群で有意差が認められなかった。一般的に、尿素窒素量は豚の加齢に従って上昇する傾向があるが、投与期間の前半に、添加群では対照群に比較して急速な増体が認められたことから、添加群の尿素窒素量が対照群より早期に上昇したという可能性が考えられた。また、添加群の発育は全試験期間を通じて対照群とほぼ同様に良好であった。

- ④ 豚 (ヨークシャー種、雌雄各 4 頭/群) を用いた精製級ノシヘプタイド (22 mg (力価) /g に調製したもの) の混餌投与 (0、8.5、47.3、194 mg (力価) /kg 飼料添加) による 16 週間の飼養試験が実施された。

47.3 mg (力価) /kg 飼料添加群における血糖の減少、8.5 及び 194 mg (力価) /kg 飼料添加群における白血球数の増加、47.3 及び 194 mg (力価) /kg 飼料添加群における好酸球比率の増加について、各群間に有意差が認められた。臓器重量では、添加群における肝臓相対重量及び脳下垂体相対重量について、有意な減少が認められた。剖検所見及び病理組織学的検査の結果、投与に起因すると考えられる病変は認められなかった。

## 8. その他の知見

### (1) 皮膚等に対する刺激性について

- ① 雄ウサギ (日本白色種) の背部皮膚に対する飼料級ノシヘプタイド投与による皮膚一次刺激性を検討したところ、皮膚に一過性の軽度な刺激反応が 1/6 例

に認められた。

② ウサギの背部皮膚に対する精製級ノシヘプタイド投与による局所毒性を検討したところ、皮膚に黄色の着色が認められた以外、異常は観察されなかったことから、ノシヘプタイドはウサギに対し皮膚刺激性がないものと考えられた。

③ 雄ウサギの結膜及び性器粘膜に対する精製級ノシヘプタイドの皮膚刺激性を検討したところ、その刺激性は小さかった。

④ 雄ウサギ（日本白色種、非洗眼群 6 匹、洗眼群 3 匹）を用いた飼料級ノシヘプタイド投与による眼一次刺激性を検討した。両群ともに、結膜の発赤や浮腫等の症状が認められたが、投与 48 時間後には消失した。両群を比較して症状の程度に明らかな差は見られず、洗眼の有効性は認められなかった。

また、一般状態及び体重については、飼料級ノシヘプタイドの投与による変化は認められなかった。

以上のことから、飼料級ノシヘプタイド投与はウサギの眼に一過性の眼刺激反応を示すと考えられた。

## (2) 皮膚感作性について

① モルモット（Hartley 系、30 匹）を用いた飼料級ノシヘプタイドの皮膚感作性試験を実施した。投与群及び対照群において、投与部位に皮膚の陽性反応は認められず、飼料級ノシヘプタイドは皮膚感作性を示さないと考えられた。

② モルモットを用いた耳—脇腹法による精製級ノシヘプタイドの皮膚感作性試験を実施したところ、精製級ノシヘプタイドは極めて弱い感作性を示すと考えられた。

## 9. 微生物学的影響に関する試験

### (1) 臨床分離菌に対する最小発育阻止濃度（MIC）（参照 3）

平成 18 年度食品安全確保総合調査；動物用抗菌性物質の微生物学的影響調査（平成 18 年 9 月～平成 19 年 3 月実施）において、ヒト臨床分離株等に対するノシヘプタイドの約  $5 \times 10^6$  CFU/spot における MIC が調べられている（表 5）。

表 5 ノシヘプタイドの MIC

菌名	株数	最小発育阻止濃度（ $\mu\text{g/mL}$ ）	
		Nosiheptide	
		MIC <sub>50</sub>	範囲
通性嫌気性菌			

<i>Escherichia coli</i>	30	>128	>128
<i>Enterococcus</i> sp.	30	≤0.06	≤0.06
嫌気性菌			
<i>Bacteroides</i> sp.	30	32	4~64
<i>Fusobacterium</i> sp.	20	>128	>128
<i>Bifidobacterium</i> sp.	30	≤0.06	≤0.06~0.25
<i>Eubacterium</i> sp.	20	0.12	≤0.06~0.25
<i>Clostridium</i> sp.	30	>128	>128
<i>Peptococcus</i> sp./ <i>Peptostreptococcus</i> sp.	30	0.12	≤0.06~0.25
<i>Prevotella</i> sp.	20	0.5	0.12~1
<i>Lactobacillus</i> sp.	30	≤0.06	≤0.06~0.5
<i>Propionibacterium</i> sp.	30	>128	>128

調査された菌種のうち、最も低い MIC<sub>50</sub> が報告されているのは *Enterococcus* sp.、*Bifidobacterium* sp.及び *Lactobacillus* sp.の ≤0.06 µg/mL であり、MIC<sub>calc</sub><sup>8</sup> は 0.000048 mg/mL であった。

### Ⅲ. 食品健康影響評価

#### 1. 毒性学的 ADI について

ノシヘプタイドは慢性毒性試験及び発がん性試験が実施されていないが、生体にとって特段問題となる遺伝毒性を示さないと考えられることから、ADI を設定することが可能であると判断された。

毒性試験において、最も用量の低いところで投与の影響が認められたと考えられる指標は、ウサギを用いた発生毒性試験における母動物の摂餌量及び飲水量の減少、体重増加抑制で、NOAEL 23.1 mg/kg 体重/日であった。

ADI の設定に当たっては、この NOAEL 23.1 mg/kg 体重/日に、安全係数 1,000 (種差 10、個体差 10、慢性毒性試験及び発がん性試験を欠いていることによる追加の 10) を適用するのが適切と考えられ、毒性学的 ADI は 0.023 mg/kg 体重/日と設定された。

#### 2. 微生物学的 ADI について

VICH ガイドラインに基づく新たな試算を行うに足る詳細な知見が、平成 18 年度食品安全確保総合調査 (動物用抗菌性物質の微生物学的影響調査) で得られており、この結果から国際的コンセンサス<sup>9</sup>が得られている手法により微生物学的 ADI を算出することができる。

ノシヘプタイドの MIC<sub>calc</sub> に 0.000048 mg/mL、結腸内容物 220 g、細菌が暴露さ

<sup>8</sup> 試験薬に活性のある最も関連のある属の平均 MIC<sub>50</sub> の 90%信頼限界の下限值

<sup>9</sup> 国内の動物用医薬品の承認申請についても、2006年3月より VICH ガイドラインが採用されている。



れる分画に 100%、ヒト体重に 60 kg を適用し、VICH の算出式に基づいて微生物学的 ADI を算出した場合、下記の通りとなる。

$$\text{ADI} = \frac{0.000048^{*1} \text{ (mg/mL)} \times 220^{*2} \text{ (mL)}}{1.0^{*3} \times 60 \text{ (kg)}} = 0.000176$$
$$= 0.00018 \text{ (mg/kg 体重/日)}$$

\*1: 試験薬に活性のある最も関連のある属の平均 MIC<sub>50</sub> の 90 %信頼限界の下限值

\*2: 結腸内容物

\*3: 動物に対する投与試験の結果から、ノシヘプタイトの大部分が糞中より排泄されることから、腸内細菌叢が暴露される分画としての係数を 1.0 とする

### 3. ADI の設定について

微生物学的 ADI (0.00018 mg/kg 体重/日) は、毒性学的 ADI (0.023 mg/kg 体重/日) よりも十分小さく、毒性学的な安全性を担保していると考えられることから、ノシヘプタイトの残留基準を設定するに際しての ADI としては、0.18 µg/kg 体重/日と設定することが適当であると考えられる。

### 4. 食品健康影響評価

以上より、ノシヘプタイト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と考えられる。

ノシヘプタイト 0.18 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。

<別紙1 検査値等略称>

略称	名称
ADI	一日摂取許容量
A/G 比	アルブミン/グロブリン比
LD <sub>50</sub>	半数致死量
MIC	最小発育阻止濃度
NOAEL	無毒性量
VICH	動物用医薬品の承認審査資料の調和に関する国際協力会議

<参照>

- 1 食品、添加物等の規格基準（昭和 34 年厚生省告示第 370 号）の一部を改正する件（平成 17 年 11 月 29 日付、平成 17 年厚生労働省告示第 499 号）
- 2 コーキン化学株式会社, 飼料添加物 ノシヘプタイドの試験成績等の抄録（抜粋）
- 3 平成 18 年度食品安全確保総合調査：動物用抗菌性物質の微生物学的影響についての調査