参考資料　6

分科会　文書配布による報告品目等

（動物用医薬品関係）

・ アセトアミノフェン（意見聴取）・・・・・・・・・・・・・・ 1-1 ～ 1-57

・ エンロフロキサシン（意見聴取）・・・・・・・・・・・・・・ 2-1 ～ 2-55

・ セフキノム（意見聴取）・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 3-1 ～ 3-38

・ 鶏大腸菌症生ワクチン（意見聴取）・・・・・・・・・・・・・ 4-1 ～ 4-17

・ ラクトフェリン（意見聴取）・・・・・・・・・・・・・・・・ 5-1 ～ 5-36

各剤について

・ 諮問書（厚生労働大臣から薬事・食品審議会会長へ）

・ 評価書（食品安全委員会から厚生労働大臣へ）

と２文書がございます。

厚生労働省発食安１１２０第3号
平成２４年１１月２０日

薬事・食品衛生審議会
会長　望月　正隆　殿

厚生労働大臣　　三井　辨雄

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

アセトアミノフェン

平成２４年１２月２０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２４年１１月２０日付け厚生労働省発食安１１２０第３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項の規定に基づくアセトアミノフェンに係る食品規格（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。

アセトアミノフェン

今般の残留基準の検討については、本剤について動物用医薬品としての製造販売の承認申請がなされたこと及び使用禁止期間の変更について要望書が提出されたことに伴い、薬事法に基づく使用基準の変更について農林水産大臣から意見聴取があったことから、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：アセトアミノフェン[Acetaminophen]
(別名)：パラセタモール[Paracetamol]

（２）用途： 豚/解熱鎮痛薬

アセトアミノフェンは非ピリン系の中枢性解熱鎮痛薬である。シクロオキシゲナーゼ阻害作用と抗炎症作用を持つが、それらの作用は極めて弱く、消化性潰瘍や腎障害などの副作用も少ない。解熱鎮痛を目的に医療用及び一般用医薬品として広く用いられている。

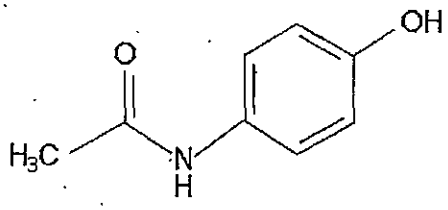
動物用医薬品としては2003年にEUで豚の細菌性肺炎に伴う発熱に対する解熱鎮痛剤として承認・販売されており、日本でも 2011 年に豚の経口投与剤として承認されている。

（３）化学名：

N-(4-hydroxyphenyl)acetamide (IUPAC)

4-hydroxyacetanilide (CAS)

（４）構造式及び物性



分 子 式 ：$C_8H_9NO_2$
分 子 量 ：151.16

（5）適用方法及び用量

アセトアミノフェンの使用対象動物及び使用方法等を以下に示す。

対象動物及び使用方法、使用国、休薬期間となっているものについては、今回薬事法(昭和35年法律第145号)に基づく製造販売の承認及び使用基準の改正について意見聴取がなされたものを示している。

対象動物及び使用方法			使用国	休薬期間
豚	15mg/kgを1日2回、1日間経口投与	飲水添加剤又は飼料添加剤	日本	1日
			EU	0日
	30mg/kg 体重/dayを5日間経口投与	飼料添加剤	日本	1日
			EU	1日

2．対象動物における残留試験

（1）分析の概要

①分析対象化合物

・アセトアミノフェン

②分析法の概要

試料からアセトニトリルで抽出し、*n*-ヘキサンを用いて脱脂した後、液体クロマトグラフ・質量分析計(LC-MS)で定量する。

定量限界　0.01μg/g

（2）残留試験結果

①飲水添加剤（施設Ⅰ及び施設Ⅱ）

豚を用いたアセトアミノフェン(常用量:30mg/kg 体重/day)の1日2回(15mg/kgを6時間間隔)経口投与試験が実施された。

最終投与後1、2及び3日後に4頭/群の豚がと殺され残留濃度を測定した。結果については表1を参照。

表1　豚に1日2回経口投与した際の食用組織中のアセトアミノフェン濃度(単位:μg/g)

施設区分	投与後日数	頭数	筋肉	脂肪	肝臓	腎臓	小腸
Ⅰ	1	4	0.02～0.05	<0.01～0.02	0.02～0.06	0.02～0.05	<0.01～0.03
	2	4	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
	3	4	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
Ⅱ	1	4	0.03～0.07	<0.01～0.02	0.03～0.19	0.03～0.07	0.02～0.04
	2	4	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
	3	4	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

承認申請に当たり実施された試験

②飼料添加剤（施設Ⅲ及び施設Ⅳ）

豚を用いたアセトアミノフェン(常用量:30mg/kg 体重/day)の5日間連続(15 mg/kgを約7時間間隔で1日2回）経口投与試験が実施された。

施設Ⅲにおいては、最終投与後1、2、3、5及び7日後に、施設Ⅳにおいては、最終投与後1、2、3及び5日後に4頭/群の豚がと殺され残留濃度を測定した。結果については表2を参照。

表2　豚に5日間連続経口投与した際の食用組織中のアセトアミノフェン濃度

（単位：μg/g）

施設区分	投与後日数	頭数	筋肉	脂肪	肝臓	腎臓	小腸
Ⅲ	1	4	0.04～0.07	0.01～0.03	0.03～0.10	0.03～0.05	0.02～0.09
	2	4	<0.01～0.03	<0.01～0.01	<0.01～0.04	0.01～0.03	<0.01～0.03
	3	4	<0.01	<0.01～0.01	<0.01～0.02	<0.01～0.02	<0.01～0.03
	5	4	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
	7	4	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
Ⅳ	1	4	0.03～0.16	<0.01～0.06	0.03～0.25	0.02～0.24	0.01～0.21
	2	3*	<0.01～0.01	<0.01～0.01	0.01～0.04	0.01～0.02	<0.01～0.02
	3	3*	<0.01～0.01	<0.01	<0.01～0.02	<0.01～0.02	<0.01
	5	3*	<0.01～0.01	<0.01	<0.01～0.03	<0.01～0.01	<0.01

*：施設Ⅳにおける投与後2、3及び5日のグループのうち各1頭は試験中に本剤添加飼料の残餌が認められたため、データから除外した。

（3）残留最大許容濃度の上限

「薬事法関係事務の取扱について」（平成12年3月31日付け12動薬A第418号農林水産省動物用医薬品検査所長通知）に基づき、直線回帰分析を用いて各残留試験の投与後1日目における残留最大許容濃度の上限（片側での99%上側許容限界に対する95%上側信頼限界）を算出した。分析対象の消失が極めて速やかで、直線回帰分析が適用できなかったデータについては投与後1日目における残留濃度（対数）の平均値に標準偏差の3倍を加算した値を算出した。結果については表3を参照。

表3　投与後1日目における残留最大許容濃度の上限（単位：μg/g）

施設区分	筋肉	脂肪	肝臓	腎臓	小腸
Ⅰ	0.117*	0.034*	0.139*	0.117*	0.073*
Ⅱ	0.133*	0.034*	0.693*	0.132*	0.073*
Ⅲ	0.103*	0.098*	0.3633	0.1772	0.387
Ⅳ	0.528*	0.232*	1.876	1.647*	1.740*

*：直線回帰分析が適用できなかったため、残留濃度（対数）の平均値に標準偏差の3倍を加算した値を算出した

3．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アセトアミノフェンに係る食品健康影響評価について、以下のとおり示されている。

最小毒性量：30mg/kg 体重/day
（動物種）　ラット
（投与方法）　混餌投与
（試験の種類）　発がん性試験
（期間）　104 週間
安全係数：1000
ADI：0.03mg/kg 体重/day

発がん性試験において F344 系ラットに単核細胞性白血病が認められているが、本病変はこの系統のラットに特異的に高い発生率を示すと考えられるため、この試験結果をヒトへ外挿することは適切でないこと及びその他の試験では発がん性は認められていないことから、アセトアミノフェンの ADI を設定することは可能であると考えられた。

アセトアミノフェンは、遺伝子突然変異は起こさないが、高用量では染色体異常を発現させる物質であると考えられる。一方、低用量では解毒代謝等の機構により、その遺伝毒性は検出限界以下に抑制されると考えられた。

4．諸外国における状況

FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議（JECFA）においては評価されておらず、国際基準も設定されていない。

米国、カナダ、欧州連合（EU）、オーストラリア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。なお、EU においては基準値設定不要という規制となっている。

5．基準値案

（1）残留の規制対象

アセトアミノフェンとする。

動物体内において、アセトアミノフェンはグルクロン酸抱合体、硫酸抱合体又はグルタチオン抱合体に代謝され、それらは速やかに体内から排出されることから、アセトアミノフェンを規制対象物質とすることとした。

（2）基準値案

別紙 1 のとおりである。

（3）暴露評価

各食品について基準値案の上限までアセトアミノフェンが残留していると仮定した場合、国民栄養調査結果に基づき試算される、1 日当たり摂取する本剤の量（理論最大 1 日摂取量(TMDI)）の ADI に対する比は、以下のとおりである。詳細な暴露評価

は別紙２参照。

	TMDI／ADI（%）注）
国民平均	1.4
幼小児（1～6歳）	3.0
妊婦	1.5
高齢者（65歳以上）	1.4

注）TMDI試算は、基準値案×各食品の平均摂取量の総和として計算している。

（別紙１）

アセトアミノフェン

食品名	基準値（案） ppm	基準値現行 ppm	最大残留許容濃度の上限 ppm
豚の筋肉	0.6	0.01	0.528
豚の脂肪	0.3	0.01	0.232
豚の肝臓	2	0.01	1.876
豚の腎臓	2	0.01	1.647
豚の食用部分	2	0.01	1.740

（別紙２）

アセトアミノフェンの推定摂取量（単位：μg/人/day）

食品名	基準値案 (ppm)	国民平均 TMDI	幼小児 (1～6歳) TMDI	妊婦 TMDI	高齢者 (65歳以上) TMDI
豚の筋肉	0.6	21.5	13.8	24.1	21.5
豚の脂肪	0.3				
豚の肝臓	2	0.3	0.1	0.3	0.3
豚の腎臓	2	0.1	0.0	0.1	0.1
豚の食用部分	2	0.8	0.5	0.8	0.8
計		22.7	14.4	25.3	22.7
ADI 比（%）		1.4	3.0	1.5	1.4

TMDI：理論最大１日摂取量（Theoretical Maximum Daily Intake）
高齢者及び妊婦については摂取量データの一部がないため、国民平均の摂取量を参考にした。
＊1：筋肉又は脂肪で高い方の基準値×筋肉及び脂肪の摂取量
＊2：摂取量データがないため、推定摂取量は「0」とした。

（参考）

これまでの経緯

平成２１年　１月３０日	農林水産大臣から製造販売の承認及び使用基準の設定に係る意見の聴取 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２２年　６月　３日	食品安全委員会委員長から厚生労働省大臣あてに食品健康影響評価について通知
平成２３年　２月１６日	残留基準告示
平成２３年　４月２８日	農林水産大臣から製造販売の承認及び使用基準の設定に係る意見の聴取 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２３年１１月２４日	食品安全委員会委員長から厚生労働省大臣あてに食品健康影響評価について通知
平成２４年　３月１２日	農林水産大臣から厚生労働大臣あてに使用基準の変更について意見聴取
平成２４年１１月２０日	薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会へ諮問
平成２４年１１月２７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・食品担当主任研究員
○大野　泰雄	国立医薬品食品衛生研究所長
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准教授
佐藤　清	一般財団法人残留農薬研究所業務執行理事・化学部長
高橋　美幸	農業・食品産業技術総合研究機構動物衛生研究所上席研究員
永山　敏廣	東京都健康安全研究センター食品化学部長
廣野　育生	東京海洋大学大学院海洋科学技術研究科教授
松田　りえ子	国立医薬品食品衛生研究所食品部長
宮井　俊一	一般社団法人日本植物防疫協会技術顧問
山内　明子	日本生活協同組合連合会執行役員組織推進本部長
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	東北大学大学院薬学研究科医療薬学講座薬物動態学分野准教授
鰐渕　英機	大阪市立大学大学院医学研究科都市環境病理学教授

答申（案）

アセトアミノフェン

食品名	残留基準値 ppm
豚の筋肉	0.6
豚の脂肪	0.3
豚の肝臓	2
豚の腎臓	2
豚の食用部分[注)]	2

注）「食用部分」とは、食用に供される部分のうち、筋肉、脂肪、肝臓及び腎臓以外の部分をいう。

府食第９２８号
平成２３年１１月２４日

厚生労働大臣
小宮山　洋子　殿

食品安全委員会
委員長　　小泉　直子

食品健康影響評価の結果の通知について

平成２３年４月２８日付け厚生労働省発食安０４２８号第５号をもって貴省から当委員会に意見を求められたアセトアミノフェン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

アセトアミノフェンの一日摂取許容量を 0.03 mg/kg 体重/日とする。

動物用医薬品評価書

アセトアミノフェン

（第２版）

２０１１年１１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 4
○要　約 5

Ⅰ．評価対象動物用医薬品の概要 6
　１．用途 6
　２．有効成分の一般名 6
　３．化学名 6
　４．分子式 6
　５．分子量 6
　６．構造式 6
　７．開発の経緯 6

Ⅱ．安全性に係る知見の概要 6
　１．薬物動態試験 6
　（１）薬物動態試験（ラット、体内分布・静脈内投与） 6
　（２）薬物動態試験（ラット、経口投与） 7
　（３）薬物動態試験（豚、分布・経口投与） 8
　（４）薬物動態試験（豚、分布・混餌投与） 8
　（５）薬物動態試験（豚、血漿中濃度・混餌投与） 9
　（６）薬物動態試験（豚、血漿中濃度・経口投与） 10
　（７）薬物動態試験（豚、血漿中濃度・静脈、経口（ボーラス）、混餌投与） 10
　（８）薬物動態試験（豚、排泄・混餌投与） 11
　（９）薬物動態試験（豚、排泄・経口投与） 12
　（１０）薬物動態試験（豚、排泄・経口投与） 12
　２．残留試験 14
　（１）残留試験（豚、経口投与①） 14
　（２）残留試験（豚、経口投与②） 14
　（３）残留試験（豚、混餌投与①） 15
　（４）残留試験（豚、混餌投与②） 16
　３．急性毒性試験 16
　（１）急性毒性試験（マウス、ラット、モルモット、LD_{50}） 16
　（２）急性毒性試験（イヌ、致死量） 17
　４．亜急性毒性試験 17
　（１）19 日間亜急性毒性試験（ラット） 17
　（２）13 週間亜急性毒性試験（ラット） 18
　（３）13 週間亜急性毒性試験（マウス） 20

（4）14 日間亜急性毒性試験（マウス） ＜参考データ＞ 21
（5）14 日間亜急性毒性試験（ラット） ＜参考データ＞ 21
5．慢性毒性/発がん性試験 21
（1）104 週間発がん性試験（マウス） 21
（2）134 週間発がん性試験（マウス） 22
（3）104 週間発がん性試験（ラット） 23
（4）104 週間発がん性試験（ラット） 24
6．生殖発生毒性試験 25
（1）継続繁殖毒性試験（マウス） 25
（2）繁殖毒性試験（雄ラット） 26
（3）器官形成期投与試験（マウス） 27
（4）器官形成期投与試験（ラット） 27
（5）妊娠末期単回投与試験（ラット） ＜参考データ＞ 28
（6）長期反復投与繁殖試験（マウス） ＜参考データ＞ 28
7．遺伝毒性試験 28
（1）遺伝毒性試験の結果一覧 28
（2）EMEA における遺伝毒性の評価 31
8．一般薬理試験 32
9．ヒトへの影響 33
（1）経口投与試験 33
（2）肝毒性及び腎毒性のメカニズム 33
（3）肝毒性及び腎毒性に関する知見 33
（4）疫学的知見 34

Ⅲ．食品健康影響評価 34
1．毒性学的影響について 34
（1）亜急性毒性試験 34
（2）発がん性試験 35
（3）生殖発生毒性試験 35
（4）遺伝毒性試験 35
（5）ヒトにおける影響 36
2．一日摂取許容量（ADI）の設定について 36
（1）EMEA における評価 36
（2）一日摂取許容量（ADI）の設定について 36

・別紙 1：検査値等略称 38
・参照 39

〈審議の経緯〉

第1版関係

2009年 1月 30日 厚生労働大臣より残留基準設定に係る食品健康影響評価について要請（厚生労働省発食安第0130001号）、関係資料の接受
2009年 2月 5日 第272回食品安全委員会（要請事項説明）
2009年 2月 18日 第107回動物用医薬品専門調査会
2009年 11月 30日 第119回動物用医薬品専門調査会
2009年 12月 22日 第120回動物用医薬品専門調査会
2010年 2月 18日 第320回食品安全委員会（報告）
2010年 2月 18日 より 3月 19日 国民からのご意見・情報の募集
2010年 6月 1日 動物用医薬品専門調査会座長より食品安全委員会委員長へ報告
2010年 6月 3日 第344回食品安全委員会
（同日付で厚生労働大臣に通知）

第2版関係

2011年 5月 10日 厚生労働大臣より残留基準設定に係る食品健康影響評価について要請（厚生労働省発食安第0428第5号）、関係資料の接受
2011年 5月 12日 第381回食品安全委員会（要請事項説明）
2011年 6月 24日 第132回動物用医薬品専門調査会
2011年 9月 6日 動物用医薬品専門調査会座長より食品安全委員会委員長へ報告
2011年 9月 8日 第398回食品安全委員会
（11月24日付で厚生労働大臣に通知）

〈食品安全委員会委員名簿〉

(2009年6月30日まで)	(2011年1月6日まで)	(2011年1月7日から)
見上 彪 (委員長)	小泉 直子 (委員長)	小泉 直子 (委員長)
小泉 直子 (委員長代理*)	見上 彪 (委員長代理*)	熊谷 進 (委員長代理*)
長尾 拓	長尾 拓	長尾 拓
野村 一正	野村 一正	野村 一正
畑江 敬子	畑江 敬子	畑江 敬子
廣瀬 雅雄**	廣瀬 雅雄	廣瀬 雅雄
本間 清一	村田 容常	村田 容常
* : 2007年2月1日から	* : 2009年7月9日から	* : 2011年1月13日から
** : 2007年4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名簿〉

(2009年9月30日まで)

三森　国敏（座長）
井上　松久（座長代理）
青木　宙　　寺本　昭二
今井　俊夫　　頭金　正博
今田　由美子　　戸塚　恭一
江馬　眞　　中村　政幸
小川　久美子　　能美　健彦
下位　香代子　　山崎　浩史
津田　修治　　吉田　緑
寺岡　宏樹

(2010年3月31日まで)

三森 国敏（座長）
寺本 昭二（座長代理）
石川 さと子　　能美 健彦
石川 整　　舞田 正志
小川 久美子　　松尾 三郎
寺岡 宏樹　　山口 成夫
天間 恭介　　山崎 浩史
頭金 正博　　山手 丈至
中村　政幸　　渡邊 敏明

(2010年4月1日から)

三森 国敏（座長）
寺本 昭二（座長代理）
石川 さと子　　福所 秋雄
石川 整　　舞田 正志
小川 久美子　　松尾 三郎
寺岡 宏樹　　山口 成夫
天間 恭介　　山崎 浩史
頭金 正博　　山手 丈至
能美 健彦　　渡邊 敏明

要 約

解熱鎮痛剤である「アセトアミノフェン（CAS No. 103-90-2）」について、各種評価書、動物用医薬品承認申請の添付資料等を用いて食品健康影響評価を実施した。

評価に供した試験成績等は、薬物動態（ラット及び豚）、残留（豚）、急性毒性（マウス、ラット、モルモット及びイヌ）、亜急性毒性（マウス及びラット）、発がん性（マウス及びラット）、生殖発生毒性（マウス及びラット）、遺伝毒性、一般薬理、ヒトへの影響等に関するものである。

試験の結果から、アセトアミノフェン投与による影響は、主に肝臓、腎臓等に対して認められた。遺伝毒性については、アセトアミノフェンは遺伝子突然変異を起こさないが、高用量では染色体異常を発現させうる物質であるとみなされる。しかし、低用量では解毒代謝等の機構により、その遺伝毒性は検出限界以下に抑制されると考えられた。また、残留性を考慮すると、ヒトが食品を通じてアセトアミノフェンに高用量で長期間慢性的に暴露されることはないものと考えられる。また、発がん性については、試験の結果から、F344系ラットに単核細胞性白血病が認められているが、本病変はこの系統のラットに特異的に高い発生率を示すと考えられるため、この試験結果をヒトへ外挿することは適切でないこと及びその他の試験では発がん性は認められていないことから、アセトアミノフェンのADIを設定することは可能であると考えられた。

各種動物における毒性試験の結果、毒性学的影響が見られた最も低い用量は、104週間発がん性試験（ラット）で得られたLOAEL 30 mg/kg体重/日であった。このLOAELに安全係数として個体差10、種差10、LOAELを用いること及び十分な慢性毒性試験を欠くことを考慮した追加の10の1,000を適用し、ADIは0.03 mg/kg体重/日と設定された。

ヒトにおける知見について投与の影響が認められた最も低い用量は、ヒト幼児の薬理学的知見に基づくLOAEL 5 mg/kg体重/日であった。このLOAELに安全係数として個体差10、LOAELを用いることを考慮した追加の10の100を適用し、ADIは0.05 mg/kg体重/日と設定された。

以上より、各種動物における毒性試験から算出したADIがヒトにおける知見から算出したADIと比較して低い値であることから、アセトアミノフェンのADIを0.03 mg/kg体重/日と設定することが適当であると考えられた。

Ⅰ．評価対象動物用医薬品の概要

1．用途

解熱鎮痛剤

2．有効成分の一般名

和名：アセトアミノフェン（別名：パラセタモール）

英名：Acetaminophen（別名：Paracetamol）

3．化学名

CAS（103-90-2）

和名：*N*(4-ヒドロキシフェニル)アセトアミド

英名：*N*(4-Hydroxyphenyl)acetamide

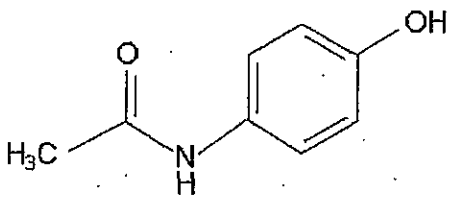
4．分子式

$C_8H_9NO_2$

5．分子量

151.16

6．構造式



7．開発の経緯　（参照 1、2、3）

アセトアミノフェンは 1873 年に合成された非オピオイド系・非ピリン系の中枢性解熱鎮痛薬で、ヒト用医薬品として、1893 年に初めて使用され、日本をはじめ世界中で広く使用されている。動物用医薬品としては 2003 年に EU で豚用の解熱鎮痛剤として承認・販売されており、日本でも 2011 年に豚の経口投与剤（1 日間飲水又は飼料に添加）として承認されている。

今回、豚の経口投与剤（5 日間連続飼料に添加）としての承認申請がなされた。

Ⅱ．安全性に係る知見の概要

1．薬物動態試験

（1）薬物動態試験（ラット、体内分布・静脈内投与）　（参照 4）

ラット（Wistar 系アルビノ、雄、体重 100~150 g）に ^{131}I-標識アセトアミノフェンを静脈内投与（0.6 g/ラット）し、投与 15、30、60 及び 120 分後に RTLC（Radio Thin Layer

Chromatography）により体内分布を調べた。

^{131}I は肺、肝臓、腎臓、膵臓、血液、胃及び脳のある領域で認められた。肺、腎臓、膵臓及び血液の投与 15 分後における放射活性はそれぞれ 1.15、1.02、1.07 及び 2.29 %ID/g[1]であった。また、鎮痛剤の中枢作用からアセトアミノフェンは血液脳関門を通過するものと考えられた。

（2）薬物動態試験（ラット、経口投与）　（参照 5）

ラット（Wistar 系、49 日齢、雄 6 匹/群）に 2 %アセトアミノフェンシロップを経口投与（アセトアミノフェンとして 10、50 及び 100 mg/kg 体重）し、経時的に血漿中濃度、組織中濃度及び尿中排泄を HPLC により検討した。

血漿中の濃度推移及び薬物動態パラメータを表 1 及び 2 に示した。いずれの投与群においてもアセトアミノフェンは約 30 分で C_{max} を示し、投与 24 時間後には検出されなかった。

表 1　ラットのアセトアミノフェン経口投与後における平均血漿中濃度　（μg/mL）

用量 (mg/kg 体重)	投与後時間					
	5 min	30 min	1 h	2 h	6 h	24 h
10	1.82	1.84	0.65	0.06	0.06	N.D.
50	9.86	17.84	9.44	2.14	0.32	N.D.
100	13.95	33.50	24.36	13.96	1.37	N.D.

N.D.：検出されず。　定量限界：0.1 μg/mL　n=6

表 2　ラットのアセトアミノフェン経口投与後における薬物動態パラメータ

用量 (mg/kg 体重)	C_{max} (μg/mL)	AUC (μg・h/mL)	T_{max} (h)	Kel (h^{-1})	$T_{1/2}$ (h)
10	2.34	1.97	0.25	0.595	1.16
50	19.68	23.56	0.25	0.712	0.97
100	33.50	75.73	0.50	0.580	1.19

100 mg/kg 体重投与群における組織中濃度を表 3 に示した。組織中濃度について肝臓、腎臓、肺及び脳に高い分布が認められた。

表 3　ラットのアセトアミノフェン経口投与後における平均組織中濃度　（μg/g 又は μg/mL）

組織	投与後時間					
	5 min	30 min	1 h	2 h	6 h	24 h
血漿	13.95	33.50	24.36	13.96	1.37	0.01
脳	3.40	15.21	19.34	7.64	0.75	N.D.

[1] %ID/g：% injection dose/ g organ（組織重量のグラムあたり放射活性の注射投与量の比率）

胸腺	5.96	10.92	6.66	4.79	0.13	N.D.
心臓	4.93	9.49	8.12	3.41	0.05	N.D.
肺	15.33	15.10	15.44	12.86	0.38	N.D.
肝臓	9.92	20.59	13.65	11.22	1.15	N.D.
腎臓	3.92	17.39	16.21	7.44	1.07	N.D.
脾臓	2.56	16.07	13.72	5.66	0.65	N.D.
膵臓	0.69	17.04	3.94	6.82	N.D.	N.D.
胃	226.61	115.23	100.56	4.98	3.64	0.44
小腸	33.35	4.34	26.20	4.37	0.24	N.D.
筋肉	6.70	22.38	7.27	9.38	0.06	N.D.
精巣	0.67	8.56	14.26	7.30	0.60	N.D.

N.D.:検出されず。 定量限界:0.1 μg/g 又は 0.1 μg/mL n=6

尿中排泄率を表 4 に示した。アセトアミノフェンは主に未変化体、代謝物であるグルクロン酸抱合体（以下「APAP-G」という。）及び硫酸抱合体（以下「APAP-S」という。）として排泄される。いずれの投与群においても APAP-S の排泄率が高い値を示した。

表 4 アセトアミノフェン及びその代謝物の経口投与後 24 時間の累積尿中排泄率

投与量	尿中排泄率（%）			
(mg/kg 体重)	アセトアミノフェン	APAP-G	APAP-S	合計
10	3.56	3.76	61.14	68.46
50	4.25	6.39	71.14	81.79
100	5.59	8.06	65.96	78.62

n=6

（3）薬物動態試験（豚、分布・経口投与） （参照 6）

豚（LWD 種、5 ヶ月齢、去勢雄、3 頭/投与群・1 頭/対照群）にアセトアミノフェン製剤の水溶液を強制経口投与（アセトアミノフェンとして 0 及び 30 mg/kg 体重）し、投与 1 時間後の主要組織中濃度について LC/MS により検討した（定量限界:0.01 μg/g）。

投与 1 時間後の各主要組織中平均濃度（単位：μg/g）は、腎臓（10.97）＞血漿（10.62）＞胆汁（9.87）＞心臓（9.65）＞筋肉（9.30）＞脾臓（8.91）＞小腸（8.37）＞肺（8.25）＞肝臓（5.37）＞脂肪（2.48）の順で検出された。なお、対照群は全試料が定量限界未満であった。

（4）薬物動態試験（豚、分布・混餌投与） （参照 7）

豚（LWD 種、幼若、雌雄各 2 頭/時点）に ^{14}C-標識アセトアミノフェン製剤（アセトアミノフェンとして 30 mg/kg 体重/日）を 1 日 2 回（12 時間間隔）5 日間混餌投与し、最終投与 12、24 及び 72 時間後の主要組織（筋肉、腎臓、肝臓、脂肪付き皮膚）中濃度及び尿中排泄について検討された（定量限界範囲：0.1~0.2 μg/g）。

アセトアミノフェンの各組織中濃度の経時的変化及び平均累積尿中排泄率を表 5 及び

6に示した。

表 5　豚の ^{14}C-標識アセトアミノフェン混餌投与後における平均組織中濃度 (μg/g)

組織	雌雄	最終投与後時間 (h)		
		12	24	72
筋肉	雌	0.78	定量限界前後	定量限界前後
	雄	0.54	0.10	0.19
腎臓	雌	8.58	2.00	1.10
	雄	6.31	2.50	1.27
肝臓	雌	15.72	9.01	7.13
	雄	12.48	11.17	6.28
脂肪付き皮膚	雌	1.49	0.64	0.56
	雄	1.07	0.86	0.52

定量限界範囲：0.1~0.2 μg/g　　n=2

表 6　アセトアミノフェンの平均累積尿中排泄率

最終投与後採尿時間	アセトアミノフェン尿中排泄率 (%)	
	雌	雄
0~24 時間	78.1	81.1
24~48 時間	78.5	81.6
48~72 時間	78.6	81.6

n=2

（5）薬物動態試験（豚、血漿中濃度・混餌投与）　(参照 8)

豚 (LW 種、5~6 週齢、去勢雄、3 頭/群) にアセトアミノフェン製剤を混餌投与 (アセトアミノフェンとして 7.5、15 及び 30 mg/kg 体重) し、投与 0.5、1、1.5、2、3、4、6 及び 9 時間後の血漿中濃度について LC/MS により検討した (定量限界:0.025 μg/mL)。

アセトアミノフェンの平均血漿中濃度の経時的変化及び血漿中薬物動態パラメータを表 7 及び 8 に示した。

表 7　豚のアセトアミノフェン混餌投与後における平均血漿中濃度　(μg/mL)

投与量 (mg/kg 体重)	投与後時間 (h)								
	0	0.5	1	1.5	2	3	4	6	9
7.5	<0.025	2.84	3.52	3.51	2.56	2.29	1.47	0.663	0.266
15	<0.025	4.92	7.47*	6.98	7.49	6.04	4.13	2.14	0.959
30	<0.025	8.96	10.5	11.9	11.0	9.27	5.98	3.10	1.24

*：n=2　　定量限界：0.025 μg/mL　　n=3

表 8　豚のアセトアミノフェン混餌投与後における平均血漿中薬物動態パラメータ

投与量 (mg/kg 体重)	T_{max} (h)	C_{max} (μg/mL)	$AUC_{0-\infty}$ (h・μg/mL)	$T_{1/2}$ (h)
7.5	1.17	3.54	14.2	2.01
15	1.33	7.84	37.9	2.32
30	1.33	13.1	55.8	2.16

n=3

（6）薬物動態試験（豚、血漿中濃度・経口投与）　(参照 9)

豚（LW 種、6~7 週齢、去勢雄、3 頭/群）にアセトアミノフェン製剤の水溶液を強制経口投与（アセトアミノフェンとして 7.5、15 及び 30 mg/kg 体重）し、投与 0.5、1、1.5、2、3、4、6 及び 9 時間後の血漿中濃度について LC/MS により検討した（定量限界：0.025 μg/mL）。

アセトアミノフェンの平均血漿中濃度の経時的変化及び血漿中薬物動態パラメータを表 9 及び 10 に示した。

表 9　豚のアセトアミノフェン経口投与後における平均血漿中濃度　(μg/mL)

投与量 (mg/kg 体重)	投与後時間 (h)								
	0	0.5	1	1.5	2	3	4	6	9
7.5	<0.025	7.09	6.20	5.56	4.46	2.91	1.72	0.799	0.291
15	<0.025	8.31	11.1	11.4	8.91	6.37	4.28	1.98	0.787
30	<0.025	24.9	20.2	17.3	15.8	11.4	7.85	3.28	1.18

定量限界：0.025 μg/mL　　n=3

表 10　豚のアセトアミノフェン経口投与後における平均血漿中薬物動態パラメータ

投与量 (mg/kg 体重)	T_{max} (h)	C_{max} (μg/mL)	$AUC_{0-\infty}$ (h・μg/mL)	$T_{1/2}$ (h)
7.5	0.67	7.25	21.5	1.91
15	1.17	12.7	43.4	1.81
30	0.50	24.9	79.5	1.85

n=3

（7）薬物動態試験（豚、血漿中濃度・静脈、経口（ボーラス）、混餌投与）　(参照 10)

豚（LW 種、14 週齢、5 頭(雄 2 頭及び雌 3 頭)）にアセトアミノフェン製剤を静脈内投与（7.5 mg/kg 体重）、経口投与（ボーラス、14.4 mg/kg 体重）及び混餌投与（15 mg/kg 体重）し、血漿中濃度について HPLC により検討した。採血スケジュールを表 11 に示した。

表 11　採血スケジュール

投与経路	投与後時間
静脈内投与	5、10、15、20、30、45 分、1、1.5、2、3、6、9、12、24 時間
経口投与（ボーラス）	15、30、45 分、1、1.5、2、3、6、9、12、24 時間
混餌投与	30 分、1、1.5、2、3、6、9、12、24 時間

いずれも投与前（T0）も採血実施。

混餌投与の結果、吸収は遅延し、C_{max} は経口投与（ボーラス）と比較して低かった。表 12 に各投与方法における平均血漿中薬物動態パラメータを示した。

表 12　豚のアセトアミノフェン投与後における平均血漿中薬物動態パラメータ

投与方法	T_{max} (h)	C_{max} (μg/mL)	$AUC_{0-\infty}$ (h・μg/mL)	$T_{1/2}$ (h)
静脈内投与	—	—	16.79	1.25*
経口投与（ボーラス）	1.85	4.41	24.52	2.04
混餌投与	2.4	3.6	25.45	4.76

*：$T_{1/2}$（β 相）

（8）薬物動態試験（豚、排泄・混餌投与）　（参照 11）

豚（LW 種、8 週齢、去勢雄、3 頭）にアセトアミノフェン製剤を混餌投与（アセトアミノフェンとして 15 mg/kg 体重）し、投与後 0~24 及び 24~48 時間の尿及び糞を採取した。採取した尿及び糞中のアセトアミノフェン量を LC/MS により測定し、代謝物についても検討した。

尿及び糞中のアセトアミノフェン（未変化体）量を表 13 に示した。

アセトアミノフェンは糞よりも尿中に多く排泄されていることが示唆され、投与後 0~24 時間及び 24~48 時間の糞及び尿中の総投与量に対する未変化体の排泄率はそれぞれ 0.7~6.4 %及び 0.1~0.2 %であった。

また、排泄物中の代謝物を同定した結果、尿中では APAP-G 及び APAP-S が共に検出されたが、糞中ではどちらも検出されなかった。

表 13　豚のアセトアミノフェン混餌投与後における排泄物中の未変化体量（単位：mg）

豚個体番号	総投与量 (mg)	投与 0~24 時間			投与 24~48 時間		
		尿中排泄量	糞中排泄量	尿＋糞中排泄量 (%)	尿中排泄量	糞中排泄量	尿＋糞中排泄量 (%)
104	195	12.4	0.0569	12.5 (6.4)	0. 267	0.0391	0.31 (0.2)
105	186	1.19	0.164	1.35 (0.7)	0.100	0.0354	0.14 (0.1)
110	195	4. 91	0.109	5.02 (2.6)	0. 239	0.0315	0. 27 (0.1)

（9）薬物動態試験（豚、排泄・経口投与）　(参照 12)

豚（LW 種、14~15 週齢、去勢雄、3 頭）にアセトアミノフェン製剤の水溶液を強制経口投与（アセトアミノフェンとして 15 mg/kg 体重）し、投与 3、6、12、24 及び 48 時間後に尿を、投与 6、24 及び 48 時間後に糞を採取した。採取した尿及び糞中のアセトアミノフェン及び代謝物量を LC/MS により定量した。

アセトアミノフェン及びその代謝物の平均排泄量を表 14 に示した。

アセトアミノフェン及び代謝物は、投与 3~12 時間後に多く排泄され、投与 12 時間後以降の排泄量はわずかであった。分析された代謝物の中では APAP-G の割合が最も多く（平均 50.3 %）、次に APAP-S が多く検出され（平均 5.7 %）、未変化体は少なかった（平均 4.3 %（尿中：3.6 %、糞中：0.7 %））。また、アセトアミノフェン及びその代謝物は大半が尿中に排泄され、糞中への排泄はごくわずかであった。

また、投与量に対する排泄率は平均 60.3 %（49.9~77.2 %）で個体による排泄率にばらつきが認められた。なお、未知の代謝物を探索したところ、システイン抱合体、メトキシ体及びそれらのグルクロン酸抱合体と硫酸抱合体の存在が示唆された。

表 14　豚のアセトアミノフェン経口投与後におけるアセトアミノフェン及び代謝物の平均排泄量　(mg)

試料	未変化体及び代謝物	投与後時間（h）					合計
		0~3	3~6 (0~6：糞)	6~12	12~24 (6~24：糞)	24~48	
尿	アセトアミノフェン	0.1 (0.0)	8.1 (1.4)	8.6 (1.5)	1.3 (0.2)	2.8 (0.5)	20.9 (3.6)
	APAP-G	ND	449.8 (36.8)	130.4 (10.7)	34.2 (2.8)	ND	614.4 (50.3)
	APAP-S	ND	38.7 (4.4)	11.5 (1.3)	ND	ND	50.2 (5.7)
糞	アセトアミノフェン	0.0 (0.0)	0.0 (0.0)		1.5 (0.3)	2.2 (0.4)	3.8 (0.7)
	APAP-G	ND	ND		ND	ND	ND
	APAP-S	ND	ND		ND	ND	ND
合計		0.1 (0.0)	496.6 (42.6)	150.5 (13.4)	37.0 (3.3)	5.0 (0.9)	689.3 (60.3)

（ ）内は投与量に対する排泄率 (%)　　ND：検出限界（検出限界値不明）以下　　n=3

（10）薬物動態試験（豚、排泄・経口投与）　(参照 13)

豚（Large White Pietrain × LW 種、10 週齢、4 頭(雌雄各 2 頭)）にアセトアミノフェン 20 %経口溶液を単回経口投与（アセトアミノフェンとして 30 mg/kg 体重）し、血液、糞及び尿中のアセトアミノフェン及び代謝物量について HPLC により検討した。血液及び糞尿の採取スケジュールを表 15 に示した。

表 15　採取スケジュール

試料	投与後時間
採血	30 分、1、1.5、2、3、6、9、12、24 時間
尿	3、6、9、12、24、36、48 時間
糞	6、12、24、36、48、60、72 時間

いずれも投与前（T0）も採取実施。

アセトアミノフェン及びその代謝物の平均排泄量及び血漿中濃度を表 16 及び 17 に示した。なお、糞中の APAP-G は糞便との接触により速やかにアセトアミノフェンに変化するため検討されなかった。

表 16　豚のアセトアミノフェン経口投与後におけるアセトアミノフェン及び代謝物の平均排泄量　(mg)

試料	未変化体及び代謝物	時間 (h)									
		0	0~3	3~6	6~9	9~12	12~24	24~36	36~48	48~60	60~72
尿	アセトアミノフェン	ND	1.87* (0.3)	6.35 (0.9)	2.15* (0.3)	2.47 (0.3)	5.81 (0.8)	3.51 (0.5)	4.62 (0.6)		
	APAP-G	ND	158.95** (22.5)	166.32 (22.8)	71.86* (9.9)	40.92 (5.6)	21.97 (3.0)	3.31 (0.4)	1.15 (0.2)		
	APAP-S	ND	7.18** (1.0)	11.91 (1.6)	3.04* (0.4)	1.73 (0.2)	0.89 (0.1)	0.92** (0.1)	ND		
	システイン抱合体	ND	21.25** (3.0)	35.17 (4.8)	7.30* (1.0)	0.98 (0.1)	4.76 (0.7)	0.49** (0.1)	1.11*** (0.1)		
	メルカプト抱合体	ND	ND	0.10** (0.0)	0.03** (0.0)	0.05** (0.0)	0.45** (0.0)	0.58** (0.1)	0.98** (0.1)		

試料	未変化体及び代謝物	時間 (h)							
		0	0~6	6~12	12~24	24~36	36~48	48~60	60~72
糞	アセトアミノフェン	ND	0.99 (0.1)	0.79 (0.1)	0.21 (0.0)	0.53 (0.1)	0.14 (0.0)	0.13* (0.0)	ND
	APAP-S	ND	0.02*** (0.0)	0.03 (0.0)	0.02*** (0.0)	0.04** (0.0)	ND	ND	ND
	システイン抱合体	ND	14.5*** (2.1)	ND	0.02*** (0.0)	ND	ND	ND	ND
	メルカプト抱合体	ND	0.14** (0.0)	ND	ND	ND	ND	ND	ND

（ ）内は投与量に対する排泄率（%）　　n=4

ND：尿及び糞中濃度が検出限界未満であったため、平均尿及び糞中排泄量は算出できず。

*　：3 例の平均値。

**　：2 例の平均値。

***：1 例の値。

表 17　豚のアセトアミノフェン経口投与後におけるアセトアミノフェン及び代謝物の平均血漿中濃度　(μg/mL)

未変化体及び代謝物	時間 (h)										
	0	0.5	1	1.5	2	3	4	6	9	12	24
アセトアミノフェン	ND	30.50	28.85	24.25	19.34	12.88	7.87	2.75	0.92	0.46	ND
APAP-G	ND	25.95	30.60	31.46	30.76	25.24	19.55	9.38	3.68	1.33	0.31*
APAP-S	ND	1.41	2.40	2.19	1.99	2.49	3.08**	ND	ND	ND	ND
システイン抱合体	ND	ND	ND	0.32*	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
メルカプト抱合体	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

n=4

ND：検出限界（アセトアミノフェン及びAPAP-G：0.05 μg/mL、その他の代謝物：0.1 μg/mL）未満

*　：4例のうち3例は検出限界未満のため、1例の値。

**　：4例のうち1例は検出限界未満のため、3例の平均値。

2．残留試験

（1）残留試験（豚、経口投与①）　（参照 14）

豚（LWD種、約5ヶ月齢、去勢雄、12頭(最終投与1、2及び3日後の各時点において4頭)・1頭/対照群）にアセトアミノフェン製剤を6時間間隔で2回、強制経口投与（アセトアミノフェンとして15 mg/kg体重）し、最終投与1、2及び3日後の主要組織中濃度をLC/MSにより調べた（定量限界：0.01 μg/g）。

アセトアミノフェンの各組織中濃度を表18に示した。

アセトアミノフェンの各組織中濃度は、最終投与1日後には全組織において2/4~4/4例に検出されたが、最終投与2及び3日後には全例が定量限界未満となった。なお、対照群は全試料で定量限界未満であった。

表 18　豚のアセトアミノフェン経口投与後における平均組織中濃度①　(μg/g)

投与量	組織	最終投与後日数（日）		
		1	2	3
15 mg/kg体重 6時間間隔で 2回投与	筋肉	0.04	<0.01	<0.01
	脂肪	<0.01~0.02	<0.01	<0.01
	肝臓	0.04	<0.01	<0.01
	腎臓	0.04	<0.01	<0.01
	小腸	<0.01~0.03	<0.01	<0.01

定量限界：0.01 μg/g　　n=4

（2）残留試験（豚、経口投与②）　（参照 15）

豚（LWD種、約3ヶ月齢、去勢雄、12頭(最終投与1、2及び3日後の各時点において4頭)・1頭/対照群）にアセトアミノフェン製剤を6時間間隔で2回、強制経口投与（アセトアミノフェンとして15 mg/kg体重）し、最終投与1、2及び3日後の主要組織中濃度をLC/MSにより調べた（定量限界：0.01 μg/g）。

アセトアミノフェンの各組織中濃度を表 19 に示した。

アセトアミノフェンの各組織中濃度は、最終投与 1 日後には全組織において 2/4~4/4 例に検出されたが、最終投与 2 及び 3 日後には全例が定量限界未満となった。なお、対照群は全試料で定量限界未満であった。

表 19　豚のアセトアミノフェン経口投与後における平均組織中濃度②　(μg/g)

投与量	組織	最終投与後日数（日）		
		1	2	3
15 mg/kg 体重 6 時間間隔で 2 回投与	筋肉	0.05	<0.01	<0.01
	脂肪	<0.01~0.02	<0.01	<0.01
	肝臓	0.08	<0.01	<0.01
	腎臓	0.04	<0.01	<0.01
	小腸	0.03	<0.01	<0.01

定量限界：0.01 μg/g　　n=4

（3）残留試験（豚、混餌投与①）　(参照 16)

豚（LWD 種、約 3 ヶ月齢、去勢雄、20 頭(最終投与 1、2、3、5 及び 7 日後の各時点において各 4 頭)・1 頭/対照群）にアセトアミノフェン製剤を朝・夕の 1 日 2 回、5 日間混餌投与（アセトアミノフェンとして 30 mg/kg 体重/日）し、最終投与 1、2、3、5 及び 7 日後に主要組織中濃度を LC/MS により調べた（定量限界：0.01 μg/g)。

アセトアミノフェンの各組織中濃度を表 20 に示した。

アセトアミノフェンの各組織中濃度は、最終投与 2 日後には検査した全組織において 2/4~4/4 例に検出されたが、最終投与 5 及び 7 日後には全例が定量限界未満となった。なお、対照群は全試料で定量限界未満であった。

表 20　豚のアセトアミノフェン混餌投与後における平均組織中濃度①　(μg/g)

投与量	組織	最終投与後日数（日）				
		1	2	3	5	7
30 mg/kg 体重/日 朝・夕 2 回投与	筋肉	0.05	(<0.02)	<0.01*	<0.01	<0.01
	脂肪	0.02	(<0.01)	(<0.01)	<0.01	<0.01
	肝臓	0.06	(<0.03)	(<0.01)	<0.01	<0.01
	腎臓	0.04	0.03	(<0.01)	<0.01	<0.01
	小腸	0.05	(<0.03)	(<0.02)	<0.01	<0.01

定量限界：0.01 μg/g　　n=4

*　：4 例すべてが定量限界未満。

(　)：1 例以上 3 例以下が定量限界未満であったため、定量限界値を 0.01 として平均値を算出し不等号を付けた。

（4）残留試験（豚、混餌投与②）　（参照 17）

豚（WLD 種、雌雄、16 頭(最終投与 1、2、3 及び 5 日後の各時点において各 4 頭)・1 頭/対照群）にアセトアミノフェン製剤を朝・夕の 1 日 2 回、5 日間混餌投与（アセトアミノフェンとして 30 mg/kg 体重/日）し、最終投与 1、2、3 及び 5 日後の主要組織中濃度を LC/MS により調べた（定量限界：0.01 μg/g）。

なお、投与期間中、飼料摂取が良好ではなく、残餌が認められた動物については、被験薬摂取が不十分とみなし、これらの動物のデータについては除外した。そのため、最終投与 1 日後以外は各 3 例のデータを用いて解析を行った。

アセトアミノフェンの各組織中濃度を表 21 に示した。

アセトアミノフェンの小腸及び脂肪組織中濃度は、最終投与 3 日後以降は定量限界未満となった。その他の組織においては、最終投与 2 日後までに比較的速やかに減衰するものの、それ以降、最終投与 5 日後まで 0.01~0.03 μg/g が検出された。対照群は全試料で定量限界未満であった。

表 21　豚のアセトアミノフェン混餌投与後における平均組織中濃度②　(μg/g)

投与量	組織	最終投与後日数（日）			
		1	2	3	5
30 mg/kg 体重/日 朝・夕 2 回投与	筋肉	0.08	(<0.01)	(<0.01)	(<0.01)
	脂肪	(<0.03)	(<0.01)	<0.01*	<0.01
	肝臓	0.13	0.03	(<0.01)	(<0.02)
	腎臓	0.11	0.02	(<0.01)	(<0.01)
	小腸	0.07	(<0.02)	<0.01	<0.01

定量限界：0.01 μg/g　　n=4※

※投与 2、3 及び 5 日後のグループのうち各 1 頭は残餌が認められたため、除外された。

*　：4 例すべてが定量限界未満。

（ ）：1 例以上 3 例以下が定量限界未満であったため、定量限界値を 0.01 として平均値を算出し不等号を付けた。

3．急性毒性試験

（1）急性毒性試験（マウス、ラット、モルモット、LD_{50}）　（参照 1、18~20）

マウス、ラット及びモルモットにアセトアミノフェンを単回経口投与し、アセトアミノフェンの急性毒性について検討した。一般症状として呼吸数低下、自発運動量低下及び体温低下が各動物種に共通して認められた。

各動物の LD_{50} を表 22 に示した。

表 22　アセトアミノフェンの経口投与における LD_{50}

動物種	条件等	体重 (g)	LD_{50} (mg/kg 体重)	
			雄	雌
マウス（HLA 系）	絶食	17~30	467 (348~626)	
	非絶食		850 (720~1,002)	

マウス（Swiss 系）		20~24	1,212（851~1,727）	945（622~1,435）
ラット（HLA 系）	絶食	95~180	3,700（3,189~4,292）	
ラット（SD 系）	1~3 日齢		420±23	
	成獣		2,404±95	
		180~200	>4,000	>4,000
モルモット	絶食	180~310	2,620	

（2）急性毒性試験（イヌ、致死量）　（参照 21）

イヌ（ビーグル種、雄、3 週齢(幼若イヌ)・7~8 ヶ月齢(成熟イヌ)：各 2 匹/群）にアセトアミノフェンを単回強制経口投与（幼若イヌ：0、150、300 及び 600 mg/kg 体重、成熟イヌ：0、500、1,000 及び 2,000 mg/kg 体重）し、アセトアミノフェンの急性毒性について検討した。

幼若イヌにおいて、死亡例は認められなかったが、600 mg/kg 体重投与群 1 例に一過性の振戦、口腔粘膜の潮紅が認められた。600 mg/kg 体重投与群の全例に投与翌日の摂餌量の減少が認められたものの、体重に影響はなかった。病理組織学的所見として肝臓の髄外造血の低下が用量相関的に認められたが、血液学的検査では異常はなかった。

成熟イヌでは、2,000 mg/kg 体重投与群の全例が投与翌日までに死亡し、1,000 mg/kg 体重以下投与群では死亡例は認められなかった。死亡例では体温低下、心拍数増加、自発運動低下等が認められた。500 mg/kg 体重以上投与群の生存例でも類似した一般状態の変化が認められたほか、1,000 mg/kg 体重投与群では横臥及び腹臥がみられた。500 mg/kg 体重以上投与群では、投与 7 日後の血液生化学的検査で T.Bil 及び ALT の高値が散見され、病理組織学的検査では 1,000 mg/kg 体重投与群で肝臓中心静脈領域における褐色色素貪食マクロファージを伴う線維化が認められた。500 mg/kg 体重以上投与群では一過性の溶血性貧血が認められ、病理組織学的に脾臓のうっ血及び髄外造血亢進が用量相関的に認められた。

以上より、アセトアミノフェン単回経口投与におけるイヌの概略の致死量は、幼若動物で 600 mg/kg 体重以上、成熟動物で 1,000 mg/kg 体重と 2,000 mg/kg 体重の間にあると考えられた（表 23）。

表 23　イヌのアセトアミノフェン経口投与における概略の致死量　（mg/kg 体重）

動物種	齢	体重（kg）	投与量（mg/kg 体重）	概略の致死量
イヌ（ビーグル種雄）	3 週	0.76~0.96	150、300、600	>600
	7~8 ヶ月	9.0~10.9	500、1,000、2,000	1,000~2,000

4．亜急性毒性試験

（1）19 日間亜急性毒性試験（ラット）　（参照 22）

幼若ラット（Wistar 系、3 日齢、雌雄各 10 匹/群）を用いたアセトアミノフェンの強制経口投与（0、20、80 及び 320 mg/kg 体重/日）による 19 日間亜急性毒性試験で認められた毒性所見は以下のとおりであった。

320 mg/kg 体重/日投与群の雌 1 例で投与 7 日後に呼吸緩徐が発現し、翌日に自発運動

の抑制が認められたため切迫剖検した。また、同群の雄1例で投与9日後以降に削痩、皮温低下及び呼吸緩徐が認められ、投与13日後に死亡した。その他に死亡例は認められなかった。また、その他の動物に投与に起因する一般状態への影響は認められなかった。

眼科学的検査では、投与に起因する影響は認められなかった。

体重では、320 mg/kg 体重/日投与群の雌雄に増加抑制が認められた。

尿検査では、320 mg/kg 体重/日投与群の切迫剖検例及び死亡例にタンパク質、ビリルビン及び潜血が認められた。

血液学的検査では、320 mg/kg 体重/日投与群の雌に PLT の高値が認められた。

血液生化学的検査では、320 mg/kg 体重/日投与群の雄に Glu の低値、T.Chol、PL 及び T.Bil の高値、雌に T.Chol、TG 及び PL の高値が認められた。

臓器重量では、80 mg/kg 体重/日以上投与群の雌雄において肝臓の比重量[2]が高値を示した。また、320 mg/kg 体重/日投与群の雄において脾臓及び胸腺の絶対重量の低値、雌において脾臓の絶対及び比重量の低値が認められた。

剖検では、320 mg/kg 体重/日投与群の切迫剖検例に腺胃粘膜の出血斑、肝臓の退色斑、死亡例に削痩、肝臓の出血斑、肺の退縮不全及び赤色斑が認められた。

病理組織学的検査では、切迫剖検例において肝臓の小葉中心性/中間帯脂肪変性及び巣状壊死、切迫剖検例及び死亡例において細胞壊死の前段階と推測される肝類洞内の細胞破片及び肝細胞核の空胞化が認められた。また、死亡例において回腸上皮細胞の空胞化等も認められた。生存例では、320 mg/kg 体重/日投与群の雌雄で肝臓及び髄外造血の減少傾向が観察され、雄では軽度の肝細胞肥大（1/9 例）、軽度又は中等度の小葉中心性脂肪変性（2/4 例）、副腎皮質束状帯細胞の脂肪滴の増加傾向あるいは軽度の胸腺萎縮（1/9 例）が認められた。80 mg/kg 体重/日投与群の雌（1/10 例）及び 320 mg/kg 体重/日投与群の雄雌（2/9 例、4/9 例）においては、空胞化した回腸上皮細胞の増加が認められた。

本試験において、80 mg/kg 体重/日投与群で肝比重量の高値が認められたが、病理組織学的な所見は認められてい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、同群で認められた回腸上皮細胞の空胞化については、雌1例のみであることから、投与による影響とは考えられなかった。

以上より、本試験における NOAEL は雌雄とも 80 mg/kg 体重/日と考えられた。

（2）13 週間亜急性毒性試験（ラット）　（参照 23）

ラット（F344/N 系、7 週齢、雌雄各 10 匹/群）を用いたアセトアミノフェンの 13 週間混餌投与（0、800、1,600、3,200、6,200、12,500 及び 25,000 ppm）による亜急性毒性試験で認められた毒性所見は以下のとおりであった。なお、試験終了後に生存していた全ラットについて剖検を行い、病理組織学的検査は、対照群及び 25,000 ppm 投与群雌雄では全臓器について、他の群では肝臓をはじめとする標的臓器について実施した。

死亡は、投与第7週までには、25,000 ppm 投与群の雌雄各2例で認められた。

投与期間の前半に 25,000 ppm 投与群の雌雄で摂餌量減少に伴う体重減少が認められたが、25,000 ppm の被験物質を含んだ餌の嗜好性が悪いことに起因すると考えられた。

---

[2] 体重比重量を比重量という。以下同じ。

12,500 ppm 投与群の雌雄でも体重の増加抑制が認められた。

一般状態では、12,500 ppm 以上投与群の雌雄で体格が小型で、暗黄色の尿が認められた。

臓器重量では、12,500 ppm 以上投与群でいくつかの臓器の絶対重量の減少が認められた（表 24）。また、25,000 ppm 投与群のほぼ全臓器及び 12,500 ppm 投与群のいくつかの臓器の比重量の有意な増加が認められた（表 25）。これは栄養摂取低下が実質臓器より筋骨格系及び体脂肪に大きな影響を及ぼしたためであると考えられた。この中で投与に起因すると考えられるのは、800 ppm 以上投与群の雌雄でみられた肝臓及び腎臓の比重量の増加であり、体重の低値が原因とは考えられなかった。

表 24　ラットのアセトアミノフェン投与における臓器の絶対重量

投与群（ppm）	有意な絶対重量減少が認められた臓器
25,000	肝臓（雄）、肺（雄）、脳（雌）、胸腺（雄）
12,500 以上	心臓（雌雄）、脳（雄）、右精巣（雄）
3,200 以上	胸腺（雌のみ）

表 25　ラットのアセトアミノフェン投与における臓器の比重量

用量（ppm）	有意な比重量増加が認められた臓器
25,000	心臓（雌雄）、肺（雄）、右精巣（雄、減少）胸腺（雌）
12,500 以上	脳（雌雄）
1,600 以上	肺（雌）
800 以上	肝臓（雌雄）、右腎臓（雌雄）

剖検及び病理組織学的検査では、アセトアミノフェン投与に起因する病変が肝臓、腎臓、リンパ節、生殖器及び胸腺で認められた影響を下記にまとめた（表 26）。

表 26　ラットのアセトアミノフェン投与における主要毒性病変

用量（ppm）	雄	雌
25,000	・死亡（2 例） ・肝細胞壊死 ・高度尿細管再生 ・尿細管円柱 ・尿細管上皮壊死 ・精巣萎縮 ・胸腺及びリンパ節のリンパ球減少	・死亡（2 例） ・肝細胞壊死 ・肝慢性活動性炎症 ・肝細胞肥大 ・高度尿細管再生 ・尿細管円柱 ・子宮及び卵巣の萎縮 ・胸腺及びリンパ節のリンパ球減少
12,500 以上	・肝慢性活動性炎症 ・肝細胞肥大	

25,000 ppm 投与群の雄1例及び雌2例では、重度の肝細胞壊死が広範に観察され、これら3例は試験終了前に死亡した。軽度の肝細胞壊死が散見された25,000 ppm 投与群の雄1例は試験終了前に死亡したが雌3例は試験終了時まで生存した。

25,000 ppm 投与群の雌雄及び12,500 ppm 投与群の雄では、軽度から中等度の肝慢性活動性炎症を伴う壊死性肝硬変が認められ、肝細胞壊死の二次的影響と考えられた。これらの病変は投与による影響と考えられた。

25,000 ppm 投与群の雌雄では、投与による腎臓への影響がみられた。わずかな尿細管再生が全投与群の雄数例、大部分の投与群及び対照群の少数の雌で認められたが、25,000 ppm 投与群の影響が認められた雌雄の約半数では、病変の程度が著しく高度であり、さらに、雄1例及び雌2例では尿細管円柱が認められ、雄1例では尿細管上皮の壊死が認められた。同群に観察されたこれらの変化は明らかに増悪化していたことから、投与によるものと考えられた。

25,000 ppm 投与群の全例、6,200 及び12,500 ppm 投与群の各1例の雄で精巣萎縮がみられた。大半の重症例では、胚上皮がほぼ完全に消失し、精巣上体では完全な無精子状態であった。6,200 及び12,500 ppm 投与群で観察された精巣の変化は、有意ではなかった。また、25,000 ppm 投与群の雌では、子宮及び卵巣の萎縮の発生数増加が有意に認められた。

胸腺及びリンパ節のリンパ球のわずかな減少が25,000 ppm 投与群の雌雄に認められたが、重度の体重減少の二次的な影響と考えられた。

本試験では、全投与群について全臓器の病理組織学的検査が行われていないため、NOAEL 及びLOAEL は求められなかった。

（3）13 週間亜急性毒性試験（マウス）　（参照23）

マウス（B6C3F$_1$、7週齢、雌雄各10匹/群）を用いたアセトアミノフェンの13週間混餌投与（0、800、1,600、3,200、6,200、12,500 及び25,000 ppm）による亜急性毒性試験で認められた毒性所見は以下のとおりであった。なお、全被験動物を剖検に供し、病理組織学的検査については対照群、25,000 ppm 投与群雌雄及び3,200 ppm 投与群雄1例の全臓器について、他の群では肝臓をはじめとする標的臓器について実施した。

死亡が投与群の雌雄で散見されたが、用量相関性が認められなかったことから投与によるものとは考えられなかった。

12,500 ppm 以上投与群の雌雄において、投与第1週から摂餌量減少に伴う体重減少が認められ、投与第2週以降摂餌量及び体重のいずれも増加したが、最終体重は12,500 ppm 以上投与群の雌雄で有意に減少していた。これは被験物質を含んだ餌の嗜好性が低いことに起因すると考えられた。

一般状態では、投与に関係する所見は25,000 ppm 投与群での暗色尿のみであった。

臓器重量では、25,000 ppm 投与群の雄で肝臓の絶対重量の低下、脳及び精巣の比重量の増加が、雌雄で心臓の絶対重量の低下が見られ、12,500 ppm 以上投与群の雌で肝臓の絶対重量の低下、脳及び心臓の比重量の増加、さらに6,200 ppm 以上投与群の雌で腎臓の比重量の増加が見られた。

病理組織学的検査では、6,200 ppm 以上投与群の雄及び12,500 ppm 以上投与群の雌

で肝臓の病理組織的病巣が認められた。投与第1週以内に死亡したマウスでは小葉全体に肝細胞凝固壊死が認められた。投与終了時まで生存していた動物では小葉中心性肝細胞腫大が認められた。腫大した肝細胞は大量の微細顆粒状好酸性細胞質を有していた。また、多くのマウスでは、門脈域あるいは肝臓被膜下に、淡黄褐色の色素又は微細な鉱質沈着（石灰沈着）を伴う大型細胞も見られた。雄の6,200 ppm、雌の12,500 ppm以上に観察されたこれらの所見は、投与に関連した変化であると考えられた。

本試験では、全投与群について全臓器の病理組織学的検査が行われていないため、NOAEL及びLOAELは求められなかった。

（4）14日間亜急性毒性試験（マウス） ＜参考データ＞ （参照23）

マウス（B6C3F$_1$、8~9週齢、雌雄各5匹/群）を用いたアセトアミノフェンの14日間混餌投与（0、250、500、1,000、2,000及び4,000 ppm）による亜急性毒性試験で認められた毒性所見は以下のとおりであった。

死亡は、対照群を含む全群において認められなかった。

摂餌量は、全投与群は対照群に比べて増加した。

体重は、全投与群の雌雄において試験期間中、対照群との違いは認められなかった。

剖検では、投与に起因する影響は見られなかった。また、病理組織学的検査は実施されなかった。

（5）14日間亜急性毒性試験（ラット） ＜参考データ＞ （参照23）

ラット（F344/N系、7~8週齢、雌雄各5匹/群）を用いたアセトアミノフェンの14日間混餌投与（0、800、1,600、3,100、6,200及び12,500 ppm）による亜急性毒性試験で認められた毒性所見は以下のとおりであった。死亡は、対照群を含む全群において認められなかった。

12,500 ppm投与群の雌雄の摂餌量は、対照群に比べて少なかった。

体重は、12,500 ppm投与群の雄では対照群と比べて20 %の割合で低かった。

剖検では、投与に起因する影響はみられなかった。また、病理組織学的検査は実施されなかった。

5．慢性毒性/発がん性試験

慢性毒性試験は実施されていない。

（1）104週間発がん性試験（マウス） （参照23）

マウス（B6C3F$_1$、8~9週齢、雌雄各60匹/群）を用いたアセトアミノフェンの104週間混餌投与（0、600、3,000及び6,000 ppm）による発がん性試験で認められた毒性所見は以下のとおりであった。十分な血液学的及び血液生化学的検査は実施されていない。なお、アセトアミノフェンの一日平均摂取量は、600、3,000及び6,000 ppm投与群において、それぞれ雄で90、450及び1,000 mg/kg体重/日、雌で110、600及び1,200 mg/kg体重/日であった。

死亡率及び摂餌量に投与に起因する影響は認められなかった。

体重は、試験期間中 6,000 ppm 投与群の雌雄において対照群よりも低く、わずかに増加抑制が認められた。

剖検及び病理組織学的検査では、甲状腺濾胞細胞過形成が各投与群の雌雄で用量依存的に増加し、3,000 ppm 以上投与群の雌雄で有意な増加がみられた（表 27）。甲状腺濾胞細胞腫瘍が投与群の雌雄の数匹で認められたが、有意差及び用量相関性はなく、雄では対照群にも見られた。

表 27　マウスにおける甲状腺濾胞細胞過形成の発生率　(%)

投与量	0 ppm	600 ppm	3,000 ppm	6,000 ppm
雄	0 (0/49)	12 (6/49)	24** (12/50)	30** (15/50)
雌	4 (2/48)	16 (8/50)	22* (11/50)	50** (25/50)

( ) 内は発生動物数 / 検査動物数　　* : p<0.01、** : p <0.001

腎尿細管過形成が 600 ppm 投与群の雄 1 例、6,000 ppm 投与群の雄 2 例に認められた。また、腎尿細管腺腫が 600 ppm 投与群の雄 1 例及び 6,000 ppm 投与群の雄 1 例で認められた。雌では、腎尿細管の過形成も腫瘍も認められなかった。腎尿細管腺腫はマウスでは稀な腫瘍ではあるが、有意差及び用量相関性がなく、過形成病変もわずかであること並びに本試験において腎臓に被験物質投与による腎毒性を示す病変が認められなかったことから、本試験で認められた腎尿細管腺腫は投与に起因するものではないと考えられた。

本試験において発がん性は認められなかった。

（2）134 週間発がん性試験（マウス）　(参照 24)

マウス（B6C3F$_1$、8~9 週齢、雌雄各 50~55 匹/群）を用いたアセトアミノフェンの混餌投与（0、0.3 及び 0.6 %）による 134 週間発がん性試験で認められた毒性所見は以下のとおりであった。なお、アセトアミノフェンの総摂取量から算出した一日平均摂取量は、参考値として 0.3 及び 0.6 %投与群において、それぞれ雄で 463 及び 927 mg/kg 体重/日、雌で 363 及び 725 mg/kg 体重/日であった。(表 28)

表 28　アセトアミノフェンの総摂取量から算出した一日平均摂取量（参考値）

投与群	総摂取量 (g/kg 体重)	一日平均摂取量 (mg/kg 体重/日)
0.6 %雌	675	725
0.6 %雄	863	927
0.3 %雌	—	363 *
0.3 %雄	—	463 *

—：データなし。　　*：0.6 %の値から算出した値。

死亡率は、対照群を含む各群に相違は認められなかった。

摂餌量は、投与群及び対照群に投与に起因する影響は認められなかった。

体重は、投与群の雄において試験期間中の後期 2/3 の期間においてわずかに増加抑制が認められた。

剖検及び病理組織学的検査では、対照群を含む各群に造血組織（骨髄、胸腺、脾臓、リンパ節）、肺、肝臓、下垂体、消化管、子宮、卵巣、乳腺、副腎及び皮膚に腫瘍が認められたが、発生率に差異は認められなかった。

本試験において発がん性は認められなかった。

（3）104 週間発がん性試験（ラット）　（参照 23、25、26）

ラット（F344/N 系、7~8 週齢、雌雄各 60 匹/群）を用いたアセトアミノフェンの 104 週間混餌投与（0、600、3,000 及び 6,000 ppm）による発がん性試験で認められた毒性所見は以下のとおりであった。アセトアミノフェンの一日平均摂取量は、600、3,000 及び 6,000 ppm 投与群において、それぞれ雄で 30、150 及び 300 mg/kg 体重/日、雌で 35、160 及び 320 mg/kg 体重/日であった。なお、投与 15 ヶ月後に各群雌雄各 10 匹を無作為に選択して中間評価に供した。十分な血液学的及び血液生化学的検査は実施されていない。

死亡率、一般状態、体重及び摂餌量は、対照群と投与群に相違は認められず、投与に起因する影響は認められなかった。

投与 15 ヶ月後において、発がん性及び被験物質投与に起因する毒性所見は認められなかった。

剖検及び病理組織学的検査では、造血系、腎臓及び上皮小体において投与に起因すると考えられる所見が認められた。

造血系では、雌ラットの対照群及び投与群に単核細胞性白血病の発生が認められ、6,000 ppm 投与群では対照群に比べて有意に増加した（表 29）が、投与群の雄ではわずかに減少した。

腎臓では、慢性腎症の発生率が雌雄共に対照群を含む全投与群において高発生率（86~100 %）であった。また、重篤度については 4 つに分類し、各投与群のスコアを算出している（表 30）。600 ppm 以上の投与群の雄で，慢性腎症の発生頻度の増加はないが、重篤度の有意な増加が認められた。なお、雌では慢性腎症の有意な増悪化又は増加は認められなかった。腎尿細管上皮の過形成については投与群の雄で対照群に比べてやや高い頻度で発生した。

上皮小体で見られた過形成は、両側の広範性の腺拡張が特徴的で、雄ラットに用量依存的に発現が認められた（対照群：0/42 例、600 ppm 投与群：4/45 例、3,000 ppm 投与群：6/46 例、6,000 ppm 投与群：8/45 例）。また、上皮小体過形成は、3,000 及び 6,000 ppm 投与群の各 1 例を除き重篤な腎症が生じたラットで発現し、投与群雄において上皮小体過形成の発現増加が見られたことから、慢性腎症の重篤度増大による二次的変化と考えられた。

本試験において、600 ppm（30 mg/kg 体重/日）投与群の雄では、慢性腎症の重篤度の有意な増加が認められたことから、LOAEL は 30 mg/kg 体重/日であると考えられた。

表 29　雌ラットにおける単核細胞性白血病の発生率　(%)

	検査室 背景データ	NTP 背景データ	0 ppm	600 ppm	3,000 ppm	6,000 ppm
発生率 (%)	16.5 (6 - 28)	20.8 (6 - 40)	18	34	30	48*

* : $p<0.05$

表 30　ラットの慢性腎症の重篤度及び発生率の比較

	慢性腎症	0 ppm	600 ppm	3,000 ppm	6,000 ppm
雄	重篤度 (スコア) (発生率 (%))	2.30 (100)	2.56* (100)	2.64* (100)	2.78* (98)
雌	重篤度 (スコア) (発生率 (%))	1.44 (96)	1.58 (98)	1.64 (94)	1.72 (86)

* : $p<0.05$

本試験において、6,000 ppm 投与群の雌において単核細胞性白血病が有意に増加し、背景データの中央値よりも上回っていたことから、雌において発がん性の可能性が示唆されたが、背景データの範囲の上限と比べて、6,000 ppm 投与群での発生頻度は明らかに高いものとはみなされなかったことから、NTP では雌の F344 系ラットにおけるアセトアミノフェンの発がん性について、"equivocal evidence (あいまいな証拠) "と結論づけている。一方、雄では発がん性は認められなかった。

さらに、単核細胞性白血病が F344 系ラットにおいて、加齢により高率に発生することが公表文献等で報告されていることから、本試験で認められた単核細胞性白血病は、F344 系ラットに系統特異的に発生したものと考えられ、また、他動物種のマウスの発がん性試験では白血病の発生頻度における増加は投与群に見られていないことから、ヒトにおける発がん性の評価に外挿することは適切ではないと考えられる。

（4）104 週間発がん性試験（ラット）　(参照 27)

ラット (F344 系、5 週齢、雌雄各 50 匹/群) にアセトアミノフェンを 104 週間混餌投与 (雄 : 0、0.45 及び 0.9 %、雌 : 0、0.65 及び 1.3 %) し、投与 130 週後まで観察した。試験終了後、死亡例も含め全例について剖検し、病理組織学的検査を実施した。なお、アセトアミノフェンの一日平均摂取量は、低用量及び高用量群において、それぞれ雄で 195.4 及び 402.1 mg/kg 体重/日、雌で 335.7 及び 688.0 mg/kg 体重/日であった。

死亡率は、対照群と投与群に相違は認められなかった。

一般状態における腫瘍の発生状況において対照群と投与群に相違は認められなかった。

体重は、低用量群の雌を除いて試験当初又は試験期間を通じて増加抑制が認められたが、徐々に回復し、投与 104 週後の対照群に対する投与群の比重量は 93.1~102.3 %であった。

摂餌量は、一部の期間を除き、投与に起因する影響は認められなかった。

剖検及び病理組織学的検査では、対照群及び投与群に種々の腫瘍が認められたが、アセトアミノフェン投与による用量相関性のある発生頻度の増加はなかった。

本試験において発がん性は認められなかった。

6．生殖発生毒性試験

（1）継続繁殖毒性試験（マウス）　（参照 28）

マウス（Swiss CD-1 系、11 週齢、雌雄各 20 匹/投与群、雌雄各 40 匹/対照群）にアセトアミノフェンを混餌投与（0、0.25、0.5 及び 1.0 %）し、繁殖毒性について検討した。各混餌濃度におけるアセトアミノフェンの換算投与量を表 31 に示した。

表 31　マウスに投与したアセトアミノフェンの混餌濃度及び換算投与量

混餌濃度　(%)	0	0.25	0.5	1.0
(ppm)	0	2,500	5,000	10,000
換算投与量（mg/kg 体重/日）	0	357	715	1,430

投与は、交配開始前 1 週間、雌雄 1 対 1 同居交配期間 14 週間及び同居交配終了後 3 週間の合計 18 週間にわたって行い、一般状態、摂餌量及び体重を調べた。各雌雄の組について出産回数、出産時の生存児数、生存率、性比及び体重を調べ、児はと殺した。最終産児（通常 4 又は 5 産目）については哺育し、生後 28 日に離乳した後に親動物（P）をと殺した。離乳児は F_1 世代の親動物として被験物質の投与を継続し、74±10 日齢に達した時点で 1 週間交配して繁殖毒性について検討を行った。F_2 児出産後にすべての動物をと殺し、1.0 %投与群及び対照群の F_1 親動物（109±10 日齢）については、臓器重量の測定、精子検査及び生殖器官の病理組織学的検査に供した。

P 及び F_1 世代の親動物の繁殖能に対するアセトアミノフェンの影響を表 32 に示した。P 親動物では、試験期間中 4 例（0.25 %投与群の雌雄各 1 例、0.5 及び 1.0 %投与群の雌各 1 例）が死亡したが、投与に起因するものではないと考えられた。妊娠率に投与による影響は認められなかったが、平均出産回数は 1.0 %投与群で有意に減少した。この減少は、5 産に至らなかった組が 19 組中 6 組発生したことによるものであり、5 産目が得られた組については、平均生存児数の減少が認められた（正常では 11 又は 12 例に対し 9 例）。生存児率、性比及び児体重については、投与による影響は認められなかった。

F_1 親動物では、離乳時（生後 28 日）及び交配時（生後 74±10 日）の体重が離乳時の 0.25 %投与群の雄を除いた全投与群において対照群より有意に低かった。繁殖能については、交尾率、妊娠率、平均生存児数及び生存児率に投与の影響はみられなかったが、1.0 %投与群では、生存 F_2 児体重が対照群に比較して有意に減少した。

表 32　アセトアミノフェンの繁殖能に対する毒性影響

パラメータ				混餌濃度（%）			
				0	0.25	0.5	1.0
P	妊娠組数/総組数			40/40	18/18	19/19	19/19
	1組当たり出産回数			4.83±0.11	4.94±0.13	4.84±0.09	4.68±0.11*
	1腹当たり生存児数			11.53±0.33	12.00±0.57	10.99±0.65	10.52±0.38
	生存児率			98±1	99±0	99±0	98±1
	生存児体重（g）			1.61±0.01	1.63±0.02	1.68±0.04	1.60±0.02
F_1	出生後体重（g）	出生時：0日齢	雄	1.64±0.03	1.68±0.04	1.69±0.04	1.68±0.07
			雌	1.59±0.03	1.61±0.03	1.63±0.04	1.61±0.06
		離乳時：28日齢	雄	17.25±0.49	15.95±0.54	14.38±0.56*	11.37±0.61*
			雌	15.46±0.43	13.88±0.50*	13.62±0.45*	11.08±0.55*
		交配時：74±10.0日齢	雄	35.39±0.74	33.38±0.44*	32.49±0.51*	28.92±0.43*
			雌	29.04±0.70	26.04±0.56*	26.28±0.54*	24.23±0.34*
	膣栓を有する雌/全同居雌			18/19	19/20	20/20	19/20
	妊娠数/膣栓雌数			16/18	19/19	20/20	18/19
	1腹当たり生存児数			11.63±0.60	10.26±0.34	11.95±0.48	10.22±0.57
	生存児率			99±1	97±2	100±0	99±1
	生存児体重（g）			1.53±0.03	1.52±0.03	1.54±0.02	1.39±0.02**

*：$p<0.05$　　**：$p<0.01$

臓器重量については、雄では被験物質投与の影響は認められなかったが、1.0 %投与群の雌で肝臓及び脳の比重量に有意な増加、下垂体比重量に有意な減少が認められた。

精子検査では、精巣上体尾部精子の運動精子率及び濃度に投与の影響は認められなかったが、1.0 %投与群で形態異常精子率に有意な増加が認められた。

生殖器官の病理組織学的検査では、投与に関連した変化は認められなかった。

以上より、F_1動物の体重に有意な増加抑制が認められたことから、LOAELは0.25 %（357 mg/kg 体重/日相当）と考えられた。

（2）繁殖毒性試験（雄ラット）　（参照29）

ラット（交雑アルビノ、雄）にアセトアミノフェンを30日間強制経口投与（0、500及び1,000 mg/kg 体重/日:1 %メチルセルロース懸濁液）し、繁殖能の検討、肝機能検査、剖検、臓器重量及び病理組織学的検査を行った。

試験期間中、投与に起因する死亡例は認められず、体重や摂餌量、飲水量に影響は認められなかった。

投与期間終了後に行った交尾行動の観察では、500 mg/kg 体重/日以上投与群で乗駕回数や挿入回数の有意な減少等、性行動に対する影響が認められた。1,000 mg/kg 体重/日投与群では、初回投与2時間後においても同様の影響が認められた。

1,000 mg/kg 体重/日投与群の雄を、発情前期の無処置雌と交配した結果では、交尾率に投与の影響は認められなかったが、膣垢中精子に有意な数の減少と運動性の低下が認

められ、受胎率が低下した。また、着床前胚死亡率の有意な増加と平均着床数の有意な減少も認められたが、着床後の胚死亡率には影響は見られなかった。これらの繁殖能に対する影響は、投与終了後 30 日で回復した。

1,000 mg/kg 体重/日投与群について実施した肝機能検査では、ALT に投与の影響は見られなかったが、AST に有意な上昇が認められた。剖検では投与に起因する変化は認められなかったが、臓器重量では、精巣比重量に有意な減少が認められた。病理組織学的検査では、肝臓に軽度の炎症性細胞の肝門脈浸潤及び肝小葉肥大が認められた。精細管の腔内には、アポトーシスを起こしたパキテン期精母細胞や前期精子細胞が多数認められた。

以上の結果から、アセトアミノフェンは 500 mg/kg 体重/日以上の用量で雄ラットの繁殖能に阻害作用が認められるが、休薬によって回復が可能であると考えられた。

（3）器官形成期投与試験（マウス）　(参照 30)

妊娠マウス（SLC-ICR 系、10 週齢、21 匹/群）にアセトアミノフェンを強制経口投与（0、100、300 及び 900 mg/kg 体重/日）し、母動物及び胎児に対する影響について検討した。投与は妊娠 6 日から 15 日に実施し、各群 14 匹は妊娠 18 日に帝王切開して胎児の検査を行った。残り 7 匹は自然分娩させ、分娩 21 日後に剖検して分娩率（分娩児数/着床痕数）及び妊娠期間等について調べた。また、児動物に及ぼす影響についても生後 6 週間観察した。

母動物については、300 mg/kg 体重/日以上投与群で体重の増加抑制が認められたが、一般状態、摂餌量及び飲水量に投与の影響は認められなかった。また、分娩率及び妊娠期間にも影響は認められなかった。

胎児については、着床数、胚/胎児死亡率、生存児体重、胎盤重量及び性比に有意な差は見られなかった。また、外表及び内臓には投与に起因する異常は認められなかったが、300 mg/kg 体重/日以上投与群で中節骨に有意な骨化遅延が認められた。

生後の児動物については、性比、生後 4 日死亡率、離乳時生存率、離乳後生存率に被験物質投与の影響は見られなかった。体重増加量、身体発育、性成熟及び行動観察（情動行動、運動機能、学習能力）の結果でも、投与による影響は認められなかったが、900 mg/kg 体重/日投与群において雌の肝臓重量に有意な減少が認められた。

以上より、本試験において 300 mg/kg 体重/日以上投与群の母動物に体重増加抑制、妊娠末期胎児に骨化遅延が認められたことから、マウスの母動物及び児動物に対する NOAEL は 100 mg/kg 体重/日と考えられた。催奇形性は認められなかった。

（4）器官形成期投与試験（ラット）　(参照 31)

妊娠ラット（SD 系、16~18 匹/群）にアセトアミノフェンを強制経口投与（0、125 及び 250 mg/kg 体重/日：0.5 %メチルセルロース懸濁液）して、体重、胎児及び胎盤に対する影響について検討した。投与は妊娠 8 日から 19 日まで実施し、妊娠 20 日に剖検した。

妊娠ラットの平均体重は、いずれの投与群においても対照群と比べて有意な差は認められなかった。

剖検の結果、125 mg/kg 体重/日投与群において胚/胎児吸収数の増加と胎児体長の短縮が認められたが、250 mg/kg 体重/日投与群では投与の影響は認められなかった。胎児体重及び胎盤重量においては、投与群と対照群に差は認められなかった。胚/胎児吸収数の増加と胎児体長の短縮には用量相関関係がみられなかったことから、125 mg/kg 体重/日投与群でみられた影響は、アセトアミノフェン投与によるものではないと考えられた。

以上より、本試験における NOAEL は本試験の最高用量である 250 mg/kg 体重/日と考えられた。催奇形性は認められなかった。

（5）妊娠末期単回投与試験（ラット） ＜参考データ＞ （参照 32）

ラット（妊娠 21 日）にアセトアミノフェンを強制経口投与（0、10、100 及び 1,000 mg/kg 体重）し、胎生期動脈管に対する収縮作用について検討を行った。投与 4 時間後に帝王切開で取り出した胎児を呼吸開始前に直ちに－80 ℃のドライアイス・アセトンに投入、凍結し、ミクロトームで切り、動脈管内径を計測した。その結果、臨床投与量での動脈管収縮作用は軽度であった。

（6）長期反復投与繁殖試験（マウス） ＜参考データ＞ （参照 33）

マウス（ABC-A 系、雄 20 匹＋雌 30 匹/投与群、131 匹/対照群）にアセトアミノフェンを 50 週間以上混餌投与（0、0.1、0.5 及び 1 %）し、生殖への影響について検討した。5 世代にわたって試験を継続する予定であったが、各投与群では出生数が減少し、いずれの濃度においても第 1 世代を超えて試験を継続することができなかった。なお、アセトアミノフェンの一日平均摂取量は 0.1、0.5 及び 1 %投与群でそれぞれ 130、615 及び 1,210 mg/kg 体重/日であった。

各投与群においては、平均生存期間が有意に短縮されたほか、出産率及び離乳率の低下が認められた。

7．遺伝毒性試験 （参照 34~44）

（1）遺伝毒性試験の結果一覧

アセトアミノフェンの遺伝毒性に関する各種の *in vitro* 及び *in vivo* 試験の結果を表 33 及び 34 にまとめた。

表 33 *in vitro* 試験

試験	対象	用量	結果
Ames 試験	*Salmonella typhimurium* TA98、TA100、TA1535、TA1537、TA1538	5、50、500、1,000、2,500、5,000 μg/plate （±S9）	陰性 (参照 34)
	S. typhimurium TA97、TA98、TA100、TA1535、TA1537、TA1538	0.1、0.5、1、5、10、50 mg/plate （±S9）	陰性 (参照 35)
	S. typhimurium TA98、TA100、TA102	0.5、1、5、10、20 mM （+S9）	陰性 (参照 36)

DNA 損傷試験（アルカリ溶出試験）	ラット肝臓がん細胞	10 mM	陰性 (参照 36)
	チャイニーズハムスター V79 細胞	1、3、10 mM 2 時間処理	陽性 1) (参照 37)
DNA 合成阻害試験	チャイニーズハムスター V79 細胞	0.5、1 mM 30 分間処理	陽性 (参照 37)
不定期DNA合成試験（UDS 試験）	マウス肝臓細胞	0.1、0.5、1、2.5、5、7.5、10 mM	一部で陽性 2) (参照 36)
	チャイニーズハムスター V79 細胞	0.25、0.5、1、2.5、10 mM 2 時間処理	陰性 (参照 37)
	マウス肝臓初代培養細胞	0.1、0.5、1、2.5、5、7.5、10 mM （±MC 及び PCB による前処理) 18~19 時間処理	一部で陽性 3) (参照 38)
	ラット肝臓初代培養細胞	0.5、1、2.5、5、7.5、10 mM（−S9) 18~19 時間処理	陽性 4) (参照 38)
	ハムスター肝臓初代培養細胞	0.1、0.5、1、2.5、5、7.5 mM（−S9) 18~19 時間処理	陰性 5) (参照 38)
	モルモット肝臓初代培養細胞	0.1、0.5、1、2.5、5、7.5、10 mM（−S9) 18~19 時間処理	陰性 6) (参照 38)
姉妹染色分体交換試験	チャイニーズハムスター V79 細胞	1、3、10 mM （±マウス肝実質細胞共培養) 2 時間処理	陽性 7) (参照 37)
		0、12.5、25、50、100 μg/mL（±ラット肝実質細胞共培養)	陽性 8) (参照 39)
染色体異常試験	チャイニーズハムスター V79 細胞	0.1、0.316、1、3.16、10 mM（±S9) 処理時間 (処理開始後細胞採取時間；単位ー時間) : 6 (6)、2 (12)、12 (12)、24 (24)	一部で陽性 9) (参照 40)
		0、25、50、100、200 μg/mL（±ラット肝実質細胞共培養) 24、48 時間処理	陽性 10) (参照 39)
小核試験	ラット腎線維芽細胞株 NRK-49F	5、10、20 mM 60 分間処理	一部で陽性 11) (参照 41)

1) : 5.0 mM 以上で DNA 修復合成を増加し、細胞毒性も認められた。

2)：用量依存性の増加が認められた。

3)：5 mM を超える濃度で陽性。5 mM を超える用量で肝臓細胞毒性あり。MC 及び PCB で前処理したマウスの肝臓初代培養細胞では、不定期 DNA 合成及び肝臓細胞毒性の閾値低下。

4)：用量依存性の軽度の増加が認められた。5 mM を超える用量で肝臓細胞毒性あり。

5)：0.5~1.0 mM を超える用量で肝臓細胞毒性あり。

6)：5 mM を超える用量で肝臓細胞毒性あり。

7)：マウス肝実質細胞との共培養による影響は認められず、10 mM で約 2 倍の増加が認められた。

8)：用量依存性の増加が認められた。12.5 μg/mL はラット肝実質細胞との共培養した場合のみ実施。

9)：−S9 下でほとんどの処理時間において 1 mM を超える用量で陽性。+S9 下の 1 mM を越える用量で陽性。+S9 下で分裂中期細胞に対し、1 mM を超える用量で陽性。

10)：用量依存性の増加が認められた。24 時間処理より 48 時間処理で異常を伴った細胞の出現率が増加。ラット肝実質細胞と共培養を行った時よりも行わなかった時の方が異常を伴った細胞の出現率が増加。

11)：10 mM 以上の用量で陽性。

表 34　*in vivo* 試験

試験	対象	用量	結果
染色体異常試験	マウス、雄、9~12 週齢 5 匹/群	100、200、400、800 mg/kg 体重　単回投与	一部で陽性 1) (参照 42)
	マウス、雄、9~12 週齢 5 匹/群	100、200、400 mg/kg 体重/日　3 及び 5 日間反復投与	一部で陽性 2) (参照 42)
	ラット胎児	0、500、1,000 mg/kg 体重/日　母動物の交尾 2 週間前から交尾成立 11.5 日後までの 28 日間経口投与	陽性 3) (参照 43)
姉妹染色分体交換試験	マウス、雄、9~12 週齢 5 匹/群	100、200、400、800 mg/kg 体重　単回投与	一部で陽性 1) (参照 42)
不定期 DNA 合成試験	健常ヒト、男 3 名、女 8 名 平均 37.7±6.1 才 末梢血リンパ球	1,000 mg×3 回/8 時間 (治療用量) 判定：初回投与 24、72、168 時間後	一部で陽性 4) (参照 44)
小核試験	健常ヒト、男 3 名、女 8 名 平均 37.7±6.1 才 頬粘膜細胞	1,000 mg×3 回/8 時間 (治療用量) 判定：初回投与 24、72、168 時間後	一部で陽性 5) (参照 44)

1)：400 mg/kg 体重以上投与群の骨髄（体細胞）及び精母細胞（胚細胞）で陽性。

2)：400 mg/kg 体重/日の 3 及び 5 日間投与群の骨髄（体細胞）及び精母細胞（胚細胞）で陽性。

3)：染色体異常を有する胎児の発生頻度は 500 mg/kg 体重/日のみ有意差あり。

4)：初回投与 24 時間後のみ陽性。

5)：初回投与 72 時間後のみ陽性。

in vitro の細菌を用いた Ames 試験及び不定期 DNA 合成試験（チャイニーズハムスターV79 細胞、ハムスター及びモルモット肝臓細胞）では陰性を示したが、げっ歯類動物細胞を用いた DNA 損傷試験（アルカリ溶出試験）、DNA 合成阻害試験、不定期 DNA 合成試験（マウス及びラット肝臓細胞）、姉妹染色分体交換試験、染色体異常試験及び小核試験において陽性又は一部で陽性を示した。また、*in vivo* の染色体異常試験、姉妹染色分体交換試験、不定期 DNA 合成試験、小核試験ではいずれも一部で陽性を示した。

in vitro 試験における陽性結果は 0.5 mM 以上と比較的高用量で認められている。一方、*in vivo* の染色体異常試験及び姉妹染色分体交換試験では 400 mg/kg 体重以上で陽性を示していることから、高用量で処理した場合に、マウス骨髄及び精母細胞に対して顕著な細胞遺伝学的な毒性を示すと考えられた。また、不定期 DNA 合成試験では初回投与 24 時間後のみ、小核試験では初回投与 72 時間後のみに陽性結果が得られているがそれ以外の処理時間では陽性の結果は認められなかった。これらの結果から、アセトアミノフェンが体内に高濃度で長時間暴露することにより DNA 損傷及び染色体異常を誘発することを示唆するものと考えられた。

したがって、アセトアミノフェンは遺伝子突然変異を起こさないが、染色体異常を発現させうる物質とみなされる。*in vivo* においても高用量において染色体異常を誘発するが、低用量では解毒代謝等の機構により、その遺伝毒性は検出限界以下に抑制されると考えられた。

（2）EMEA における遺伝毒性の評価 （参照 2、75）

一連の Ames 試験で、アセトアミノフェンもその代謝物である *N*-アセチル-p-ベンゾキノンイミン（NAPQI）も細菌の遺伝子突然変異を誘発することはなかった。*in vitro* 及び *in vivo* で DNA との共有結合が認められた。DNA 修復に関するアッセイの結果は一貫性が認められなかった。アセトアミノフェンは微小管重合に影響することはなかったが、*in vitro* において姉妹染色分体交換を誘発したほか、*in vitro* 及び *in vivo* のいずれにおいても染色体構造異常を誘発した。これらの作用機序は十分に解明されていないが、反応性中間代謝物によって肝毒性及び腎毒性が誘発される機序と同様と思われる。これらの作用は、治療用量における血漿中濃度となる 3~10 倍の細胞毒性を示す濃度でのみ発生すると思われ、突然変異誘発性が認められず、かつ治療用量範囲を上回る閾値用量が存在することを示している。いくつかの試験で、ヒトにおける *in vivo* で染色体構造異常が誘発されることが示されている。しかし、これらの試験の方法論及び解釈には批判があり、最近、実施された多数の被験者によるよく管理された二重盲検試験では、染色体構造異常誘発性は認められなかった。生殖細胞 DNA に対するアセトアミノフェンの作用に関して信頼できる報告はないが、細胞毒性を示す高用量を投与した場合を除いて、このような染色体異常が発生するのではないかと考える理由はない。

実験的研究では高用量で染色体を損傷することが示されているが、ヒトでの染色体構造異常誘発性に関する試験については、最近の試験では陰性の結果が得られており、あいまいな試験結果となっている。

EMEA では、総合的には、アセトアミノフェンは遺伝子突然変異を誘発しないが、染色体異常誘発に関しては、*in vivo* においても高用量で誘発する場合があるとしている。

しかし、アセトアミノフェンの染色体異常誘発作用には閾値があると考えられるため、細胞毒性を示さない低用量では遺伝毒性を示さないと結論している。

8．一般薬理試験　(参照 18、45)

アセトアミノフェンの一般薬理試験が各種実施されており、結果を表 35 に示した。中枢神経の自発運動低下、睡眠時間増強等、いずれも高用量投与で影響が認められた。

表 35　アセトアミノフェンの一般薬理試験結果

作用	検査項目又は試験の種類	動物種	投与経路 投与量	試験結果 (投与量の単位省略)
解熱 (参照 45)	直腸温	ウサギ	直腸内 50~400 mg/匹	50~400：誘発された発熱の抑制 400：わずかに体温低下
鎮痛 (参照 45)	酢酸ストレッチング法	マウス (dd 系)	経口 180~311 mg/kg 体重	180~311：苦もん反応抑制 ED_{50}：255
	Randall-Selitto 法	ラット (Wistar 系)	経口 200~800 mg/kg 体重	200~800：炎症足の疼痛閾値上昇
抗炎症 (参照 45)	Carrageenin 足蹠浮腫法	ラット (Wistar 系)	経口 100~1,000 mg/kg 体重	100：変化なし 200~1,000：炎症による浮腫抑制
中枢神経系 (参照 45)	行動観察	マウス (dd-Y 系)	経口 100~800 mg	100：変化なし 300：軽度の自発運動低下、鎮静、1~2 時間後回復 600、800：鎮静、うずくまり、呼吸数減少、立毛 3~4 時間後回復
	睡眠時間増強作用	マウス (dd-Y 系)	経口 100~500 mg/kg 体重	100：変化なし 300、500：睡眠時間延長
	自発運動に対する作用	マウス (dd-Y 系)	経口 100~600 mg/kg 体重	100~600：用量依存的な自発運動量減少
血液系 (参照 45)	溶血作用	ウサギ血球	0.5、1、2 %溶液	0.5、1：溶血作用なし 2：軽度溶血
循環器系 (参照 18)	冠血流量	ネコ摘出心臓	2 mg	2：拍動の強度又は心拍数を顕著に変化させることなく、冠血流量を中等度増加

9．ヒトへの影響 （参照 2、46~74）

（1）経口投与試験

小児患者（1.5~8 歳、26 人）にアセトアミノフェン液剤を経口投与（5、10 及び 20 mg/kg 体重）し、平均血中濃度及び体温変化について調べた。

平均血中濃度及び体温変化の結果から、アセトアミノフェンの投与量が増えるに従って血中濃度は高くなり、同時に体温降下作用は増強され、より長い時間維持された。5 mg/kg 体重投与群の体温降下作用は統計学的に有意なものではなかったが、10 mg/kg 体重以上投与群では有意な体温降下が認められ、特に 20 mg/kg 体重では強く認められた。よって、5 mg/kg 体重の用量を投与しても解熱剤としての作用は持たないと考えられた。

一方、EMEA の評価においては、小児に対する投与試験では十分な解熱作用を得るためにアセトアミノフェン 10~15 mg/kg 体重の用量を 4 時間毎に投与する必要があり、5 mg/kg 体重の経口投与では解熱作用は不十分であったほか、別試験では小児に対する 5 mg/kg 体重の用量は解熱剤としてプラセボと同様に効果がなかった。しかし、いくつかの国における臨床用量について考慮し、5 mg/kg 体重の用量が特定の病状におけるヒト幼児の推奨用量とされていること等から総合的に判断した結果、5 mg/kg 体重の用量で影響があることを否定できないことから、ヒトの幼児における薬理学的な LOEL は 5 mg/kg 体重/日と結論している。

（2）肝毒性及び腎毒性のメカニズム

アセトアミノフェンの肝毒性が起こるメカニズムは、次のとおりである。

アセトアミノフェンは原則的にグルクロン酸抱合及び硫酸抱合により代謝されるが、マイナーな代謝経路のチトクロム P-450 による酸化で、中間代謝物の求電子性の高い化合物 NAPQI が生成される。治療用量では、この中間代謝物は急速にグルタチオンにより抱合されて無毒化される。しかし、大量に服用した場合には抱合代謝されなかった NAPQI が肝細胞タンパク質及び DNA と共有結合するため、肝細胞壊死を生じる。また、腎臓では腎尿細管のタンパク質と結合して、腎毒性を生じる。

毒性用量では、グルクロン酸抱合及び硫酸抱合の飽和が生じ、結果的に増大した酸化代謝の中間代謝物 NAPQI がグルタチオンの枯渇とこの中間代謝物の蓄積を導き毒性を示す。

（3）肝毒性及び腎毒性に関する知見

アセトアミノフェンのヒトにおける経口常用量は 325~1,000 mg（直腸では 650 mg）/ヒトで、総 1 日量は 4 g/ヒト（66.7 mg/kg 体重/日[3]）を超えてはならないとされ、小児において 1 回用量は 40~480 mg/ヒトで、24 時間以内に 5 回以上投与してはならないとされている。アセトアミノフェンは推奨される治療用量において良好な忍容性を示し、慢性関節炎患者に最高推奨用量（4 g/ヒト/日(66.7 mg/kg 体重/日)）では、ほとんど問題が認められず、同様に関節炎患者に対し 2 年間経口投与（9.3 g/ヒト/日(155 mg/kg 体重/日)）した場合も胃腸障害、発疹等の軽度の一過性の副作用が 18 %の被験者に認められ

[3] ヒト体重 60 kg としての換算値。以下同じ。

たのみであった。また、発熱外来小児患者に 12 mg/kg 体重を単回投与しても、非ステロイド抗炎症薬で問題とされる急性消化管出血や急性腎不全等は観察されなかった。

アセトアミノフェンの急性過量投与による最も重篤な有害作用は肝毒性（肝細胞壊死）で、小児で 140 mg/kg 体重以上、成人で 7.5 g/ヒト（125 mg/kg 体重/日）以上の急速な摂取により著しい一過性の肝毒性が生じる可能性があると報告されている。肝硬変やアルコール性肝炎等慢性肝疾患を有する場合には、忍容性が低下する場合があるが、絶食等の他の要因の関与も示唆されている。また、米国腎財団における専門家会議の結果、単剤で非常に高用量のアセトアミノフェンを常用（500 mg~1 g/kg 体重/日を数週間~数ヶ月）することで腎毒性（腎尿細管壊死）が生じることがあるとされた。一方で、健常女性に最高推奨用量のアセトアミノフェン（4 g/ヒト/日(66.7 mg/kg 体重/日)）を 3 日間投与した試験でも、少なくとも 1 年以上毎日 1 g/ヒト/日（16.7 mg/kg 体重/日）を投与した場合（累積摂取量：2~30 kg）でも腎機能への影響は認められなかった。

以上より、アセトアミノフェンはヒトに対し忍容性が高く（慢性肝疾患患者では忍容性が低下する場合有り）、肝毒性は急性過量投与により、腎毒性は非常に高用量の常用により生じると考えられる。一過性の肝毒性が生じる量（7.5 g/ヒト以上/日(125 mg/kg 体重/日)）を毒性量と考えると LOAEL が 125 mg/kg 体重/日と考えられた。

（4）疫学的知見

アセトアミノフェンの継続的な服用と各種悪性腫瘍との関連性に関する症例対照研究や前向きコホート研究による多数の国外における疫学的知見が報告されている。
血液系の悪性腫瘍については、リンパ腫（ホジキン及び非ホジキンリンパ腫を含む。）、多発性骨髄腫、急性白血病について、アセトアミノフェンの服用によるオッズ比の増加が認められている。

また、固形癌については、食道癌、腎癌及び肺癌では、アセトアミノフェンの服用がリスクの増加に関連性があるとの報告と関連性は認められないとの報告とが混在している。肝癌では、有意ではないが増加傾向が見られたと報告されている。一方、子宮内膜癌及び膀胱癌に対しては、アセトアミノフェンの影響は認められなかったと報告されている。卵巣癌及び乳癌では、リスクの抑制又は抑制傾向を認めたとの報告と関連性は認められないとの報告がある。さらに、前立腺癌及び多形性膠芽腫ではリスクの抑制と関連するとの報告がある。これらの疫学的知見については、種々のバイアスや交絡因子等の影響を考慮する必要があることから更なる詳細な研究が必要である。

Ⅲ. 食品健康影響評価

1．毒性学的影響について

（1）亜急性毒性試験

亜急性毒性試験については、マウスを用いた 13 週間亜急性毒性試験及びラットを用いた 19 日間、13 週間亜急性毒性試験が実施されている。これらの試験の中で最も低い投与量で認められた毒性影響は、19 日間亜急性毒性試験（幼若ラット）における肝臓の比重量の高値、肝細胞肥大及び回腸上皮細胞の空胞化等であり、当該試験の NOAEL は 80 mg/kg 体重/日であった。

（2）発がん性試験

発がん性試験については、マウスを用いた104週間、134週間発がん性試験及びラットを用いた104週間発がん性試験2試験が実施されている。マウスを用いた試験では、発がん性は認められなかった。ラットを用いた2試験のうち、1試験では対照群及び投与群に種々の腫瘍が認められたが用量相関性のある発生頻度の増加はなく、発がん性は認められなかった。ラットを用いたもう一方の試験であるNTPレポートの発がん性試験データでは、雄では発がん性は認められていないが、慢性腎症の重篤度の有意な増加が認められた。雌については、6,000 ppm（320 mg/kg体重/日：最高用量）投与群のみで単核細胞性白血病の発生率の有意な増加が確認されているが、背景データの範囲の上限に比べて明らかに高いものではなかったことから、NTPでは雌のF344系ラットにおけるアセトアミノフェンの発がん性について、“equivocal evidence（あいまいな証拠）”と結論づけている。

さらに、F344系ラットにおいて単核細胞性白血病が加齢により高率で発症が認められることが公表文献等で報告されている。したがって、発がん性試験の雌の最高投与群で認められた単核細胞性白血病は、F344系ラットに系統特異的に発生したものと考えられ、また、他動物種のマウスの発がん性試験では白血病の発生頻度における増加は投与群に認められていないことから、ヒトにおける発がん性の評価に外挿することは適切ではないと考えられた。

これらの試験の中から認められた最も低い用量の毒性影響は、慢性腎症の重篤度の有意な増加であり、LOAELは30 mg/kg体重/日である。

（3）生殖発生毒性試験

生殖発生毒性試験については、マウスを用いた継続繁殖毒性試験、雄ラットを用いた繁殖毒性試験、ラット及びマウスの器官形成期投与試験が実施された。

継続繁殖毒性試験では、P親動物の平均出産回数の減少及びF_1動物の体重増加抑制等が認められた。雄ラットを用いた繁殖毒性試験では繁殖能に阻害作用が認められたが休薬によって回復が可能であった。また、ラット及びマウスを用いた器官形成期投与試験では、いずれも催奇形性は認められなかった。

これらの試験の中で最も低いNOAELはマウスを用いた器官形成期投与試験における母動物及び児動物に対する100 mg/kg体重/日であった。

（4）遺伝毒性試験

遺伝毒性試験については、*in vitro*のAmes試験、DNA損傷試験（アルカリ溶出試験）、DNA合成阻害試験、不定期DNA合成試験（UDS試験）、姉妹染色分体交換試験、染色体異常試験及び小核試験、*in vivo*の染色体異常試験、姉妹染色分体交換試験、不定期DNA合成試験及び小核試験が実施された。

そのうち、*in vitro*のDNA損傷試験（アルカリ溶出試験）、DNA合成阻害試験、不定期DNA合成試験（マウス及びラット肝臓細胞）、姉妹染色分体交換試験、染色体異常試験及び小核試験において陽性又は一部で陽性を示した。また、*in vivo*の染色体異常試験、姉妹染色分体交換試験、不定期DNA合成試験及び小核試験では、いずれも一部陽

性を示した。これらの結果から、アセトアミノフェンは体内に高濃度で長時間暴露することにより、DNA 損傷及び染色体異常を誘発することを示唆するものと考えられた。

EMEA の評価では、遺伝毒性試験における陽性の結果は、治療用量の 3~10 倍の細胞毒性を示す濃度のみで発生し、治療用量を上回る閾値が存在することが示唆されている。総合的には、アセトアミノフェンは遺伝子突然変異を誘発せず、高用量において染色体異常誘発作用を示す場合があるが、細胞毒性を示さない低用量では遺伝毒性を示さないと結論づけられている。

これらのことから、アセトアミノフェンは遺伝子突然変異を起こさないが、染色体異常を発現させうる物質とみなされる。*in vivo* においても高用量において染色体異常を誘発するが、低用量では解毒代謝等の機構により、その遺伝毒性は検出限界以下に抑制されると考えられた。

（5）ヒトにおける影響

アセトアミノフェンはヒト用医薬品としての長い使用歴があり、国内では解熱鎮痛剤として販売されている。また、アセトアミノフェンは主に肝臓及び腎臓に毒性影響があることが知られており、これらの毒性のメカニズムについては既に解明されている。アセトアミノフェンは、ヒトの体内でグルクロン酸抱合又は硫酸抱合を受けて速やかに代謝、排泄され、一部は薬物代謝酵素 P450 によるアセトアミノフェンの酸化経路によって高い活性を有する中間代謝物の NAPQI が生成されるが、臨床用量の場合、グルタチオン抱合されて無毒化される。大量に服用した場合、抱合されなかったこの NAPQI は肝細胞タンパク質等と結合するため、肝細胞壊死が生じる。また、腎臓においては、この代謝物が腎尿細管のタンパク質と結合し、腎毒性を生じることが知られている。しかしながら、薬物動態における代謝、排泄、残留試験の結果を考慮すると、食用に供される動物に対して投与されたアセトアミノフェンがヒトへの肝及び腎毒性を発現させるほど高濃度で長期間、食用動物の臓器及び組織中に残留するとは考えられない。

また、疫学的知見では、アセトアミノフェン服用と悪性腫瘍との関連性について報告されているが、これらの知見については、種々のバイアス等の影響を考慮する必要があることから、更なる詳細な研究が必要である。

2．一日摂取許容量（ADI）の設定について

（1）EMEA における評価

EMEA では、ヒトの幼児における薬理学的知見に基づく LOEL 5 mg/kg 体重/日に、安全係数として、この LOEL が成人の最低治療用量に非常に近いことに考慮して、100 を適用し、ADI を 0.05 mg/kg 体重/日と設定している。

ラットにおける腎臓及び肝臓への慢性影響並びにマウスにおける生殖に対する影響における NOAEL が特定できなかったため、毒性学的 ADI は算出できなかったとしている。

（2）一日摂取許容量（ADI）の設定について

アセトアミノフェンは、遺伝子突然変異は起こさないが、高用量では染色体異常を発

現させる物質であると考えられる。一方、低用量では解毒代謝等の機構により、その遺伝毒性は検出限界以下に抑制されると考えられた。また、アセトアミノフェンの残留性を考慮すると、高濃度に畜産物中に残留する可能性は小さく、ヒトが食品を通じてアセトアミノフェンに高用量で長期間慢性的に暴露されることはないものと考えられる。

発がん性試験においてF344系ラットに単核細胞性白血病が認められているが、本病変はこの系統のラットに特異的に高い発生率を示すと考えられるため、この試験結果をヒトへ外挿することは適切でないこと及びその他の試験では発がん性は認められていないことから、アセトアミノフェンのADIを設定することは可能であると考えられた。

各種動物における毒性試験の結果からは、最も低い用量で毒性学的影響がみられたのは、ラットの104週間発がん性試験における慢性腎症の重篤度の有意な増加であり、LOAEL 30 mg/kg体重/日であった。このLOAELに安全係数として個体差10、種差10、LOAELを用いること及び十分な慢性毒性試験を欠くことを考慮した追加の10の1,000を適用し、ADIは0.03 mg/kg体重/日と設定された。

一方、ヒトにおける知見からは、EMEAから報告されているヒト幼児の薬理学的知見に基づくLOAEL 5 mg/kg体重/日が得られており、このLOAELに、安全係数として個体差10、LOAELを用いることを考慮した追加の10の100を適用し、ADIは0.05 mg/kg体重/日と設定された。

以上のことから、各種動物における毒性試験から算出したADIが、ヒトにおける知見から算出したADIに比較して低い値であるため、アセトアミノフェンのADIは0.03 mg/kg体重/日と設定することが適当であると考えられた。

以上より、アセトアミノフェン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。

アセトアミノフェン　0.03 mg/kg体重/日

〈別紙 1：検査値等略称〉

略称	名称
ADI	一日摂取許容量
ALT	アラニンアミノトランスフェラーゼ [=グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ（GPT)]
AST	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ [=グルタミン酸オキサロ酢酸トランスアミナーゼ（GOT)]
AUC	血漿薬物濃度曲線下面積
C_{max}	最高濃度
ED_{50}	50%有効量
EMEA	欧州医薬品庁
Glu	グルコース
HPLC	高速液体クロマトグラフィー
Kel	消失速度定数
LC/MS	高速液体クロマトグラフィー／質量分析
LD_{50}	半数致死量
LOAEL	最小毒性量
LOEL	最小作用量
NOAEL	無毒性量
NTP	米国国家毒性プログラム
PLT	血小板数
PL	リン脂質
$T_{1/2}$	消失半減期
T.Bil	総ビリルビン
T.Chol	総コレステロール
TG	トリグリセリド
T_{max}	最高濃度到達時間

〈参照〉

1. 明治製菓株式会社. 動物用医薬品製造販売承認申請書 アレンジャー30 添付資料：概要（未公表）
2. EMEA, COMMITTEE FOR VETERINARY MEDICINAL PRODUCTS. "PARACETAMOL", SUMMARY REPORT, 1999
3. 日本全薬工業株式会社. 動物用医薬品製造販売承認申請書 ピレキシン 10% 添付資料：概要（未公表）
4. Fatma Yurt Lambrechit, Kubra, Yeliz Yildirim. Cigdem Acar. Labeling of Acetaminophen with I-131 and Biodistribution in Rats. Chemical & Pharmaceutical Bulletin, 2006; 54(2), p.245-247
5. 川崎良彦, 立田和宏, 鈴木泰, 鈴木幸雄. 幼若動物におけるアセトアミノフェンシロップの体内動態, 薬物動態, 1994; 9(4), p.482-498
6. 明治製菓株式会社. 動物用医薬品製造販売承認申請書 アレンジャー30 添付資料：添付資料 12-4 ME4613 の豚における分析試験（未公表）
7. 日本全薬工業株式会社. 動物用医薬品製造販売承認申請書 ピレキシン 10% 添付資料：XII. 吸収等試験 XII-3. CHRYSALIS「Large White Pig（大型白色ブタ）」に経口（混餌）投与した ^{14}C 標識パラセタモールの総残留量の評価 試験報告書, 1998（未公表）
8. 明治製菓株式会社. 動物用医薬品製造販売承認申請書 アレンジャー30 添付資料：添付資料 12-1 豚用アセトアミノフェン製剤の血中濃度測定（混餌投与）（未公表）
9. 明治製菓株式会社. 動物用医薬品製造販売承認申請書 アレンジャー30 添付資料：添付資料 12-2 豚用アセトアミノフェン製剤の血中濃度測定（水溶液強制経口投与）（未公表）
10. 日本全薬工業株式会社. 動物用医薬品製造販売承認申請書 ピレキシン 10% 添付資料：XII. 吸収等試験 XII-1. DUMAS J. -2002- パラセタモールの豚における薬物動態試験（未公表）
11. 明治製菓株式会社. 動物用医薬品製造販売承認申請書 アレンジャー30 添付資料：添付資料 12-5 豚用アセトアミノフェン製剤の排泄試験（未公表）
12. 明治製菓株式会社. 表題：豚用アセトアミノフェン製剤の排せつ試験－代謝物についての検討－：最終報告書（未公表）
13. 日本全薬工業株式会社. 動物用医薬品製造販売承認申請書 ピレキシン 10% 添付資料：XII. 吸収等試験 XII-2. PHATOPHY 社 SOGEVAL Laboratories 社製パラセタモール 20%経口溶液をブタに経口投与したときのパラセタモールの代謝に関する試験 最終報告書, 2001（未公表）
14. 明治製菓株式会社. 動物用医薬品製造販売承認申請書 アレンジャー30 添付資料：添付資料 15-1 ME4613 の豚における残留性試験（I）（未公表）
15. 明治製菓株式会社. 動物用医薬品製造販売承認申請書 アレンジャー30 添付資料：添付資料 15-2 ME4613 の豚における残留性試験（II）（未公表）
16. 日本全薬工業株式会社. 動物用医薬品製造販売承認申請書 ピレキシン 10% 添付資料：XV. 残留性試験 XV-1. 最終報告書 NZ14 の豚における残留性試験 試験番号 07-166（未公表）

17. 日本全薬工業株式会社. 動物用医薬品製造販売承認申請書 ピレキシン10% 添付資料：XV. 残留性試験 XV-2. NZ14 (PRACETAM) の豚における残留性試験 (未公表)
18. 明治製菓株式会社. 動物用医薬品製造販売承認申請書 アレンジャー30 添付資料：添付資料 6-1
GALE C BOXILL, CLINTON B NASH, and ALLAN G WHEELER. Comparative Pharmacological and Toxicological Evaluation of N-Acetyl-*p*-Aminophenol, Salicylamide, and Acetylsalicylic Acid. Scientific Edition, 1958; p.479-487
19. 明治製菓株式会社. 動物用医薬品製造販売承認申請書 アレンジャー30 添付資料：添付資料 6-2
Edwin I Goldenthal. A Compilation of LD50 Values in Newborn and adult Animals. Toxicology and Applied Pharmacology, 1971; 18, p.185-207
20. 明治製菓株式会社. 動物用医薬品製造販売承認申請書 アレンジャー30 添付資料：添付資料 6-3
J guasch, M Grau, J L Montero and A Felipe. Pharmaco-Toxicological Effects of Acetaminophen in Rodents. Battery of Test to Screen Potential Analgesic Acetaminophen Derivatives. Meth find Exp Clin Pharmacol, 1990; 12(2), p.141-148
21. 明治製菓株式会社. 動物用医薬品製造販売承認申請書 アレンジャー30 添付資料：添付資料 6-4
秋江靖樹, 石山芳則, 松井裕, 志熊廣夫, 仲澤政雄, 小野葵, 長瀬守治. アセトアミノフェンの毒性試験 (第1報) 幼若及び成熟ビーグルにおける単回経口投与毒性試験. 医薬品研究, 1993; 24(4), p.602-614
22. 明治製菓株式会社. 動物用医薬品製造販売承認申請書 アレンジャー30 添付資料：添付資料 7-1
秋江靖樹, 藤岡繁, 石山芳則, 志熊廣夫, 仲澤政雄, 小野葵, 長瀬守治. アセトアミノフェンの毒性試験 (第2報) 幼若ラットにおける19日間反復経口投与毒性試験. 医薬品研究, 1993; 24(6), p.615-626
23. 明治製菓株式会社. 食品健康影響評価に係る補足資料 アセトアミノフェンを有効成分とする豚の経口投与剤 (アレンジャー10、アレンジャー30)：資料番号33 (未公表)
24. 明治製菓株式会社. 動物用医薬品製造販売承認申請書 アレンジャー30 添付資料：添付資料 7-4
Hiroyuki Amo, Mutsushi Matsuyama. Subchronic and Chronic Effects of Feeding of Large Amounts of Acetaminophen in B6C3F1 Mice. Japanese Journal of Hygiene, 1985; 40(2), p.567-574
25. Ward JM, Reynolds CW. Large Granular Lymphocyte leukemia. A Heterogeneous Lymphocytic Leukemia in F344 Rats. The American journal of pathology, 1983 April; 111(1), 1-10
26. Ishmael J, Dugard PH. A review of perchloroethylene and rat mononuclear cell leukemia. Regulatory Toxicology and Pharmacology, 2006 July; 45(2), 178-184
27. 明治製菓株式会社. 動物用医薬品製造販売承認申請書 アレンジャー30 添付資料：添付資料 8-12
Kogo Hiraga, Takashi Fujii. Carcinogenicity Testing of Acetaminophen in F344 Rats. Japanese journal of cancer research, 1985; 76, p.79-85

28. Jerry R Reel, A Davis Lawton, James C Lamb IV. Reproductive Toxicity Evaluation of Acetaminophen in Swiss CD-1 Mice Using a Continuous Breeding protocol. Fundamental and Applied Toxicology, 1992; 18, 233-239
29. W D Ratnasooriya, J R A C Jayakody. Long-term administration of large doses of paracetamol impairs the reproductive competence of male rats. Asian Journal of Andrology, 2000 Dec; 2 (4), 247-255
30. 明治製菓株式会社. 食品健康影響評価に係る補足資料 アセトアミノフェンを有効成分とする豚の経口投与剤（アレンジャー10、アレンジャー30）：資料番号 31
小川秀一, 荒川永太郎, 室伏朝夫, 山田秀雄, 伊藤治朗. NB-6 の生殖試験ーマウス経口投与における胎仔の器官形成期投与試験ー
31. 明治製菓株式会社. 動物用医薬品製造販売承認申請書 アレンジャー30 添付資料：添付資料 8-1
W C Lubawy and R J Burriss Garrett. Effects of aspirin and acetaminophen on fetal and placental growth in rat. Journal of Pharmaceutical Sciences, 1977; Vol.66, No.1, p.111
32. 胎児循環とプロスタグランディン. 小児科の進歩, 診断と治療社, 1983; 2 巻, 95-101
33. Harold N Wright. Chronic Toxicity Studies of Analgesic and Antipyretic Drugs and Congeners. Toxicology and Applied Pharmacology, 1967; 11, 280-292
34. 明治製菓株式会社. 動物用医薬品製造販売承認申請書 アレンジャー30 添付資料：添付資料 8-3
James W Oldham, Robert F Preston, John D Paulson. Mutagenicity Testing of Selected Analgesics in Ames *Salmonella* Strains. Journal of Applied Toxicology, 1986; 6(4), p.237-243
35. 明治製菓株式会社. 動物用医薬品製造販売承認申請書 アレンジャー30 添付資料：添付資料 8-4
M L Jasiewicz, J C Richardson. Absence of mutagenic activity of benorylate, paracetamol and aspirin in the salmonella/mammalian microsome test. Mutation Research, 1987; 190, p.95-100
36. 明治製菓株式会社. 動物用医薬品製造販売承認申請書 アレンジャー30 添付資料：添付資料 8-5
Erik Dybing, John A Holme, W Perry Gordon, Erik J Soderlund, David C Dahlin, Sidney D Nelson. Genotoxicity studies with paracetamol. Mutation Research, 1984; 138, p.21-32
37. 明治製菓株式会社. 動物用医薬品製造販売承認申請書 アレンジャー30 添付資料：添付資料 8-6
Jan K Hongslo, Terje Christensen, Gunnar Brunborg, Christine Bjornstad, Jorn A Holme. Genotoxic effects of paracetamol in V79 Chinese hamster cells. Mutation research, 1988; 204, p.333-341
38. 明治製菓株式会社. 動物用医薬品製造販売承認申請書 アレンジャー30 添付資料：添付資料 8-8
Jorn A Holme, Erik Soderlund. Species differences in cytotoxic and genotoxic effects of phenacetin and paracetamol in primary monolayer cultures of hepatocytes, Mutation Research, 1986; 164, p.167-175

39. 島根義雄. チャイニーズ・ハムスター肺由来V79細胞に対するアセトアミノフェンの突然変異誘発,歯学, 1985; 72(5), p.1175-1187
40. 明治製菓株式会社. 動物用医薬品製造販売承認申請書 アレンジャー30 添付資料：添付資料 8-7
Lutz Muller, Peter Kasper, Stephan Madle. Further investigations on the clastogenicity of paracetamol and acetylsalicylic acid in vitro, Mutation Research, 1991; 263, p.83-92
41. 明治製菓株式会社. 動物用医薬品製造販売承認申請書 アレンジャー30 添付資料：添付資料 8-10
Timothy L Dunn, Robert A Gardiner, Gregory J Seymor, Martin F Lavin. Genotoxicity of analgesic compounds assessed by an *in vitro* micronucleus assay. Mutation Research, 1987; 189, p.299-306
42. 明治製菓株式会社. 動物用医薬品製造販売承認申請書 アレンジャー30 添付資料：添付資料 8-9
Ayman A Farghaly. Mutagenic Evaluation of Paracetamol in Somatic and Germ Cells of Mice. Cytologia, 2003; 68(2), p.133-139
43. 鶴崎孝男, 渡辺厳一, 山本正治. ラット胎児に及ぼす解熱鎮痛薬（アスピリン, アセトアミノフェン）の生殖生理学的及び細胞遺伝学的影響, 日本衛生学雑誌, 1982; 37(5), p.787-796
44. 明治製菓株式会社. 動物用医薬品製造販売承認申請書 アレンジャー30 添付資料：添付資料 8-11
J Topinka, R J Sram, G Sirinjan, J Kocisova, B Binkova, I Fojtikova. Mutagenicity studies on Paracetamol in Human volunteers Ⅱ. Unscheduled DNA synthesis and micronucleus test. Mutation Research, 1989; 227, p.147-152
45. 明治製菓株式会社. 動物用医薬品製造販売承認申請書 アレンジャー30 添付資料：添付資料 11-1
松原一誠, 久保信治. Acetaminophen の薬理学的検索 下熱鎮痛効果ならびに一般薬理作用について, 現代の診療, 1979; 21 巻 6 号 6, p.215-223
46. A Windorfer, C Vogel .Untersuchungen über Serumkonzentrationen und Temperaturverlauf nach einer neuen oral applizierbaren flüssigen Paracetamolzubereitung. Klinische Padiatrie, 1976, 188, p.430-434
47. グッドマン・ギルマン 薬理書（上）薬物治療の基礎と臨床 第10版, 廣川書店, 1967; 896-899
48. Becker N, Fortuny J, Alvaro T, Nieters A, Maynadié M, Foretova L, Staines A, Brennan P, Boffetta P, Cocco PL, de Sanjose S. Medical history and risk of lymphoma: results of a European case-control study (EPILYMPH). Journal of cancer research and clinical oncology, 2009 August; 135(8), 1099-1107
49. Moysich KB, Bonner MR, Beehler GP, Marshall JR, Menezes RJ, Baker JA, Weiss JR, Chanan-Khan A. Regular analgesic use and risk of multiple myeloma. Leukemia Research, 2007 April; 31(4), 547-51
50. Joli R Weiss, Julie A Baker, Maria R Baer, Ravi J Menezes, Susan Nowell, Kirsten B Moysich. Opposing effects of aspirin and acetaminophen use on risk of adult

acute leukemia. Leukemia Research, 2006 February; 30(2), 164-169
51. Julie A Baker, Joli R Weiss, Myron S Czuczman, Ravi J Menezes, Christine B Ambrosone & Kirsten B Moysich. Regular use of aspirin or acetaminophen and risk of non-Hodgkin lymphoma. Cancer Causes and Control, 2005 April; 16(3), 301-308
52. Ikuko Kato, Karen L Koenig,Roy E Shore, Mark S Baptiste, et al. Use of anti-inflammatory and non-narcotic analgesic drugs and risk of non-Hodgkin's lymphoma(NHL)(United State). Canser Causes & Control, 2002 December; 13(10), 965-974
53. Ellen T Chang, Tongzhang Zheng, Edward G Weir, Michael Borowitz, Risa B Mann, Donna Spiegelman, Nancy E Mueller. Aspirin and the Risk of Hodgkin's Lymphoma in a Population-Based Case-Control Study. Journal of the National Cancer Institute, 2004 February 18; 96(4), 305-315
54. Pinheiro SP, Tworoger SS, Cramer DW, Rosner BA, Hankinson SE. Use of nonsteroidal antiinflammatory agents and incidence of ovarian cancer in 2 large prospective cohorts. American Journal of Epidemiology, 2009 January 1; 169(11), 1378-1387
55. Lacey JV Jr, Sherman ME, Hartge P, Schatzkin A, Schairer C. Medication use and risk of ovarian carcinoma: a prospective study. International Journal of cancer, 2004 January 10; 108(2), 281-286
56. Meier CR, Schmitz S, Jick H. Association between acetaminophen or nonsteroidal antiinflammatory drugs and risk of developing ovarian, breast, or colon cancer. Pharmacotherapy, 2002 March; 22(3), 303-309
57. Rosenberg L, Palmer JR, Rao RS, Coogan PF, Strom BL, Zauber AG, Stolley PD, Shapiro S. A case-control study of analgesic use and ovarian cancer. Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention, 2000 September; 9(9), 933-937
58. Moysich KB, Mettlin C, Piver MS, Natarajan N, Menezes RJ, Swede H. Regular use of analgesic drugs and ovarian cancer risk. Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention, 2001 August; 10(8), 903-906
59. Friis S, Nielsen GL, Mellemkjaer L, McLaughlin JK, Thulstrup AM, Blot WJ, Lipworth L, Vilstrup H, Olsen JH. Cancer risk in persons receiving prescriptions for paracetamol: a Danish cohort study. International Journal of cancer, 2002 January 1; 97(1), 96-101
60. Sadeghi S, Bain CJ, Pandeya N, Webb PM, Green AC, Whiteman DC. Australian Cancer Study. Aspirin, nonsteroidal anti-inflammatory drugs, and the risks of cancers of the esophagus. Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention, 2008 May; 17(5), 1169-1178
61. Viswanathan AN, Feskanich D, Schernhammer ES, Hankinson SE. Aspirin, NSAID, and acetaminophen use and the risk of endometrial cancer. Cancer Research, 2008 April 1; 68(7), 2507-2513
62. Moysich KB, Baker JA, Rodabaugh KJ, Villella JA. Regular analgesic use and risk

of endometrial cancer. Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention, 2005 December; 14(12), 2923-2928
63. Gill JK, Maskarinec G, Wilkens LR, Pike MC, Henderson BE, Kolonel LN. Nonsteroidal antiinflammatory drugs and breast cancer risk: the multiethnic cohort. American Journal of Epidemiology, 2007 November 15; 166(10), 1150-1158
64. Harris RE, Beebe-Donk J, Alshafie GA. Reduction in the risk of human breast cancer by selective cyclooxygenase-2 (COX-2) inhibitors. BMC Cancer, 2006 January 30; 6, 27
65. Harris RE, Beebe-Donk J, Alshafie GA. Reduced risk of human lung cancer by selective cyclooxygenase 2 (COX-2) blockade: results of a case control study. International Journal of Biological Sciences, 2007 June 13; 3(5), 328-334
66. Kwan ML, Habel LA, Slattery ML, Caan B. NSAIDs and breast cancer recurrence in a prospective cohort study. Cancer Causes Control, 2007 August; 18(6), 613-620
67. Genkinger JM, De Vivo I, Stampfer MJ, Giovannucci E, Michaud DS. Nonsteroidal antiinflammatory drug use and risk of bladder cancer in the health professionals follow-up study. International Journal of Cancer, 2007 May 15; 120(10), 2221-2225
68. Kaye JA, Myers MW, Jick H. Acetaminophen and the risk of renal and bladder cancer in the general practice research database. Epidemiology, 2001 November; 12(6), 690-694
69. Castelao JE, Yuan JM, Gago-Dominguez M, Yu MC, Ross RK. Non-steroidal anti-inflammatory drugs and bladder cancer prevention. British Journal of Cancer, 2000 April; 82(7), 1364-1369
70. Gago-Dominguez M, Yuan JM, Castelao JE, Ross RK, Yu MC. Regular use of analgesics is a risk factor for renal cell carcinoma. British Journal of Cancer, 1999 October; 81(3), 542-548
71. Rosenberg L, Rao RS, Palmer JR, Strom BL, Zauber A, Warshauer ME, Stolley PD, Shapiro S. Transitional cell cancer of the urinary tract and renal cell cancer in relation to acetaminophen use (United States). Cancer Causes Control, 1998 January; 9(1), 83-88
72. McCredie M, Pommer W, McLaughlin JK, Stewart JH, Lindblad P, Mandel JS, Mellemgaard A, Schlehofer B, Niwa S. International renal-cell cancer study. II. Analgesics. International Journal of Cancer, 1995 January 27; 60(3), 345-349
73. García Rodríguez LA, González-Pérez A. Inverse association between nonsteroidal anti-inflammatory drugs and prostate cancer. Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention, 2004 April; 13(4), 649-653
74. Sivak-Sears NR, Schwartzbaum JA, Miike R, Moghadassi M, Wrensch M. Case-control study of use of nonsteroidal antiinflammatory drugs and glioblastoma multiforme. American Journal of Epidemiology, 2004 June 15; 159(12), 1131-1139
75. K Bergman, L.Muller, S Weberg Teigen. The genotoxicity and carcinogenicity of paracetamol: a regulatory (re)view. Mutation Research, 1996; 349, 263-288

厚生労働省発食安１１２０第４号
平成２４年１１月２０日

薬事・食品衛生審議会
会長　望月　正隆　殿

厚生労働大臣　三井　辨雄

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

エンロフロキサシン

平成２５年２月１２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２４年１１月２０日付け厚生労働省発食安１１２０第４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項の規定に基づくエンロフロキサシンに係る食品規格（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。

エンロフロキサシン

今般の残留基準の検討については、薬事法に基づく承認事項の変更及び使用基準の改正について農林水産大臣から意見聴取があったことに伴い、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：エンロフロキサシン［ Enrofloxacin ］

（２）用途：合成抗菌剤

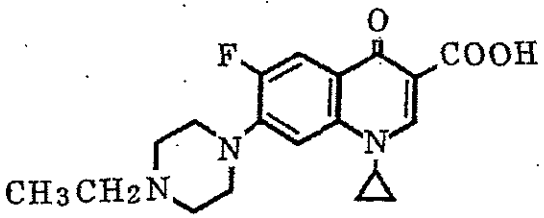
エンロフロキサシンはニューキノロン系に属し、グラム陰性菌に加え、多くのグラム陽性菌に対しても有効である。国内において牛及び豚の細菌性呼吸器病（*Mycoplasma bovis*、*Ureaplasma divesum*、*Pasteurella multocida*等）及び大腸菌性下痢症、鶏の呼吸器性マイコプラズマ病（*Mycoplasma gallisepticum*）及び大腸菌症の治療を目的として使用されている。また、代謝物であるシプロフロキサシンは抗菌活性を有し、ヒト臨床において使用されている。

（３）化学名：

1-cyclopropyl-7-(4-ethylpiperazin-1-yl)-6-fluoro-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid (IUPAC)

1-cyclopropyl-7-(4-ethyl-1-piperazinyl)-6-fluoro-1,4-dihydro-4-oxo-3-quinolinecarboxylic acid (CAS)

（４）構造式及び物性



分　子　式　：$C_{19}H_{22}FN_3O_3$

分　子　量　：359.40

（5）適用方法及び用量

エンロフロキサシンの使用対象動物及び使用方法等を以下に示す。

対象動物及び使用方法、休薬期間となっているものについては、今回薬事法(昭和 35 年法律第 145 号)に基づく承認事項の変更について意見聴取がなされたものを示している。

対象動物及び使用方法		使用国	休薬期間
牛	2.5～5mg/kg 体重/day を 3～5 日間連続して頸部皮下注射	日本	14 日
		ドイツ	14 日
		オランダ	9 日
		イタリア	9 日
		ニュージーランド	7 日
	5mg/kg 体重/day を 2 日間連続して静脈内注射	日本	8 日
	5mg/kg 体重/day を 2～5 日間連続して静脈内注射	ドイツ	7 日
牛（3ヶ月齢を超える牛を除く）	2.5～5mg/kg 体重/day を 3～5 日間連続して強制経口投与	日本	12 日
		ドイツ	7 日
		オランダ	10 日
		イタリア	7 日
泌乳牛	2.5～5mg/kg 体重/day を 3～5 日間連続して頸部皮下注射	日本	60 時間
		ドイツ	5 日
		オランダ	4 日
		イタリア	4.5 日
	5mg/kg 体重/day を 2 日間連続して静脈内注射	日本	60 時間
	5mg/kg 体重/day を 2～5 日間連続して静脈内注射	ドイツ	3 日
豚	1.25～5mg/kg 体重/day を 1～3 日間連続して頸部筋肉内注射	日本	14 日
		ドイツ	9 日
		オランダ	10 日
		イタリア	10 日
		ニュージーランド	7 日
鶏	飲水 1L あたり 50mg を均一に混和し 3 日間連続して飲水投与	日本	4 日
		ドイツ	9 日
		オランダ	3 日
		イタリア	3 日

2．対象動物における分布、代謝

（1）ウシにおける分布、代謝試験

3～4週齢の仔ウシに^{14}C標識エンロフロキサシン5 mg/kg体重/dayを7日間強制経口投与し、最終投与後12あるいは72時間における肝臓、腎臓、筋肉及び脂肪中の代謝物を同定した。主要な化合物は未変化体とシプロフロキサシンで、肝臓でシプロフロキサシンが51.1%、未変化体が30.9%、腎臓でそれぞれ45.3%、37.4%、筋肉で44.4%、51.5%、脂肪で37.3%、49.9%検出された。検出濃度は経時的に減少したが、肝臓で最も高濃度であった。

（2）ブタにおける分布、代謝試験

ブタに^{14}C標識エンロフロキサシン5 mg/kg体重/dayを7日間強制経口投与し、最終投与後12あるいは72時間における肝臓、腎臓、筋肉及び脂肪中の代謝物を同定した。主要な化合物は未変化体とシプロフロキサシンで、併せて78～98%を占め、そのほとんどは未変化体であった。検出濃度は経時的に減少したが、肝臓で最も高濃度であった。

（3）鶏における分布、代謝試験

30日齢の鶏に対して^{14}C標識エンロフロキサシン12 mg/kg体重/dayを7及び10日間経口投与し、最終投与6時間後の肝臓、筋肉、皮膚中の代謝物を同定した。いずれの組織においても主要な化合物は未変化体で65.7、78.5、49.7%を占めた。また、シプロフロキサシンがそれぞれ13.3%、3.1%、4.1%検出された。その他の代謝物は微量であったが、皮膚については未同定の1代謝物が7.6%検出された。

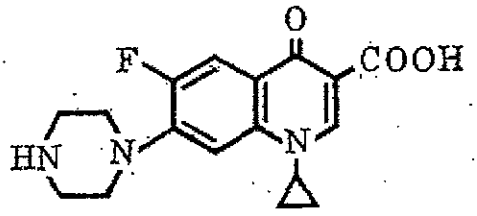
3．対象動物における残留試験

（1）分析の概要

① 分析対象の化合物

・エンロフロキサシン

・シプロフロキサシン



シプロフロキサシン

② 分析法の概要

組織

試料からアセトニトリル・0.1 mol/Lリン酸緩衝液（pH12）（3：1）混液で抽出し、アセトニトリル飽和*n*-ヘキサンで洗浄した後、高速液体クロマトグラフ（FL）を用いて定量する。

または、試料からアセトニトリル・0.3%メタリン酸溶液（2：3）混液で抽出し、ジビニルベンゼン-*N*-ビニルピロリドン共重合体（HLB）カラムで精製した後、高速液体クロマトグラフ（FL）を用いて定量する。

定量限界　エンロフロキサシン：0.005～0.01ppm

シプロフロキサシン：0.005～0.01 ppm

乳

試料からアセトニトリル・0.1 mol/Lリン酸緩衝液（pH12）（3：1）混液で抽出し、アセトニトリル飽和*n*-ヘキサンで洗浄した後、高速液体クロマトグラフ（FL）を用いて定量する。

定量限界　エンロフロキサシン：0.005～0.02ppm

シプロフロキサシン：0.005～0.02 ppm

（2）組織における残留

① ウシにエンロフロキサシンとして5 mg/kgを1日1回、5日間連続して頸部皮下投与した。最終投与後1、7、14、21、28日後の筋肉、脂肪、肝臓、腎臓、血清及び小腸におけるエンロフロキサシン及びシプロフロキサシンの濃度を以下に示す。

表1　ウシにエンロフロキサシン5 mg/kgを5日間頸部皮下投与した時の食用組織中のエンロフロキサシン及びシプロフロキサシン濃度（ppm）

試験日（投与後日数）	筋肉		脂肪	
	エンロフロキサシン	シプロフロキサシン	エンロフロキサシン	シプロフロキサシン
1	<0.01(2), 0.02(2), 0.07, 0.08	<0.01(2), 0.03(2), 0.19, 0.24	0.08±0.08	<0.01(2), 0.02(2), 0.04(2)
7	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
14	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
21	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
28	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

試験日	肝臓		腎臓	
(投与後日数)	エンロフロキサシン	シプロフロキサシン	エンロフロキサシン	シプロフロキサシン
1	<0.01(2), 0.02(2), 0.09(2)	0.12±0.10	0.04±0.03	0.14±0.15
7	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
14	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
21	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
28	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

試験日	血清		小腸	
(投与後日数)	エンロフロキサシン	シプロフロキサシン	エンロフロキサシン	シプロフロキサシン
1	<0.01(4), 0.03(2)	<0.01(4), 0.04(2)	<0.01(2), 0.04(2), 0.08(2)	<0.01(2), 0.04(2), 0.08, 0.09
7	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
14	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
21	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
28	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

数値(n=6)は分析値又は平均値±標準偏差で示し、括弧内は検体数を示す。

定量限界：0.01ppm

② 仔ウシにエンロフロキサシンとして5 mg/kgを1日1回、5日間連続して経口投与した。最終投与後1、3、5、7、9日後の筋肉、脂肪、肝臓及び腎臓におけるエンロフロキサシン及びシプロフロキサシンの濃度を以下に示す。

表2 仔ウシにエンロフロキサシン5 mg/kgを5日間経口投与した時の食用組織中のエンロフロキサシン及びシプロフロキサシン濃度 (ppm)

試験日	筋肉		脂肪	
(投与後日数)	エンロフロキサシン	シプロフロキサシン	エンロフロキサシン	シプロフロキサシン
1	0.144±0.073	0.220±0.071	0.076±0.041	0.125±0.064
3	<0.01	0.021±0.013	0.039±0.008	0.018±0.011
5	<0.01	<0.01	0.016±0.008	0.016±0.013
7	<0.01	<0.01	<0.01	0.012±0.009
9	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

試験日 (投与後日数)	肝臓		腎臓	
	エンロフロキサシン	シプロフロキサシン	エンロフロキサシン	シプロフロキサシン
1	0.321±0.107	0.759±0.066	0.267±0.108	0.884±0.239
3	0.027±0.013	0.104±0.052	0.021±0.005	0.097±0.043
5	<0.01	0.016±0.004	<0.01	0.019±0.015
7	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
9	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

数値(n=4)は分析値又は平均値±標準偏差で示す。

定量限界：0.01ppm

③ 泌乳牛にエンロフロキサシンとして5mg/kgを1日1回、5日間連続して皮下投与した。最終投与後から12時間おきの乳中のエンロフロキサシン及びシプロフロキサシンの濃度を以下に示す。

表3　泌乳牛にエンロフロキサシン5mg/kgを5日間頸部皮下投与した時の乳中のエンロフロキサシン及びシプロフロキサシン濃度（ppm）

試験日 (投与後時間)	エンロフロキサシン	シプロフロキサシン
12	0.054±0.016	0.750±0.227
24	<0.02(11), 0.020	0.401±0.138
36	<0.02	0.107±0.042
48	<0.02	0.082±0.037
60	<0.02	<0.02, 0.020, 0.025, 0.029(3), 0.038(2), 0.044, 0.052, 0.061, 0.078
72	<0.02	<0.02(2), 0.020, 0.023(2), 0.026, 0.027, 0.036, 0.038, 0.050, 0.060, 0.063
84	<0.02	<0.02(7), 0.021, 0.023, 0.028, 0.036, 0.037
96	<0.02	<0.02(7), 0.021, 0.024, 0.028, 0.030, 0.063
108	<0.02	<0.02 (11), 0.032
120	<0.02	<0.02 (11), 0.027
132	<0.02	<0.02
144	<0.02	<0.02

数値(n=12)は分析値又は平均値±標準偏差で示し、括弧内は検体数を示す。

定量限界：0.02 ppm

④ 泌乳牛にエンロフロキサシンとして5mg/kgを1日1回、5日間連続して皮下投与した。最終投与後から12時間おきの乳中のエンロフロキサシン及びシプロフロキサシンの濃度を以下に示す。

表4　泌乳牛にエンロフロキサシン5mg/kgを5日間頸部皮下投与した時の乳中のエンロフロキサシン及びシプロフロキサシン濃度（ppm）

試験日 （時間）	エンロフロキサシン	シプロフロキサシン
初回投与前	<0.02	<0.02
投　与		
最終投与後 12	0.11±0.03	0.78±0.46
24	<0.02(3), 0.02(3)	0.15±0.07
36	<0.02	0.05±0.01
48	<0.02	<0.02(3), 0.02(2), 0.04
60	—	<0.02(5), 0.02
72	—	<0.02

数値(n=6)は分析値又は平均値±標準偏差で示し、括弧内は検体数を示す。

—：分析せず

定量限界：0.02 ppm

⑤ ブタにエンロフロキサシンとして5 mg/kgを1日1回、5日間連続して筋肉内投与した。最終投与後1、7、14、20、25日後の筋肉、脂肪、肝臓、腎臓、血清及び小腸におけるエンロフロキサシン及びシプロフロキサシンの濃度を以下に示す。

表5　ブタにエンロフロキサシン5 mg/kgを5日間筋肉内投与した時の食用組織中のエンロフロキサシン及びシプロフロキサシン濃度（ppm）

試験日 （投与後日数）	筋肉		脂肪	
	エンロフロキサシン	シプロフロキサシン	エンロフロキサシン	シプロフロキサシン
1	0.21±0.05	0.05±0.01	0.07±0.02	<0.01
7	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
14	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
20	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
25	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

試験日	肝臓		腎臓	
(投与後日数)	エンロフロキサシン	シプロフロキサシン	エンロフロキサシン	シプロフロキサシン
1	0.28±0.09	0.06±0.01	0.37±0.10	0.09±0.01
7	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
14	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
20	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
25	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

試験日	血清		小腸	
(投与後日数)	エンロフロキサシン	シプロフロキサシン	エンロフロキサシン	シプロフロキサシン
1	0.08±0.03	0.02	0.24±0.07	0.03
7	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
14	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
20	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
25	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

数値(n=6)は分析値又は平均値±標準偏差で示し、括弧内は検体数を示す。
定量限界：0.01 ppm

⑥ ブタにエンロフロキサシンとして2.5 mg/kgを1日1回、3日間連続して皮下投与した。最終投与後1、3、6、9、14日後の筋肉、脂肪、肝臓、腎臓及び皮におけるエンロフロキサシン及びシプロフロキサシンの濃度を以下に示す。

表6　ブタにエンロフロキサシン2.5 mg/kgを3日間頸部皮下投与した時の食用組織中のエンロフロキサシン及びシプロフロキサシン濃度（ppm）

試験日	筋肉		脂肪	
(投与後日数)	エンロフロキサシン	シプロフロキサシン	エンロフロキサシン	シプロフロキサシン
1	0.335±0.356	0.021±0.008	0.085±0.065	<0.01
3	0.022±0.006	<0.01	<0.01	<0.01
6	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
9	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
14	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

試験日 (投与後日数)	肝臓		腎臓	
	エンロフロキサシン	シプロフロキサシン	エンロフロキサシン	シプロフロキサシン
1	0.614±0.520	0.057±0.016	0.653±0.440	0.075±0.029
3	0.039±0.019	<0.01	0.058±0.015	0.010±0.011
6	0.011±0.012	<0.01	0.027±0.034	0.013±0.016
9	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
14	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

試験日 (投与後日数)	皮	
	エンロフロキサシン	シプロフロキサシン
1	0.141±0.125	<0.01
3	0.023±0.016	<0.01
6	0.011±0.011	<0.01
9	<0.01	<0.01
14	<0.01	<0.01

数値(n=4)は分析値又は平均値±標準偏差で示す。

定量限界：0.01ppm

⑦ ヒツジにエンロフロキサシンとして7.5 mg/kgを単回経口投与した。投与後2、4、8、16日後の筋肉、脂肪、肝臓及び腎臓におけるエンロフロキサシン及びシプロフロキサシンの濃度を以下に示す。

表7　ヒツジにエンロフロキサシン7.5 mg/kgを単回経口投与した時の食用組織中のエンロフロキサシン及びシプロフロキサシン濃度 (ppm)

試験日 (投与後日数)	筋肉		脂肪	
	エンロフロキサシン	シプロフロキサシン	エンロフロキサシン	シプロフロキサシン
2	0.99±0.66	0.38±0.11	1.37±1.62	0.18±0.08
4	0.02±0.01	<0.01, 0.01(2), 0.02	<0.01, 0.01(2), 0.02	<0.01(3), 0.02
8	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
16	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

試験日 (投与後日数)	肝臓		腎臓	
	エンロフロキサシン	シプロフロキサシン	エンロフロキサシン	シプロフロキサシン
2	1.68±0.41	0.48±0.15	0.60±0.07	0.39±0.17
4	0.05±0.06	0.05±0.04	0.02±0.02	0.03±0.02
8	<0.01, 0.01, 0.09, 0.14	<0.01(2), 0.44, 0.62	<0.01	<0.01
16	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

数値(n=4)は分析値又は平均値±標準偏差で示し、括弧内は検体数を示す。
定量限界：0.01ppm

⑧ 鶏にエンロフロキサシンとして50 mg/Lの5日間自由摂取させた。最終投与後0.5、1、2、3、5日後の筋肉、皮、肝臓及び腎臓におけるエンロフロキサシン及びシプロフロキサシンの濃度を以下に示す。

表8　鶏にエンロフロキサシン50 mg/Lの飲水を5日間自由摂取させた時の食用組織中のエンロフロキサシン及びシプロフロキサシン濃度（ppm）

試験日	筋肉		皮	
(投与後日数)	エンロフロキサシン	シプロフロキサシン	エンロフロキサシン	シプロフロキサシン
0.5	0.099±0.006	<0.01	0.047±0.022	<0.01
1	0.053±0.013	<0.01	0.030±0.010	<0.01
2	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
3	<0.01	<0.01	0.010±0.011	<0.01
5	<0.01	—	<0.01	<0.01

試験日	肝臓		腎臓	
(投与後日数)	エンロフロキサシン	シプロフロキサシン	エンロフロキサシン	シプロフロキサシン
0.5	0.202±0.153	0.090±0.096	0.148	0.018
1	0.130±0.061	0.051±0.022	0.122	0.013
2	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
3	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
5	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

数値(n=6)は分析値又は平均値±標準偏差で示す。
腎臓については、各検体をまとめてから測定した。
—：分析せず
定量限界：0.01ppm

⑨ 七面鳥にエンロフロキサシンとして50 mg/Lの飲水を5日間自由摂取させた。最終投与後1、2、3、5、7日後の筋肉、皮、肝臓及び腎臓におけるエンロフロキサシン及びシプロフロキサシンの濃度を以下に示す。

表9　七面鳥にエンロフロキサシン50 mg/Lの飲水を5日間自由摂取させた時の食用組織中のエンロフロキサシン及びシプロフロキサシン濃度（ppm）

試験日	筋肉		皮	
（投与後日数）	エンロフロキサシン	シプロフロキサシン	エンロフロキサシン	シプロフロキサシン
1	0.074±0.031	<0.01	0.080±0.008	<0.01
2	0.032±0.020	<0.01	0.065±0.026	<0.01
3	<0.01	<0.01	0.028±0.004	<0.01
5	0.014±0.018	<0.01	0.012±0.002	<0.01
7	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

試験日	肝臓		腎臓	
（投与後日数）	エンロフロキサシン	シプロフロキサシン	エンロフロキサシン	シプロフロキサシン
1	0.125±0.053	0.080±0.036	0.088	<0.01
2	0.071±0.051	0.046±0.035	0.041	<0.01
3	0.013±0.002	0.011±0.003	0.011	<0.01
5	0.022±0.030	0.015±0.017	0.011	<0.01
7	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

数値(n=6)は分析値又は平均値±標準偏差で示す。

定量限界：0.01ppm

承認事項の変更にあたり実施された試験

⑩ 乳牛にエンロフロキサシンとして5 mg/kgを1日1回、2日間連続して静脈内投与した。最終投与後1、2、3、4日後の筋肉、脂肪、肝臓、腎臓及び小腸におけるエンロフロキサシン及びシプロフロキサシンの濃度を以下に示す。

表10 乳牛にエンロフロキサシン5 mg/kgを2日間静脈内投与した時の食用組織中のエンロフロキサシン及びシプロフロキサシン濃度 (ppm)

臓器	試験日	施設Ⅰ			施設Ⅱ		
	(投与後日数)	エンロフロキサシン	シプロフロキサシン	合計値*	エンロフロキサシン	シプロフロキサシン	合計値*
筋肉	1	<0.005～0.014	0.016～0.054	0.016～0.068	<0.005～0.012	0.027～0.042	0.027～0.054
	2	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005～0.006	<0.005～0.006
	3	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005～0.009	<0.005～0.007	<0.005～0.016
	4	-	-	-	<0.005	<0.005	<0.005
脂肪	1	0.035～0.236	0.082～0.267	0.117～0.503	<0.005～0.010	<0.005～0.070	<0.005～0.079
	2	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005～0.014	<0.005	<0.005～0.014
	3	<0.005～0.151	<0.005～0.692	<0.005～0.843	<0.005	<0.005	<0.005
	4	<0.005～0.008	<0.005	<0.005～0.008	<0.005	<0.005	<0.005
肝臓	1	0.009～0.034	0.057～0.337	0.066～0.371	0.013～0.032	0.097～0.258	0.117～0.290
	2	<0.005～0.006	0.017～0.038	0.017～0.044	<0.005～0.010	0.024～0.061	0.026～0.071
	3	<0.005	0.010～0.035	0.010～0.035	<0.005～0.016	0.006～0.065	0.006～0.081
	4	<0.005	0.009～0.032	0.009～0.032	<0.005	<0.005～0.014	<0.005～0.014

臓器	試験日	施設Ⅰ			施設Ⅱ		
	(投与後日数)	エンロフロキサシン	シプロフロキサシン	合計値*	エンロフロキサシン	シプロフロキサシン	合計値*
腎臓	1	0.013～0.055	0.067～0.308	0.080～0.363	0.019～0.042	0.128～0.185	0.147～0.226
	2	<0.005～0.007	0.005～0.0027	0.005～0.034	<0.005～0.013	0.017～0.054	0.017～0.067
	3	<0.005	0.006～0.010	0.006～0.010	<0.005～0.037	<0.005～0.040	<0.005～0.060
	4	<0.005～0.006	<0.005～0.018	<0.005～0.024	<0.005	<0.005～0.006	<0.005～0.006
小腸	1	0.039～0.257	0.091～0.291	0.130～0.548	0.071～0.151	0.107～0.270	0.178～0.385
	2	0.027～0.096	0.018～0.067	0.087～0.116	0.020～0.089	0.064～0.173	0.084～0.262
	3	<0.005～0.022	0.012～0.052	0.012～0.074	0.012～0.104	0.027～0.084	0.044～0.188
	4	0.006～0.025	0.026～0.053	0.039～0.078	<0.005～0.019	0.027～0.079	0.027～0.098
	8						0.043**

－：分析せず

数値(n=5)は分析値の範囲を記載した。

定量限界：0.005ppm

＊：各個体におけるエンロフロキサシンとシプロフロキサシンの残留濃度を合計し、その値の範囲を記載した。残留濃度が定量限界未満のものは0として計算し、両方の残留濃度が定量限界未満のものは<0.005と記載した。

＊＊：直線回帰分析により算出した残留最大許容濃度の上限

残留最大許容濃度の上限

小腸の4日目における残留濃度の平均が基準値（0.05ppm）を超過していることから、「薬事法関係事務の取扱について」（平成12年3月31日付け12動薬A第418号農林水産省動物用医薬品検査所長通知）に基づく直線回帰分析を行った結果、施設Ⅱにおいて直線回帰分析のための条件を満たした。エンロフロキサシン投与後8日目における小腸の残留最大許容濃度の上限（片側での99%上側許容限界に対する95%上側信頼限界）は0.043ppmと算出され、基準値（0.05ppm）に収まることを確認した。

承認事項の変更にあたり実施された試験

⑪ 乳牛にエンロフロキサシンとして5 mg/kgを1日1回、2日間連続して静脈内投与した。最終投与後12、24、36、48、60、72、84及び96時間後の乳中のエンロフロキサシン及びシプロフロキサシンの残留濃度を以下に示す。

表11 乳牛にエンロフロキサシン5 mg/kgを2日間静脈内投与した時の乳中のエンロフロキサシン及びシプロフロキサシン濃度（ppm）

	試験日（投与後時間）	施設Ⅰ			施設Ⅱ		
		エンロフロキサシン	シプロフロキサシン	合計値*	エンロフロキサシン	シプロフロキサシン	合計値*
乳	12時間後	0.006～0.027	0.397～1.309	0.403～1.336	0.012～0.032	0.640～0.877	0.652～0.909
	24時間後	<0.005	0.046～0.142	0.046～0.142	<0.005～0.006	0.092～0.135	0.092～0.141
	36時間後	<0.005	0.017～0.082	0.017～0.082	<0.005	0.027～0.050	0.027～0.050
	48時間後	<0.005	0.008～0.019	0.008～0.019	<0.005	0.013～0.024	0.013～0.024
	60時間後	<0.005	0.006～0.011	0.006～0.011	<0.005	0.006～0.014	0.006～0.014
	72時間後	<0.005	<0.005～0.008	<0.005～0.008	<0.005	<0.005～0.009	<0.005～0.009
	84時間後	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005～0.006	<0.005～0.006

数値(n=5)は分析値の範囲を記載した。

定量限界：0.005ppm

＊：各個体におけるエンロフロキサシンとシプロフロキサシンの残留濃度を合計し、その値の範囲を記載した。残留濃度が定量限界未満のものは0として計算し、両方の残留濃度が定量限界未満のものは<0.005と記載した。

施設I及び施設IIの残留試験の結果、休薬期間（60時間）経過後において、牛乳中のエンロフロキサシンとシプロフロキサシンの残留濃度は、現行の基準値（0.05ppm）以下となることが確認された。

4．ADIの評価

食品安全基本法（平成15年法律第48号）第24条の規定に基づき、食品安全委員会あて意見を求めたエンロフロキサシンに係る食品健康影響評価について、以下のとおり評価されている。

① 毒性学的ADIについて

無毒性量：2.9 mg/kg 体重/day（発がん性は認められなかった。）
（動物種）　ラット
（投与方法）　混餌投与
（試験の種類）　慢性毒性/発がん性併合試験
（期間）　2年間
安全係数：100
ADI　：　0.029 mg/kg 体重/day

なお、評価に供された遺伝毒性試験の*in vitro*試験の一部で陽性の結果が得られたが、小核試験を始め*in vivo*試験ではすべて陰性の結果が得られたので、エンロフロキサシンは生体にとって問題となる遺伝毒性はないと結論されている。

② 微生物学的ADIについて

微生物学的影響について現時点で利用可能なものは*in vitro* のMIC_{50}のみであった。結腸内容物に220g、細菌が暴露される分画に20%、ヒト体重に60kgを適用すると、

$$ADI\ (mg/kg\ 体重/day) = \frac{0.000125(mg/mL) \times 220(g)}{0.2^{*} \times 60(kg)} = 0.002$$

*：シプロフロキサシンのヒトにおける知見に基づく

となる。

③ ADIの設定について

毒性学的データから導かれる ADIと微生物学的データから導かれるADIを比較すると、微生物学的データから導かれた値がより小さくなることから、エンロフロキサシンの残留基準を設定するに際してのADIとしては 0.002 mg/kg 体重/dayと設定することが適当であると考えられる。

5．諸外国における状況

FAO/WHO合同食品添加物専門家会議(JECFA)において評価されており、ADIとして0.002 mg/kg 体重/day が設定されている。

米国、カナダ、欧州連合（EU）、オーストラリア及びニュージーランドについて調査した結果、米国、カナダ及びEUにおいて基準値が設定されている。

6．基準値の取扱い

（1）残留の規制対象

エンロフロキサシン及びシプロフロキサシンとする。

（2）基準値の取扱い

別紙1のとおりである。

（3）暴露評価

各食品について基準値案の上限までエンロフロキサシンが残留していると仮定した場合、国民栄養調査結果に基づき試算される、1日当たり摂取する本剤の量（理論最大1日摂取量（TMDI））の ADI に対する比は、以下のとおりである。詳細な暴露評価は別紙2参照。

	TMDI/ADI（%）注)
国民平均	10.4
幼小児（1～6歳）	39.6
妊婦	11.9
高齢者（65歳以上）	10.2

注) TMDI 試算は、基準値案×各食品の平均摂取量の総和として計算している。

（4）本剤については、食品一般の成分規格6に食品に残留する量の限度（現行基準）が定められている。

今般の承認事項変更にあたり実施された試験の結果によると、農林水産省において設定される予定の使用禁止期間内に残留量が現行基準の範囲内まで減少することから、基準を変更する必要はない。

（別紙１）

エンロフロキサシン

食品名	残留基準値[*2] ppm	米国 ppm	カナダ ppm	EU[*2] ppm
牛の筋肉	0.05		0.02[*3]	0.1
豚の筋肉	0.05			0.1
その他の陸棲哺乳類に属する動物の筋肉	0.05			0.1
牛の脂肪	0.05			0.1
豚の脂肪	0.05			0.1
その他の陸棲哺乳類に属する動物の脂肪	0.05			0.1
牛の肝臓	0.1	0.1[*3]		0.3
豚の肝臓	0.1			0.2
その他の陸棲哺乳類に属する動物の肝臓	0.1			0.3
牛の腎臓	0.1		0.07[*3]	0.2
豚の腎臓	0.1	0.5		0.3
その他の陸棲哺乳類に属する動物の腎臓	0.1			0.2
牛の食用部分	0.05			
豚の食用部分	0.05			
その他の陸棲哺乳類に属する動物の食用部分	0.05			
乳	0.05			0.1
鶏の筋肉	0.05			0.1
その他の家きんの筋肉	0.05			0.1
鶏の脂肪	0.05			0.1
その他の家きんの脂肪	0.05			0.1
鶏の肝臓	0.1			0.2
その他の家きんの肝臓	0.1			0.2
鶏の腎臓	0.1			0.3
その他の家きんの腎臓	0.1			0.3
鶏の食用部分[*1]	0.1			
その他の家きんの食用部分[*1]	0.1			

*1：食用部分については、肝臓及び腎臓の値を参照した。

*2：エンロフロキサシン及びシプロフロキサシンの和として。

*3：デスエチレンシプロフロキサシンとして。

（別紙２）

エンロフロキサシンの推定摂取量（単位：μg/人/日）

食品名	基準値現行 (ppm)	国民平均 TMDI	幼小児 (1～6歳) TMDI	妊婦 TMDI	高齢者 (65歳以上) TMDI
牛の筋肉	0.05	1.0*1	0.5*1	0.9*1	1.0*1
牛の脂肪	0.05				
牛の肝臓	0.1	0.0	0.0	0.0	0.0
牛の腎臓	0.1	0.0	0.0	0.1	0.0
牛の食用部分	0.05	0.0	0.0	0.0	0.0
豚の筋肉	0.05	1.8*1	1.1*1	2.0*1	1.8*1
豚の脂肪	0.05				
豚の肝臓	0.1	0.0	0.0	0.0	0.0
豚の腎臓	0.1	0.0	0*2	0.0	0.0
豚の食用部分	0.05	0.0	0.0	0.0	0.0
その他の陸棲哺乳類に属する動物の筋肉	0.05	0.0*3	0.0*3	0.0*3	0.0*3
その他の陸棲哺乳類に属する動物の脂肪	0.05				
その他の陸棲哺乳類に属する動物の肝臓	0.1				
その他の陸棲哺乳類に属する動物の腎臓	0.1				
その他の陸棲哺乳類に属する動物の食用部分	0.05				
乳	0.05	7.1	9.9	9.2	7.1
鶏の筋肉	0.05	1.0*1	1.0*1	0.7*1	1.0*1
鶏の脂肪	0.05				
鶏の肝臓	0.1	0.0	0.0	0.3	0.0
鶏の腎臓	0.1	0*2	0*2	0*2	0*2
鶏の食用部分	0.1	0.0	0.0	0.0	0.0
その他の家きんの筋肉	0.05	0.0*3	0.0*3	0.0*3	0.0*3
その他の家きんの脂肪	0.05				
その他の家きんの肝臓	0.1				
その他の家きんの腎臓	0.1				
その他の家きんの食用部分	0.1				
計		11.1	12.5	13.3	11.1
ADI 比（%）		10.4	39.6	11.9	10.2

TMDI：理論最大１日摂取量（Theoretical Maximum Daily Intake）
高齢者及び妊婦については摂取量データの一部がないため、国民平均の摂取量を参考とした。
＊1：筋肉（脂肪）の基準値×筋肉及び脂肪の摂取量。
＊2：摂取量データがないため、推定摂取量は「0」とした。
＊3：各部位のうち、基準値が最も高い肝臓、腎臓又は食用部分の値を用いた。

（参考）

これまでの経緯

平成１７年　９月１３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１８年　５月１８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１８年１１月３０日	残留基準告示
平成２０年１２月１１日	農林水産大臣から厚生労働大臣あてに承認事項の変更について意見聴取
平成２１年　４月１３日	農林水産大臣へ回答
平成２２年　９月　３日	農林水産大臣から厚生労働大臣あてに承認事項の変更について意見聴取
平成２２年１１月　２日	農林水産大臣へ回答
平成２４年１０月　５日	農林水産大臣から厚生労働大臣あてに承認事項の変更について意見聴取
平成２４年１１月２０日	薬事・食品衛生審議会へ諮問
平成２４年１２月２１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・食品担当主任研究員
○大野　泰雄	国立医薬品食品衛生研究所長
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准教授
佐藤　清	一般財団法人残留農薬研究所業務執行理事・化学部長
高橋　美幸	農業・食品産業技術総合研究機構動物衛生研究所上席研究員
永山　敏廣	東京都健康安全研究センター食品化学部長
廣野　育生	東京海洋大学大学院海洋科学技術研究科教授
松田　りえ子	国立医薬品食品衛生研究所食品部長
宮井　俊一	一般社団法人日本植物防疫協会技術顧問
山内　明子	日本生活協同組合連合会執行役員組織推進本部長
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	東北大学大学院薬学研究科薬物動態学分野准教授
鰐渕　英機	大阪市立大学大学院医学研究科都市環境病理学教授

（○：部会長）

答申（案）

エンロフロキサシンについては、現行の食品規格（食品中の動物用医薬品の残留基準）を変更しないことが適当である。

府食第　４０２号
平成１８年　５月１８日

厚生労働大臣
　　川崎　二郎　殿

食品安全委員会
委員長　　寺田　雅昭

食品健康影響評価の結果の通知について

平成 17 年 9 月 13 日付け厚生労働省発食安第 0913001 号をもって貴省から当委員会に対して求められたエンロフロキサシン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をまとめたものは別添のとおりです。

記

エンロフロキサシンの１日摂取許容量を 0.002mg/kg 体重/日と設定する。

動物用医薬品評価書

エンロフロキサシンを有効成分とする製造用原体（バイトリル原体）、鶏の飲水添加剤（バイトリル 10%液）、牛の強制経口投与剤（バイトリル 2.5%HV 液）並びに牛及び豚の注射剤（バイトリル 2.5%注射液、同 5%注射液、同 10%注射液）の再審査に係る食品健康影響評価について

2006年5月

食品安全委員会

〈目次〉

頁

1．バイトリルについて ・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 3
2．再審査における安全性に関する知見等について ・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 3
3．再審査に係る評価について ・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 4
4．参考文献 ・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 4

〈別添目次〉

1．薬剤の概要 ・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 1
2．毒性試験の概要 ・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 1
2-1. 吸収・分布・代謝・排泄 ・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 1
2-2. 毒性試験 ・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 4
(1) 急性毒性試験 ・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 4
(2) 亜急性毒性試験 ・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 4
(3) 慢性毒性試験 ・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 8
(4) 繁殖毒性試験及び催奇形性試験 ・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 11
(5) 遺伝毒性試験 ・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 14
(6) 一般薬理試験 ・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 15
(7) その他 ・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 16
(8) 微生物学的影響に関する特殊試験 ・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 17
(9) ヒトにおける知見について ・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 19
3．食品健康影響評価について ・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 19
4．参考文献 ・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 24

〈審議の経緯〉

平成１６年１０月２９日	農林水産厚生労働大臣から食品健康影響評価について要請、関係書類の接受
平成１６年１１月　４日	第６８回食品安全委員会（要請事項説明）
平成１６年１１月１６日	第２０回動物用医薬品専門調査会
平成１７年　９月１３日	厚生労働大臣から食品健康影響評価について要請、関係書類の接受
平成１７年　９月１５日	第１１１回食品安全委員会（要請事項説明）
平成１７年１１月９日	第３９回動物用医薬品専門調査会
平成１７年１２月１６日	第４１回動物用医薬品専門調査会
平成１８年　２月２４日	第４６回動物用医薬品専門調査会
平成１８年　３月１６日	第１３５回食品安全委員会
平成１８年　３月１６日 －４月１２日	国民からの意見情報の募集
平成１８年　４月２８日	第５２回動物用医薬品専門調査会
平成１８年　５月１７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
平成１８年　５月１８日	第１４３回食品安全委員会（報告） 同日付で食品安全委員会委員長から農林水産大臣、厚生労働大臣に通知

〈食品安全委員会委員〉

委員長	寺田　雅昭
委員長代理	寺尾　允男
	小泉　直子
	坂本　元子
	中村　靖彦
	本間　清一
	見上　彪

〈食品安全委員会動物用医薬品専門調査会専門委員〉

Ｈ１７．９．３０まで

座　長	三森　国敏	
座長代理	井上　松久	
	青木　宙	津田　洋幸
	明石　博臣	寺本　昭二
	江馬　眞	長尾　美奈子
	大野　泰雄	中村　政幸
	菅野　純	林　眞
	嶋田　甚五郎	藤田　正一
	鈴木　勝士	

Ｈ１７．１０．１から

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

エンロフロキサシンを有効成分とする製造用原体(バイトリル原体)、鶏の飲水添加剤(バイトリル10%液)、牛の強制経口投与剤(バイトリル2.5%HV液)並びに牛及び豚の注射剤(バイトリル2.5%注射液、同5%注射液、同10%注射液)の再審査に係る食品健康影響評価ついて

1. バイトリルについて[1],[2],[3],[4],[5],[6]

バイトリル原体、バイトリル10%液、バイトリル2.5%HV液については平成3年11月15日、バイトリル2.5%注射液、同5%注射液、同10%注射液については平成4年6月2日に農林水産大臣より動物用医薬品として承認を受けた後、所定の期間が経過したため再審査申請が行われた。製剤の内容については次の通りである。

①主剤

主剤はエンロフロキサシンである。

②効能・効果

適応症はバイトリル10%液が鶏の呼吸器性マイコプラズマ病及び大腸菌症(適応菌種はマイコプラズマ・ガリセプティカム、大腸菌)、バイトリル2.5%HV液が牛の肺炎、大腸菌性下痢症(適応菌種はマイコプラズマ・ボビス、ウレアプラズマ・ディバーサム、パスツレラ・ムルトシダ、大腸菌)、バイトリル2.5%注射液、同5%注射液、同10%注射液が牛の肺炎、大腸菌性下痢症、豚の胸膜肺炎、大腸菌性下痢症(適応菌種は大腸菌、パスツレラ・ムルトシダ、アクチノバチルス・プルロニューモニエ、マイコプラズマ・ボビス、ウレアプラズマ・ディバーサム)である。

③用法・用量

バイトリル10%液は飲水1L当たりエンロフロキサシンとして50mgを均一に混和して飲水投与する。バイトリル2.5%HV液は1日1回体重1kg当たりエンロフロキサシンとして牛の肺炎については2.5～5mgを3～5日間、大腸菌性下痢症については2.5mgを3日間、強制経口投与する。バイトリル2.5%注射液、同5%注射液、同10%注射液は、1日1回体重1kg当たりエンロフロキサシンとして牛の肺炎については2.5～5mgを3～5日間、大腸菌性下痢症については2.5mgを3日間、頚部皮下に注射、豚の胸膜肺炎については2.5～5mgを3日間、大腸菌性下痢症については1.25～2.5mgを1～3日間、頚部筋肉内に注射する。休薬期間はバイトリル10%液が7日、バイトリル2.5%HV液が30日、バイトリル2.5%注射液、同5%注射液、同10%注射液が牛については21日(搾乳は96時間)、豚については20日である。なお、これらの製剤については、第一選択薬が無効の症例のみに使用することとされている。

2. 再審査における安全性に関する知見等について

(1)ヒトに対する安全性について

バイトリルについては、上記の通り国内では鶏の呼吸器性マイコプラズマ病及び大腸菌症、牛の肺炎、大腸菌性下痢症、豚の豚胸膜肺、大腸菌性下痢症を対象に使用されている。また、欧州、米国においても広く使用されており、EMEAで6.2μg/kg体重/日[7],[8],[9],[10],[11]、FDAで3μg/kg体重/日[12]、JECFAで2μg/kg体重/日[13]のADIが設定されている。日本においてADI及びMRLの設定はされていない。なお、米国ではフルオロキノロン耐性カンピロバクターに対するリスク評価が実施され、鶏に対する使用許可が2005年9月12日に取り消された。[14]

(2)安全性に関する研究報告について[15],[16]

調査期間中のMedlineを含むデータベース検索の結果、分析、耐性菌に関する報告等が複数報告されている。

(3)承認後の副作用報告について[15],[16]

対象動物に対する安全性については、10%液について調査期間中に鶏171,313羽、2.5%HV液について牛661頭、2.5%注射液については牛358頭及び豚481頭、5%注射液については牛513頭及び豚502頭、10%注射液については牛431頭及び豚356頭の調査が実施され、いずれも対象動物に対する新たな副作用は認められなかったとされている。

3. 再審査に係る評価について

本製剤は鶏に飲水投与、牛や豚に筋肉内注射されるが、日本においてMRLの設定はなされていないことから、エンロフロキサシンのADI設定について別添の通り評価を実施した。

エンロフロキサシン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。

エンロフロキサシン　0.002mg/kg体重/日

ただし、本剤の再審査に係る評価については、薬剤耐性菌を介した影響について考慮する必要があり、これについてはなお検討中である。

4. ＜参考文献＞

(1) バイトリル原体　再審査申請書(未公表)
(2) バイトリル2.5%HV液　再審査申請書(未公表)
(3) バイトリル10%液　再審査申請書(未公表)
(4) バイトリル2.5%注射液　再審査申請書(未公表)
(5) バイトリル5%注射液　再審査申請書(未公表)
(6) バイトリル 10%注射液　再審査申請書(未公表)
(7) ENROFLOXACIN SUMMARY REPORT(1) ;EMEA
(8) ENROFLOXACIN SUMMARY REPORT(2) ;EMEA
(9) ENROFLOXACIN SUMMARY REPORT(3) ;EMEA
(10) ENROFLOXACIN SUMMARY REPORT(4) ;EMEA
(11) ENROFLOXACIN SUMMARY REPORT(5) ;EMEA
(12) 21CFR 556.228
(13) WHO Food Additives Series 39, ENROFLOXACIN
(14) http://www.fda.gov/cvm/FQWithdrawal.html
(15) バイトリル原体, バイトリル 2.5%HV 液, バイトリル 10%液　再審査申請書添付資料:効能又は効果及び安全性についての調査資料(未公表)
(16) バイトリル 2.5%注射液, バイトリル 5%注射液, バイトリル 10%注射液　再審査申請書添付資料:効能又は効果及び安全性についての調査資料(未公表)

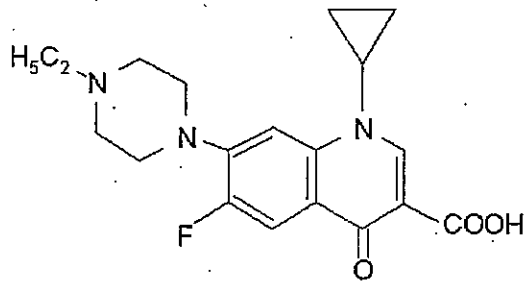
(別添)

エンロフロキサシンの食品健康影響評価について

1．薬剤の概要

(1)物質名[1]

エンロフロキサシン(Enrofloxacin)



分　子　式　：$C_{19}H_{22}FN_3O_3$

分　子　量　：359.40

常温における性状　：淡黄色～黄色の結晶性粉末

融　　点　　：約222℃（分解）

溶　解　度　：溶解性　クロロホルムに溶けやすく、メタノール、アセトンに溶けにくく、水、エーテルにほとんど溶けない。

蒸　気　圧　：nonvolatile

(2) 効能・効果

エンロフロキサシンはニューキノロン[a]剤に属し、グラム陰性菌に加え、多くのグラム陽性菌に対しても有効である。作用は殺菌的であり、細菌のⅡ型トポイソメラーゼ[b]であるDNAジャイレース、あるいはトポイソメラーゼⅣに作用しDNA複製を阻害するものと考えられている。[2]

(3) その他

エンロフロキサシンを主剤とする動物用医薬品は、国内では鶏の呼吸器性マイコプラズマ病、大腸菌症、牛の肺炎、大腸菌性下痢症、豚の胸膜肺炎、大腸菌性下痢症を対象に使用されている。欧州、米国等においも広く使用されているが、米国ではフルオロキノロン耐性カンピロバクターに対するリスクを高める恐れがあるとして鶏への適用を取りやめている。また、代謝物であるciprofloxacinは抗菌活性を有し、ヒト臨床において使用されている。

2．毒性試験の概要

2-1.吸収・分布・代謝・排泄

【ラットにおける投与試験】

Wistar系雄ラット(各4匹/群)に^{14}C標識エンロフロキサシン(5mg/kg)を単回強制経口投与あるいは静脈内

---

[a] ノルフロキサシン以降に合成された塩基性環の6位にフッ素、7位に環状塩基性基を有するキノロン薬を総称して言う。

[b] DNA鎖に一時的な切れ目を導入し、閉環DNAの超らせんの程度の調節や連環状二量体の形成・解除に作用する。

投与し、最長 48 時間までの血液を経時的に採取した。T_{max} はいずれも投与直後(0.5 時間)に認められ、C_{max} は経口投与で 570ng-eq./mL、静脈内投与で 1448ng-eq./mL、$T_{1/2}$(β 相)はそれぞれ 11.7 と 7.9 時間、AUC は 2941.8 と 3824.3 ng･h/mL で生物学的利用率は 75.3%であった。また、単回強制経口投与後 24 時間までの胆汁中からは約 40%が回収された。

Wistar 系雄ラット(各 3 匹/群)に ^{14}C 標識エンロフロキサシン(5mg/kg)を単回強制経口投与し、2、4、8、24、36、48 時間後の肝臓、腎臓、筋肉、脂肪中の放射活性が測定されている。放射活性は各組織とも投与 2 時間後に最高濃度に達し、その時の濃度は順に 1.85、1.14、0.52、0.02ppm であった。その後の消失は速やかであり、投与後 48 時間ではすべて 0.01ppm 以下となった。

6 時間後までの胆汁中の主要な代謝物は未変化体で 73.6%を占め、極性代謝物が 9.8%、シプロフロキサシンが 4.6%、その他 5 種類の未同定代謝物が検出された。尿中からは未変化体が 30.3%、シプロフロキサシンが 33.8%、極性代謝物が 24.7%検出された。[3]

Wistar 系ラットに ^{14}C 標識エンロフロキサシン 165mg/kg 体重/日を 3 日間、50mg/kg 体重/日を 4 日間連続で強制経口投与し、6 日目の投与後 24 時間までの尿について代謝物の同定が実施されている。主要な化合物として未変化体が雌 36.2%、雄 30.5%、極性代謝物が雌 31.2%、雄 26.0%、シプロフロキサシンが雌 19.0%、雄 28.9%検出された。[4]

未同定の極性代謝物についてさらに詳細な検討が実施されたところ、この代謝物はエンロフロキサシンのグルクロン酸抱合体であることが示唆された。[5]

【ウシにおける投与試験】

3 日～約 8 週齢のウシ(フリージアン種)にエンロフロキサシン 2.5 mg/kg を静脈内(6 頭)、皮下(10 頭)あるいは経口(各 4 頭)経路で単回投与し、*E. coli* を検定菌としたバイオアッセイ法により最長 24 時間までの血清中濃度が検討された。

静脈投与における T_{max} は投与直後(0.5 時間)で C_{max} は 1.8±0.3μg/mL、$T_{1/2}$(β 相)は 5.4±0.9 時間で、24 時間後の平均血清中濃度は 0.06μg/mL であった。皮下投与の T_{max} は投与後 1～2 時間(1.7±0.48)に認められ、C_{max} は 1.1±0.24μg/mL で、2 時間後以降は静脈投与と同様に推移した。経口投与はミルク媒体と直接投与の 2 試験が実施され、T_{max} はそれぞれ 4-6 時間、1 時間、C_{max} は 0.9±0.23μg/mL、1.5±0.45μg/mL、であった。24 時間後の血清中濃度はそれぞれ 0.3±0.19、0.2±0.22μg/mL であった。

また、各群 6 頭のウシに 2.5 あるいは 5mg/kg 体重を皮下投与後 24 時間間隔でさらに 2 回経口投与し、1、2、4、6、24 時間後の血液がそれぞれ採取された。T_{max} は投与量にかかわらず皮下投与で 2 時間、経口投与で 6 時間、C_{max} は 2.5 mg 投与群の皮下投与で 1.5±0.47μg/mL、経口投与は 2 回ともに 1.1±0.3μg/mL、5.0mg 投与群の皮下投与で 2.2±0.21μg/mL、1 回経口投与後で 1.8±0.3μg/mL、2 回経口投与後で 1.9±0.59μg/mL で、蓄積性は認められなかった。

さらに、各群 6 頭のウシを用いて 2.5mg/kg 体重を単回筋肉内投与後 1、4、12 時間の血清、胆汁、尿及び各組織中濃度が検討された。投与 1 及び 4 時間後に血清中より高濃度の抗菌活性が検出されたのは、肺、腎臓、肝臓、脾臓、心臓、リンパ節、腸管壁で、特に腎臓と肝臓で約 3～4 倍の濃度であった。4 時間後で最高値となった尿を除き組織中濃度は経時的に減少していた。[6]

3～4 週齢の仔ウシに ^{14}C 標識エンロフロキサシン 5mg/kg 体重/日を 7 日間強制経口投与し、最終投与後 12 あるいは 72 時間における肝臓、腎臓、筋肉及び脂肪中の代謝物の同定が実施されている。主要な化合物は未変化体とシプロフロキサシンで、肝臓でシプロフロキサシンが 51.1%、未変化体が 30.9%、腎臓でそれぞれ 45.3%、37.4%、筋肉で 44.4%、51.5%、脂肪で 37.3%、49.9%検出された。検出濃度は経時的に減少したが、肝臓で最も高濃度であった。[7]

【ブタにおける投与試験】

ブタ(ジャーマンランドレース種)にエンロフロキサシン 2.5 mg/kg を筋肉内(18 頭)または経口(17 頭)経路で単回投与し、*E. coli* を検定菌としたバイオアッセイ法により最長 24 時間までの血清中濃度が検討された。

T_{max} は筋肉内投与で 1 時間(1.3±0.49)、経口投与で 2 時間(2.3±1.0)、C_{max} はそれぞれ 0.8±0.12、0.6±0.19μg/mL、$T_{1/2}$ は 5.8±1.2 時間、6.8±2.9 時間であった。24 時間後の濃度はそれぞれ 0.05、0.06μg/mL となった。

2.5mg/kg 体重を単回筋肉内投与後 1、2、4、6、8、12 時間の血清、胆汁、尿及び各組織中濃度が検討された。一般に組織中濃度は血清中より高濃度で、尿を除き 1 あるいは 2 時間後に最も高濃度を示した。投与後 2 時間目以降は、6 時間後で最高値となった尿を除き組織中濃度は経時的に減少していた。[6]

ブタに ^{14}C 標識エンロフロキサシン 5mg/kg 体重/日を 7 日間強制経口投与し、最終投与後 12 あるいは 72 時間における肝臓、腎臓、筋肉及び脂肪中の代謝物の同定が実施されている。主要な化合物は未変化体とシプロフロキサシンで、あわせて 78～98%を占め、そのほとんどは未変化体であった。検出濃度は経時的に減少したが、肝臓で最も高濃度であった。[8]

【イヌにおける投与試験】

ビーグル犬にエンロフロキサシン 2.5 mg/kg 体重および 5.0 mg/kg 体重を単回皮下投与(各 6 頭)、または 5.0 mg/kg 体重(15 頭)を単回経口投与し、*E. coli* を検定菌としたバイオアッセイ法により最長 24 時間までの血清中濃度が検討された。

T_{max} は皮下投与で 0.8±0.3 時間、経口投与で 2.6±1.2 時間、C_{max} は皮下投与の 2.5mg 投与群で 1.0±0.39μg/mL、5.0mg 投与群で 1.0±0.39μg/mL、経口投与で 1.2±0.47μg/mL、$T_{1/2}$ は皮下投与で 4.3±1.6 時間、経口投与で 2.3±0.7 時間であった。24 時間後の血清中濃度は皮下投与では用量順に 0.03±0.03、0.03±0.02μg/mL、経口投与では検出限界未満であった。

5.0 mg を単回経口投与した 1 時間後の血清、胆汁、尿及び各組織中濃度は、ほとんどの臓器で血清中より高濃度であった。[6]

【鶏における投与試験】

3～6 週齢の雄ブロイラー(各群 18 羽)にエンロフロキサシン 2.5、10 mg/kg 体重を単回皮下投与、または 2.5、5.0、10 mg/kg を単回経口投与し、*E. coli* を検定菌としたバイオアッセイ法により最長 24 時間までの血清中濃度が検討された。

経口投与後の T_{max} は投与後 1～2 時間で、C_{max} は 2.5 mg 投与群で 0.5μg/mL、5.0 mg 投与群で 0.6μg/mL、10 mg 投与群で 1.4μg/mL、$T_{1/2}$ は 2～4 時間(2.0～3.5±0.4 時間)であった。皮下投与後の T_{max} は 0.5～1 時間で、C_{max} は 2.5 mg 投与群で 0.4μg/mL、10 mg 投与群で 1.9μg/mL、$T_{1/2}$ は 2～6 時間であった。24 時間後の血清中の抗菌活性は 10mg 投与量群でのみわずかに検出された。

2.5mg/kg 体重の単回経口投与において、血清及び組織中濃度は 1 時間に最高値となり、経時的に減少して 24 時間後には検出限界未満となった。10mg/kg 体重の単回経口投与では、血清及び組織中濃度は約 2 時間で最高値となり、その後は経時的に減少した。24 時間後では肝臓が最も高く 0.1μg/g であった。

また、エンロフロキサシン 25、50、100ppm を含む水あるいは 50、200ppm を含む飼料を 14 日間自由

摂取させ、2、7、14 日目に血液を採取[c]し、血清中の抗菌活性が検討された。飲水投与における血清中濃度は25ppm 投与群で 0.3-0.5μg/mL、50ppm 投与群で 0.6-0.9μg/mL、100ppm 投与群で 1.1-1.3μg/mL、50 ppm、200 ppm 混餌投与における血清中濃度は 25ppm、100ppm の飲水投与とほぼ同等であった。試験期間中を通じて血清中濃度はほぼ同等であった。[6]

6～7 週齢の鶏に対してエンロフロキサシン 5mg/kg 体重を静脈内あるいは経口経路で単回投与したときの $T_{1/2}$ はそれぞれ 18.7、14.9 時間と報告されている。AUC の比較から求められた生物学的利用能率は 84.5%であった。[9]

30 日齢の鶏に対して ^{14}C 標識エンロフロキサシン 12mg/kg 体重/日を 7 及び 10 日間経口投与し、最終投与 6 時間後の肝臓、筋肉、皮膚における残留物が検討されている。いずれの組織においても主要残留物はエンロフロキサシンで 65.7、78.5、49.7%を占めた。また、シプロフロキサシンがそれぞれ 13.3%、3.1%、4.1%検出された。その他の代謝物は微量であったが、皮膚については未同定の 1 代謝物が 7.6%検出された。[10],[11]

2-2.毒性試験

(1)急性毒性試験[12], [13], [14], [15]

経口投与による LD_{50} は Bor:CFW1 マウスの雄で 5000 mg/kg 体重以上、雌で 4336 mg/kg 体重、Wistar 系ラットの雌雄で 5000mg/kg 以上、ウサギ(大型チンチラ種)の雌雄で 500-800mg/kg であった。イヌ(ビーグル)では被験物質を嘔吐したため LD_{50} の算出は不可能であった。静脈内投与による LD_{50} は CFW1 マウスの雄で 225 mg/kg 体重、雌で 220 mg/kg 体重であった。

また別の試験においては、経口投与による LD_{50} は ICR 系マウスの雌雄、Wistar 系ラットの雌雄とも 5000mg/kg 以上、筋肉内投与では CD-1 マウスの雌雄、Wistar 系ラットの雌雄とも 1000mg/kg 以上、静脈内投与では CD-1 マウスの雄で 136.0 mg/kg 体重、雌で 143.9 mg/kg 体重、Wistar 系ラットの雄で 233.2 mg/kg 体重、雌で 210.0 mg/kg 体重であった。

皮下投与では、CD-1 マウスの雌雄、Wistar 系ラットの雌雄とも 3000 mg/kg 以上であった。

(2)亜急性毒性試験

【ラットを用いた 4 週間亜急性毒性試験】[16]

6 週齢の Wistar 系ラットを用いた皮下(0、5、40、300 mg/kg/日)投与における 4 週間の亜急性毒性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。各群の動物数は 0、300 mg 投与群では雌雄各 16 匹、5、40 mg 投与群では雌雄各 10 匹で、このうち 0、300 mg 投与群の雌雄各 6 匹は、投与終了後 4 週(28 日)間休薬する回復群にあてた。なお、300mg 投与群の雄の 3 匹が試験期間中に死亡した。

一般的な臨床症状観察では、40mg 以上投与群の雄及び 300mg 投与群の雌で投与部位に皮膚の膨隆を伴う硬結が認められた。300mg 投与群では投与の反復につれその数、硬度が増し、投薬期間後半では背部全体が膨隆する重度の変化が認められ、皮膚の一部が潰瘍化する例もあった。また、300mg 投与群の雄では、20 日目頃から全身筋肉の緊張度低下を伴って行動が緩慢になり、眼は退色傾向を示した。休薬開始後は、投与部位の変化は経過につれて軽減消退し、行動や眼の変化もみられなくなった。

体重変化では、300 mg 投与群において雄で低値、雌で高値が認められた。休薬開始後は雌雄とも対照群と比較して有意差は認められなくなった。

摂餌量では各投与群において有意差は認められなかった。

---

[c] 午前 8 時から午後 5 時にかけて 1 時間毎に血液を採取しプールしたもの。

眼科的検査(検眼鏡)においては、投与終了時、休薬後ともに異常は認められなかった。

尿検査では、300 mg 投与群において雌雄に比重の増加、雄にケトン体、リン酸マグネシウムアンモニウム結晶の増加が認められた。休薬期間終了時では雌雄ともこのような変化はみられなかった。休薬終了時の300 mg 投与群において尿中精子数が対照群に比べて多い傾向が認められた。

血液学的検査は投与終了時及び休薬期間終了時に実施されている。5 mg 投与群の雌に血小板数の増加が認められたが、用量相関性が無く、皮下投与による出血に伴う影響と考えられた。40 mg 以上投与群の雌雄に主に好中球、リンパ球の増加に伴う白血球数の増加ならびに血小板数の増加、雄に Hb、Ht の減少が認められ、さらに 300 mg 投与群では雌雄で網状赤血球の増加を伴う赤血球数の減少、雄で MCV、MCH の減少が認められた。これらの変化はいずれも休薬終了時には雌雄とも回復した。なお、休薬終了時における300 mg 投与群のリンパ球、白血球数は対照群を下回った。

血液生化学的検査は投与終了時及び休薬期間終了時に実施されている。40 mg 以上投与群の雌雄でアルブミン量の減少が認められ、これに伴って 40mg 以上投与群の雄及び 300mg 投与群の雌で総たん白質量、A/G 比が低下していた。雄で塩素、雌でナトリウムの低値が認められた。また 300mg 投与群の雌雄で GPT 活性、カルシウム、ナトリウム及び塩素の減少、AP、TG の増加、雄で Tcho、BUN の減少、無機リンの増加、雌でカリウムの増加が認められた。休薬期間終了時では 300 mg 投与群雄の GPT 及びカルシウムの減少が認められた以外は回復した。

臓器重量では、40mg 以上投与群の雄及び 300mg 投与群の雌で脾臓の相対及び絶対重量の増加が認められた。300mg 投与群の雌雄で肺重量の増加、雄で唾液腺、胸腺重量の減少、雌で肝重量の増加、子宮重量の減少が認められた。

剖検では、40 mg 以上投与群の雌雄において投与部皮下に出血点、遺残被験物質及び浸出液を含む肉芽嚢が高頻度で、雄で脾臓の腫大が 40mg で 1/10、300mg では全個体で認められた。その程度は 300mg 投与群でより強く、肉芽嚢は全ての個体で認められ、皮膚潰瘍を伴う例もあった。300mg 投与群の雌でも脾臓の腫大が 9/10 で認められた。また、300 mg 投与群では盲腸の拡張が全ての個体で認められた。300mg 投与群の休薬期間終了時では雌で盲腸の拡張、投与部皮下の出血点が認められた。

病理組織学的検査では、対照群および 5mg 群では投与部位に炎症が認められたものの軽度であった。40mg 以上の群では投与部位の炎症性変化は増強し、中心部に被験物質を入れる肉芽嚢の形成がみられ、300mg 群では重度であった。また投与部位における炎症の反応性変化として 40mg 以上投与群の雌雄に骨髄で顆粒球系細胞の過形成、脾臓で造血亢進が認められ、300mg 投与群では雌雄で肝臓における顆粒球系細胞の造血が認められた。その他では、被験物質投与に起因した変化は認められなかった。

本試験における NOAEL は 5mg/kg 体重/日であった。

【ラットを用いた 13 週間亜急性毒性試験】

42 日齢の CD(SD)BR 系ラット(雌雄各 15 匹/群) を用いた混餌(0、500、2000、7500ppm:雄 36.5、150.0、577.5mg/kg 体重/日、雌;45.0、182.0、690.0mg/kg 体重/日)投与における 13 週間の亜急性毒性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。なお、試験期間中に 500ppm 投与群の 1 匹が死亡した。

一般的な臨床症状観察では特に被験物質の投与に起因した異常は認められなかった。また眼検査(直接検眼鏡)にも異常は認められなかった。

体重変化では、7500ppm 投与群の雌雄で体重増加量の減少と体重の低値が認められた。

摂餌量では、7500ppm 投与群の雌雄で飼料効率がやや低下していたが、その他に差は認められなかった。

血液学的検査は、6 週と 13 週時点の 2 回が実施されている。7500ppm 投与群の雌雄で Hb の低値、雌で Ht の低値が認められた。Ht の低値は 7500ppm 投与群の雄でも認められたが統計学的な有意差はなかった。6 週の 7500ppm 投与群の雌雄で血小板数の増加が認められた。13 週の 7500ppm 投与群の雌雄においても血小板数の増加が認められたが、統計学的に有意ではなかった。13 週の雄で MCV の低値が認められた。

血液生化学的検査は、6 週と 13 週時点に 2 回が実施されている。2000ppm 投与群の 13 週の雌及び 7500ppm 投与群の 6、13 週の雌雄で血清総たん白質の低値が認められた。これはグロブリンの低下に起因しており、7500ppm 投与群の雌雄で低値が認められ、雄では A/G 比も高値を示した。7500ppm 投与群の 6、13 週目の雄で AST の低値が認められ、6 週の雄の全投与群、13 週では雄の 7500ppm 投与群で ALT の低値が認められた。また、2000ppm 以上投与群の 6 週目の雄、7500ppm 投与群の 13 週目の雌雄で無機リンの高値、2000ppm 以上投与群で TBIL の低値が認められたが、13 週では認められなかった。

尿検査では 6 週目の 2000ppm 以上投与群の雄、13 週目の 2000ppm 以上投与群の雌でナトリウムの減少が認められた。

臓器重量では、2000ppm 以上投与群の雄で前立腺の相対及び絶対、雌で心臓の絶対重量の低値が認められた。2000ppm 投与群では雌の心臓の相対重量は低値であった。7500ppm 投与群の雄の心臓の絶対重量は高値を示した。7500ppm 投与群の雌雄で肝臓の絶対重量の低値が認められ、雌では統計学的に有意であった。また、雄で精巣の相対重量の高値、雌で脾臓の絶対及び相対重量の高値が認められた。なお、報告書においては、前立腺で認められた重量の低値について、対照群で前立腺炎が認められ、重量が増加したために有意差が認められたと考察されている。

剖検及び病理組織学的検査では、盲腸の拡張が2000ppm以上投与群の雄及び7500ppm投与群の雌で認められた。高用量群の雄の精巣上体及び精巣に病変が認められ、精巣上体管内及び精巣精細管内で精子集団の間に変性あるいは壊死過程の精子細胞が認められた。また、高用量群の 3 匹(3/30)に膝関節の軟骨変性、骨膜液増生、慢性滑液包炎が認められた。対照群を含めて耳介の腫脹が認められ、病理組織学的には耳介軟骨の異常(発生頻度は用量順に 1、1、6、10)と肉芽腫が認められた。[17]

上記試験で精巣への影響が示唆されたため、さらに詳細な検討が実施された。37 日齢の雄 CD®BR 系ラットを用いた混餌(0、125、500、7500ppm:9.9、38.0、615.0mg/kg 体重/日)投与における 13 週間の亜急性毒性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。対照群、125ppm 投与群、500ppm 投与群は各 2 群(15 匹/群)、7500ppm 投与群は 3 群(15 匹/群)を設定し、14 日目に 7500ppm 投与群の 1 群、91 日目に各用量 1 群を剖検し、残りの各 1 群は 181 日目まで無投薬で飼育し、回復が観察された。なお、試験期間中に 125ppm 投与群の 1 匹が死亡した。

一般的な臨床症状観察では特に被験物質の投与に起因した異常は認められなかった。

体重変化では、7500ppm 投与群で体重増加量の減少と体重の低値が認められた。これは回復期の後期には回復した。

摂餌量では、7500ppm 投与群で飼料効率がやや低下した。

臓器重量では、500ppm 投与群で精巣上体の絶対重量の低値、7500ppm 投与群で精巣上体の絶対及び相対重量の低値及び精巣の相対重量の高値が認められた。

剖検及び病理組織学的検査では、7500ppm 群の 14 日目の検査で 10/15 に精巣内の異常精子が認められ、全例で精巣上体管中に異常精子の増加、壊死細胞、成熟精子の減少が認められた。91 日目の検査で 7500ppm 投与群の全例で精細管と精巣上体管に、500ppm 投与群の 3 例で精巣上体管に異常精子が認めら

れた。181 日目の検査ではいずれのラットの精巣にも異常精子は認められなかった。精巣の小型化が 91 日目の剖検で、7500ppm 群の 1 例(片側)、181 日目の剖検では、500ppm 投与群の 1 例(片側)および 7500ppm 投与群の 2 例(両側)に認められ、病理組織学的にいずれも萎縮性の変化が認められた。[18]

本試験における NOAEL は 9.9mg/kg 体重/日であった。

【イヌを用いた 13 週間亜急性毒性試験】

12～13 ヵ月齢のビーグル犬(雌雄各 4 頭/群)を用いた混餌投与(0、320、800、2000ppm;雄 0、9.3、22、53mg/kg 体重/日、雌 0、8.9、23、51mg/kg 体重/日) による 13 週間の亜急性毒性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。

一般的な臨床症状観察では、嘔吐が全ての群で観察されたが、2000ppm 投与群で顕著であった。

体重変化では、800ppm 以上の投与群の雄及び 2000ppm 投与群の雌で試験の初期に体重減少が認められた。同時期においては飼料摂取量も減少していた。これらは試験期間中に回復した。

血液学的検査、尿検査、眼検査(直接検眼鏡)では、特に被験物質の投与に起因した異常は認められなかった。

血液生化学的検査では、試験の初期に 800ppm 以上投与群の雄でグロブリンの低値、A/G 比の高値、総たん白質の減少傾向が認められた。これらは、試験の進行に伴って回復もしくは回復傾向を示した。

臓器重量、剖検及び病理組織学的検査では、特に投与に起因した異常は認められなかった。[19]

【若齢イヌを用いた 13 週間亜急性毒性試験】

3 ヵ月齢のビーグル犬(雌雄各 4 頭/群)を用いた混餌投与(0、100、320、2500ppm;0、3.0、9.6、75mg/kg 体重/日) による 13 週間の亜急性毒性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。

一般的な臨床症状観察では、初期に散発的な嘔吐、下痢が 100 及び 2500ppm 投与群で認められた。2500ppm 投与群の雌雄に活動低下(1/4、2/4)、前脚の手根関節の過伸展(2/4、2/4)が認められた。手根関節の異常は 2 週目には 2500ppm 投与群の全頭で認められるようになった。前脚の X 線検査が 2500ppm 投与群 3 頭、100 及び 320ppm 投与群各 2 頭、対照群 1 頭について実施されたが、2500ppm 投与群では橈骨手根部再形成が認められた。

体重変化、摂餌量に特に被験物質の投与に起因した変化は認められなかった。

血液学的検査、血液生化学的検査は試験終了時のみ実施されているが、特に被験物質の投与に起因した異常は認められなかった。

尿検査では、2500ppm 投与群の尿中に結晶が認められた。尿沈渣からはエンロフロキサシン及びシプロフロキサシンが検出された。

眼検査(直接検眼鏡)で異常は認められなかった。

臓器重量では、対照群との比較で全投与群の精巣の相対及び絶対重量の増加が認められたが、投与群間での用量相関性、有意差はともに認められなかった。

剖検及び病理組織学的検査では、320ppm 投与群の 2 頭(2/8)及び 2500ppm 投与群の 7 頭(7/8)で股関節、2500ppm 投与群の全頭で後膝関節、雌 1 頭で肩関節に異常が認められた。320ppm 投与群の 1 頭で大腿骨頭にびらん、2500ppm 投与群の全例に股関節の大腿骨頭部及び/又は膝関節の大腿骨顆に表面上の混濁を伴う表面のびらんが認められた。精巣については、成熟段階に個体による差が認められ、対照群 1 頭、320ppm 投与群 3 頭では成熟、対照群 3 頭、320 及び 2500ppm 投与群各 1 頭では未成熟であることが明らかであった。認められた所見は精細管の内腔の拡張と精細管に満たされている精原細胞の空胞状変化であっ

た。内腔の拡張は対照群を含め全ての投与群で認められた(1、1、2、1)。精原細胞の空胞状変化は対照群 1 頭、100ppm 投与群 2 頭、2500ppm 投与群 3 頭で認められ、100ppm 及び 2500ppm 投与群の所見は正常範囲外とされていたが、320ppm 投与群では認められず、用量相関性は認められなかった。[20]

上記試験で認められた精巣の変化を明らかにするため、若齢イヌを用いた追加試験が実施されている。

3ヵ月齢の雄ビーグル犬(各4頭/群)を用いた混餌投与(0、10、20、40、3200ppm;0、0.3、0.6、1.2、92.1mg/kg 体重/日) による 13 週間の亜急性毒性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。試験期間中に死亡例はなかった。

一般的な臨床症状観察では、対照群を含め散発的に軟便/下痢、嘔吐が認められた。3200ppm 投与群で活動低下、手根関節の過伸展、後肢の硬直が投与初期から認められ、幾分軽減したものの試験終了時まで継続して認められた。

体重変化では 3200ppm 投与群で 3 週頃まで体重増加の抑制が認められた。摂餌量では 3200ppm 投与群で 5 週まで低値が認められた。

眼検査(直接検眼鏡)では特に異常は認められなかった。

臓器重量では、精巣重量の変動幅は大きかったが、用量に相関した変動は認められず、成熟段階の差によるものと考えられた。

剖検では精巣及び精巣上体に特に異常は認められなかった。

病理組織学的検査では、先の試験と同様、精巣の成熟段階の違いによるばらつきが認められた。精細管中の精原細胞の空胞状変化は対照群を含めた全て群で認められたが、投与量による差はなく生理的変動の範囲内と考えられた。3200ppm 投与群では 1 頭で両側性の精巣の異常が認められ、精細管に多核巨細胞と、時に有糸分裂像を認める大きな核を有する大型の細胞が認められた。[21]

幼若時の暴露が成長後に影響を及ぼすかについて追加で検討が行われている。

3 ヵ月齢の雄ビーグル犬(各 4 頭/群)を用いた混餌投与(0、10、40ppm;0、0.3、1.2mg/kg 体重/日) による 13 週間の亜急性毒性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。全ての動物は 13 週間の投与期間終了後、さらに 13 週間休薬し、その後精巣及び精巣上体の病理組織学的検査を実施した。

一般的な臨床症状観察、体重変化、飼料摂取量、剖検及び病理組織学的検査では、いずれも特に被験物質の投与に起因した異常は認められなかった。精巣及び精巣上体はいずれも成熟し、正常な精子を含有していた。[22]

本試験における NOAEL は 3mg/kg 体重/日であった。

(3)慢性毒性試験

【マウスを用いた 2 年間発がん性/慢性毒性併合試験】[23]

B6C3F$_1$ マウス(雌雄各 60 匹/群)を用いた混餌(0、1000、3300、10000ppm ; 雄 0、323、1097、3526mg/kg 体重/日、雌 0、373、1206、3696mg/kg 体重/日)投与による 2 年間の発がん性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。各群 10 匹は 12 ヵ月の時点で中間剖検された。また中間剖検用に雌雄各 10 匹/群について、各投与群に加え 20000ppm(雄 8031、雌 8007 mg/kg 体重/日)が 12 ヵ月間混餌投与された。

一般的な臨床症状観察では、中間剖検された 20000ppm 投与群を含め特に被験物質の投与に起因した異常は認められなかった。試験期間中の死亡率に差は認められなかった。

体重変化では、10000ppm 以下の投与群では雌雄でしばしば顕著な高値が認められた。20000ppm では対照群と差は認められなかった。

摂餌量、飲水量では、10000ppm 以下の投与群では差は認められなかった。20000ppm 投与群では雌雄で摂餌量・飲水量ともやや多かった(但し、20000ppm 投与群は 12 ヶ月間、対照群ないし 10000ppm 以下の群では 24 ヶ月間投与の平均値の比較)。

血液学的、血液生化学的検査は 12 ヵ月と試験終了時の 2 時点で実施されている。

血液学的検査では、12 ヵ月の時点で雄の全投与群と雌の 3300ppm 以上投与群で MCV の低値が認められたが、試験終了時には雄の 3300ppm 以上投与群と雌の 10000ppm 投与群のみとなった。12 及び 24 ヵ月のいずれの時点でも雄の 3300ppm 以上投与群、雌の 10000ppm 以上投与群で MCH の低値が認められた。12 ヵ月時点で雄の 10000ppm 以上投与群、試験終了時で 3300ppm 以上投与群の雄及び 10000ppm 投与群の雌で白血球数の減少が認められた。また、12 ヶ月時点で Hb、Ht の低下が 20000ppm 投与群の雄、10000ppm 以上投与群の雌で認められた。10000ppm 以上投与群の雌雄で Hb、Ht の低下が 12 ヵ月及び/又は試験終了時で認められた。その他いくつかの項目で散発的に有意差を示す項目が認められたが、毒性学的意義はないと考えられた。

血液生化学的検査では、12 ヵ月時点で 3300ppm 以上、試験終了時で 10000ppm 投与群の雌で AP の低値が認められた。ALT、AST には異常は認められなかった。12 ヵ月時点の雄の 20000ppm 投与群、雌の 3300ppm 以上投与群、試験終了時の雄の 10000ppm 投与群、雌の 3300ppm 以上投与群で総たん白質の減少が認められ、アルブミンの知見からグロブリンの低値によるものと考えられた。また、12 ヶ月時点で、雌の 10000ppm 以上投与群で CREA の増加を認めた。その他散発的に有意差のある項目が散見されたが毒性学的意味は無いと考えられた。

試験終了時での眼検査では 10000ppm 投与群の雌雄で限局的な混濁が認められたが、病理組織学的検査では異常は認められなかった。

臓器重量では雌において 12 ヶ月時点で 20000ppm 投与群、試験終了時で 10000ppm 投与群に腎臓の相対及び絶対重量の増加が認められた。他にも有意差のある項目が散見されたが、多くは体重差に起因するものであり、その他用量相関性や程度から毒性学的な意義のある変化とは認められなかった。

試験終了時の剖検では、雄の 1000ppm 以上投与群、雌の 3300ppm 以上投与群で盲腸の拡張が認められた。他には期間途中の剖検例も含め、特に被験物質の投与に起因した異常は認められなかった。

病理組織学的検査では、3300ppm 以上投与群の雄及び 10000ppm 投与群の雌で胆管過形成と胆嚢の限局性の粘膜乳頭状過形成が認められた。腫瘍の発生率については、投与群間で特に被験物質の投与に起因した有意差は認められなかった。

本試験において発がん性は認められなかった。また、盲腸の拡張を除いた NOAEL は 323mg/kg 体重/日であった。

【ラットを用いた 2 年間慢性毒性/発がん性併合試験】[24), (25), (26), (27), (28)]

Wistar(Bor:WISW)ラット(雌雄各 50 匹/群)を用いた混餌(0、770、2000、6000ppm ; 雄 0、41.0、103.4、337.6mg/kg 体重/日、雌 0、57.7、146.0、465.6mg/kg 体重/日)投与による 2 年間の発がん性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。また同時に中間剖検用に別途各用量について雌雄各 10 匹/群及びさらに 10000ppm(雄 855.5、雌 1001.4 mg/kg 体重/日)が設定され 12 ヵ月間混餌投与された。

群間比較では有意な生存率の変化は認められなかった。

体重変化では 6000ppm 投与群の雄及び 10000ppm 投与群の雌雄で体重増加量の減少が認められたが、770、2000ppm 投与群の雄では増加していた。体重増加量の減少は 10000ppm 投与群の雄で顕著であった。

飼料摂取量では10000ppm投与群の雌雄で、飲水量は6000ppm以上投与群の雌雄で増加が認められた。

血液学的検査は6、12、18、24ヵ月に実施されている。6ヵ月の時点において、RBC、Hb、Ht、MCVの低値が認められ、6000ppm以上投与群の雄のHt、10000ppm投与群の雄のRBC、雌雄のHb、雌雄のHtは背景対照をうわまわっていた。また、白血球数の減少も認められたがこれは抗生物質の場合、細菌が死滅することにより二次的によく認められる現象である。これらはいずれも24ヵ月時点では差は認められなかった。

血液生化学的検査は6、12、18、24ヵ月に実施されている。雄の全ての投与群で24ヵ月の2000ppm投与群を除き6ヵ月以降のいずれの時点においても総たん白質の有意な減少が認められた。雌では6ヵ月時点及び試験終了時に2000ppm以上投与群、12ヵ月時点で2000ppm及び10000ppm投与群で減少が認められた。総たん白質の減少はたん白質の電気泳動による解析結果からグロブリンの低下によるものと考えられた。報告者は、抗菌剤の投与により病原体が減少し、免疫系の活性化が低下したものと考察している。

尿検査ではたん白質排泄量が減少したが、これは血液中のたん白質の減少に伴うものと考えられた。

眼検査では特に被験物質投与の影響は認められなかった。

臓器重量では、2000ppm以上投与群の雄で肝臓の相対及び絶対重量の減少が認められた。雌では中間剖検で770と10000ppm投与群で同様の変化が認められたが用量相関性はなく、試験終了時では2000ppmのみで認められ一貫性がない結果であった。その他散発的な変化が認められたが多くは体重差に起因するものであり、毒性学的な意義は不明であった。

最終剖検時の肉眼的所見では、2000ppm以上投与群の雌雄で肝嚢胞の増加、6000ppm投与群で盲腸の拡張が認められた。

病理組織学的検査では、中間剖検時に線維化を伴う胆管過形成が対照群を含めた雄の全ての群及び雌の6000ppm以上投与群で認められ、雄の6000ppm以上投与群では有意であった。また、精巣萎縮が6000ppm以上投与群で認められ、10000ppmでは有意であった。試験終了時では線維化を伴う胆管過形成及び嚢胞性胆管過形成、精巣の萎縮及び石灰沈着、心筋症、骨格筋筋線維の核数の増加が対照群を含めた雌雄で認められ、線維化を伴う胆管過形成は雄の全ての投与群と雌の2000ppm以上投与群、嚢胞性胆管過形成は雄の2000ppm以上投与群と雌の6000ppm投与群、雄の精巣萎縮、石灰沈着は6000ppm投与群、心筋症は雌の全ての投与群と雄の6000ppm投与群、骨格筋変化は雌雄の6000ppm投与群で有意であった。

腫瘍発生については、中間剖検ではほとんど認められなかった。試験終了時では、雄の6000ppm投与群で甲状腺のC-細胞腺腫の発生頻度の増加が認められ、腺癌との合計では統計学的に有意となったが、背景対照の範囲内であった。雌の6000ppm投与群で統計学的な有意差はないが、心内膜下間葉性細胞腫瘍(神経鞘腫)の増加が認められた。これを心内膜下間葉性細胞過形成と合算した場合、統計学的に有意に増加した。この所見は別途評価された結果、本試験では対照群の雌雄で心内膜下間葉性細胞腫と過形成の発生がなく、対照群における同病変の頻度は背景データより低い値であること、雄では用量相関性が観察されなかったこと等から、雌雄ともこれらの病変の増加は投与との関連性はないと結論されており、EMEAおよびJECFAにおいてもその結論は支持されている。また、本試験の雌雄で増加した心筋症との関連性も認められていない。さらに、心内膜下神経鞘腫はラットにのみ発生する種特異的な腫瘍であると考えられている。これらの結果より、心内膜の腫瘍性病変の発生頻度の増加が投与に関連する可能性は極めて低く、またヒトへの外挿性はないと考えられる。その他の腫瘍及び悪性腫瘍の頻度に差は認められなかった。

本試験において発がん性は認められなかったが、770ppm投与群においても胆管過形成及び心筋症が

認められたため、NOAEL は求められなかった。

上記で認められたいくつかの病変についてのNOAEL を確認するため、同系統のラットを用いた追加試験が実施されている。

Wistar(Bor:WISW)ラット(雌雄各 50 匹/群)を用いた混餌(0、100、500ppm ; 雄 0、5.3、26mg/kg 体重/日、雌 0、7.2、36mg/kg 体重/日)投与による 2 年間の発がん性/慢性毒性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。各群雌雄各 10 匹は 12 ヵ月の時点で中間剖検に供された。

生存率、一般臨床症状観察、眼検査、摂餌量、飲水量、体重変化、血液学的検査、血液生化学的検査、臓器重量には投与に起因した異常は認められなかった。

剖検及び病理組織学的検査では、雄で肝臓の肥大が認められたが、重量及び病理組織学的に後述の変化を除き異常は認められなかった。肝臓で線維化を伴う胆管過形成が中間剖検時で雄の 100ppm 以上投与群、試験終了時で雌雄の 500ppm 投与群で認められた。

腫瘍形成については肝臓と心臓のみ病理組織学的検査が実施されているが特に腫瘍の発生率の上昇は認められなかった。

上記 2 試験で最低投与量においても線維化を伴う胆管過形成が認められたことから、この病変に対するNOAEL を決定するため、再度試験が実施された。

Wistar(Bor:WISW)ラット(雌雄各 50 匹/群)を用いた混餌(0、10、50ppm ; 雄 0、0.6、2.9mg/kg 体重/日、雌 0、0.7、3.5mg/kg 体重/日)投与による 2 年間の慢性毒性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。各群雌雄各 10 匹は 12 ヵ月の時点で中間剖検に供された。

生存率、一般臨床症状観察、眼検査、摂餌量、飲水量、体重変化、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、臓器重量、剖検及び病理組織学的検査において被験物質の投与に起因した異常は認められなかった。

本試験におけるNOAEL は2.9mg/kg 体重/日であった。

(4)繁殖毒性試験及び催奇形性試験

【ラットを用いた 2 世代繁殖試験】[29),(30),(31)]

Sprague-Dawley 系ラット(Crl:CD®BR ; 雌雄各 30 匹/群)を用いた混餌(0、500、2000、7500ppm ;)投与による 2 世代繁殖試験が実施されている。

被験物質の投与は F_0 世代雄では 40 日齢以上の動物を用いて交配前 70 日間、雌では 100 日齢以上の動物を用いて交配前 14 日間、F_1 世代では離乳後、雌雄とも交配 70 日前から剖検時まで行った。F_0 世代交配の出生児(F_1)は一部を除き、離乳(生後 21 日)までほ育され、離乳後各群雌雄 25 匹を選抜し、これらを交配し F_2 世代を得た。選抜されなかった F_1 は剖検に供された。F_2 世代は一部を除き離乳までほ育された。

一般的な臨床観察では、7500ppm 投与群の F_1 雌数匹で鼻孔周辺に茶褐色の付着物が認められた。体重変化では F_0、F_1 ともに 7500ppm 投与群の雌雄で低体重と増加量の減少が認められた。飼料摂取量は 7500ppm 投与群の F_1 雄で試験期間中減少した。

性周期に投与の影響は認められなかったが、F_0、F_1 世代ともに妊娠率の低下、妊娠期間の軽度な延長、総産児数、出生率、着床数の低下が 7500ppm 投与群で認められた。

死産児数には、F_0 および F_1 世代とも投与群と対照群の間に差はみられなかった。

F_1 および F_2 児の生後 1～4 日の生存率、生後 5～21 日の生存率(離乳率)は 7500ppm 投与群で低下し、ほ育期間中低体重と体重増加の抑制が認められた。

児の外表、骨格ともに投与に起因した異常は認められなかった。

病理組織学的検査では、7500ppm 投与群の F_1 雄の数例で片側性の精巣萎縮、散在性の精細管萎縮、精巣上体中の細胞残屑が認められた。また、F_0、F_1 雄の多くで変性した精子細胞が精細管や精巣上体中に認められた。雌の生殖器官には病理組織学的異常はみられなかった。

Sprague-Dawley 系ラット(Crl:CD®BR;雌雄各 30 匹/群)を用いた混餌(0、125、300、2000ppm;0、10、25、165mg/kg 体重/日)投与による 2 世代繁殖試験が実施されている。

投与は F_0 世代雄では 47 日齢の動物を用いて交配前 70 日間、雌では 103 日齢の動物を用いて 14 日間、F_1 世代では離乳後、雌雄とも交配の 77 日前から剖検時まで行った。F_0 世代交配の出生児(F_1)は一部を除き、離乳(生後 21 日)までほ育され、離乳後各群雌雄 25 匹を選抜し、これらを交配して F_2 世代を得た。選抜されなかった F_1 は剖検に供された。F_2 世代は一部を除き離乳までほ育された。

一般的な臨床観察、体重、飼料摂取量には投与の影響は認められなかった。

性周期、妊娠率、着床数、同腹児数、死産児数、児の生存率には、F_0 および F_1 世代とも投与群と対照群の間に差はみられなかった。F_2 の 2000ppm 投与群では離乳前の体重増加が軽度に低下した。

児の外表、骨格ともに投与に起因した異常は認められなかった。

臓器重量では、2000ppm 投与群の F_0、F_1 雄の精巣上体重量に統計学的有意差はないが減少傾向が認められた。剖検、病理組織学的検査では、300ppm 以上投与群の F_0 及び F_1 雄で変性した精子細胞が精巣の精細管や精巣上体中に認められた。125ppm 投与群ではこれらの変化は認められなかった。

本試験における NOAEL は 10mg/kg 体重/日であった。

上記 2 試験で雄の精子に形態異常が認められたため、これらの異常が発現する時期について検討するために追加試験を行った。

Sprague-Dawley 系ラット(Crl:CD®BR;雄 60 匹/群)に 0 または 7500ppm の濃度でエンロフロキサシンを添加した飼料を 90 日間投与した。投与 3、6、9 週にそれぞれ各群 10 匹、13 週に 15 匹を剖検し、残りの雄 15 匹には基礎飼料を与え回復群としてさらに 13 週間飼育した。投与 11 週及び投与終了後 3、7、11 週に各群の雄 15 匹を薬剤未投与の雌と最長 2 週間交配させ、雌ラットを妊娠 20 日に剖検し、繁殖成績を調べた。

投与雄では投与期間を通じて低体重及び体重増加の減少が認められ、飼料摂取量も減少した。これらは投薬終了後に回復した。

いずれの時期の交配においても交尾率に影響は認められなかったが、投与雄の 3 例で繁殖成績の低下が認められ、これらの動物では両側精巣の完全あるいは中程度の萎縮が観察された。精巣重量では中間剖検で相対及び絶対重量の増加が認められ、試験終了時には絶対重量の低値がみられた。精巣上体重量は回復期を含めて試験期間中を通じて相対及び絶対重量の低値を示した。精巣あるいは精巣上体中の精子の変性は投与 3 週の剖検時で認められ、経時的に増加した。また、精巣上体中の細胞残屑の増加が認められた。投与雄における異常精子は 1 例を除いて休薬期間中に回復したが、精細管の萎縮は投与雄の 6/15 でなお認められた。

投与 11 週に交配した雌で妊娠率、同腹児数及び着床数の低下、未着床胚数[d]の増加が認められた。着床後吸収胚数の増加は認められなかった。妊娠率、同腹児数及び着床数の低下、未着床胚数増加は休薬期間中に回復した。

[d] 黄体数と着床数から計算

被験物質の投与に起因すると考えられる胎児の外形異常は認められなかった。

【ラットを用いた催奇形性試験】[32]

COBS CD 系ラット(28 匹/群)を用いた強制経口(0、50、210、875 mg/kg 体重/日)投与による催奇形性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。被験物質の投与は、妊娠 6 日から 15 日の間行った。

母動物の死亡は認められなかった。一般的な臨床症状観察では、被験物質の投与に起因した異常は認められなかった。体重増加の低値が 875 mg 投与群の妊娠期間中で認められた。また、妊娠 20 日の体重は低値を示した。飼料摂取量の低下が妊娠 8 日の 210mg 以上投与群、12 日の 875mg 投与群で認められたが、後半には回復し、20 日には高用量群で有意に増加した。

875mg 投与群で同腹子数の減少、着床後胚／胎児死亡数の増加が認められた。210mg 以上投与群において胎児重量の低値が認められた。黄体数、胎児の性比に投与の影響は認められなかった。

210mg 投与群の胎児で椎骨と胸骨、875mg 投与群の胎児で頭蓋骨、椎骨、骨盤骨、胸骨、肢骨の骨化遅延が認められた。胎児の外表、内臓および骨格の奇形や変異の発現率に投与の影響は認められなかった。

以上の結果から、本試験の母動物及び胎児動物に対する NOAEL は 50mg/kg/日であった。

【ウサギを用いた催奇形性試験】[33]

ウサギ(チンチラ種; 16 匹/群)を用いた強制経口(0、1、5、25mg/kg 体重/日)投与による催奇形性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。被験物質の投与は、妊娠 6 日から 18 日の間行った。なお、25mg までの投与において母体毒性が認められなかったため、対照群と 75mg 投与群を用いた試験が追加で設定され、同様の方法で実施された。

追加試験対照群の母動物の 1 例を除き死亡例は認められなかった。一般的な臨床症状観察では、75mg 投与群の 1 例で妊娠 19 日及び 20 日に流産の兆候が観察された他は、被験物質の投与に起因した異常は認められなかった。体重増加の低値が 75 mg 投与群の交配後 15 日まで認められ、交配後 6-8 日に体重の軽度な減少が認められ、11 日以降は有意な低値を示した。被験物質の投与期間を通じて 75mg 投与群の飼料摂取量は低値を示した。

75mg 投与群で着床後胚／胎児死亡数の増加が認められた。この他には特に投与の影響は認められなかった。

胎児の外表、内臓および骨格の奇形や変異の発現率、骨化状態に投与の影響は認められなかった。

以上の結果から、本試験の母動物及び胎児動物に対する NOAEL は 25mg/kg/日であった。

(5)遺伝毒性試験

変異原性に関する各種の *in vitro* 及び *in vivo* 試験の結果を次表にまとめた。

【変異原性に関する各種試験の結果一覧】

in vitro 試験

試験	対象	投与量	結果
不定期 DNA 合成試験 (UDS 試験)	ラット初代培養肝細胞	1～500μg/mL[1]	陰性[34]
Ames 試験	*S. typhimurium* TA1535, TA1537, TA98, TA100, *E. coli* WP2 *uvrA*	0.5～150 ng/plate(±S9)[2]	陰性[35]
	S. typhimurium TA1535, TA1537, TA98, TA100, *E. coli* WP2 *uvrA*	0.05～15 ng/plate(±S9)[3]	陰性[35]
	S. typhimurium TA1535, TA1537, TA98, TA100	0.004～40ng/plate(±S9)[4]	陰性[36]
染色体異常試験	CHO(WBI)[37]	50～250 μg/mL[5] (-S9；23h)	陽性 (250μg)
		25～500 μg/mL[6] (-S9；22h)	陽性 (250μg)
		250～1000 μg/mL[7] (+S9；2h+24.25h)	陰性
		100～2000 μg/mL[8] (+S9；2h+22.8h)	陰性
前進突然変異試験	CHO(K1-BH/ HPRT)[38]	0.25～1.25 mg/mL[9] (-S9；4h)	不明確[10]
		0.375～1.25 mg/mL[9] (+S9；4hr)	不明確[11]

1 500μg/mL では細胞致死作用により解析不可能
2 1.5(TA1535-S9)、5(TA100±S9, TA1535+ S9)、15(WP2±S9, TA98- S9, TA1537+ S9)、50(TA98+ S9, TA1537- S9)ng/plate で菌の生育阻害が認められた。
3 5(TA100±S9, TA1535±S9 ,TA1537±S9)、15(WP2±S9, TA98±S9)ng/plate で菌の生育阻害が認められた。
4 予備試験において 40ng/plate 以上で菌の生育阻害が認められた
5 50μg/mL については 7.2h 処理も実施。250μg/mL では細胞毒性が認められた。
6 50μg/mL 以下については 7.5h 処理も実施。250μg/mL で細胞毒性が認められ、500μg/mL では有糸分裂中の細胞が得られなかった。
7 500μg/mL 以下については 8.25h 処理も実施。500μg/mL 以上で細胞毒性が認められた。
8 500μg/mL 以下については 8.2h 処理も実施。2000μg/mL では有糸分裂中の細胞が得られなかった。
9 1mg/mL 以上では 細胞毒性が認められた。
10 陽性結果が散見されたが、再現性、用量相関性がなく、変動は背景対照の範囲内であった。
11 陽性結果が散見されたが、再現性、用量相関性がない

上記のように、*in vitro* の試験においては UDS 試験及び Ames 試験で陰性であったが、ほ乳類培養細胞を用いた染色体異常試験では-S9 条件下のみ、細胞毒性の認められる用量で陽性の結果が得られている。また、ほ乳類培養細胞を用いた前進突然変異試験では陽性結果が散見されるものの、再現性に乏しく、用量相関性の無い、不明瞭な結果が得られている。

in vivo 試験

試験系	試験対象	投与量	結果
小核試験	マウス骨髄[39]	2000 mg/kg/日，単回腹腔内[1]	陰性
		1000，1500，2000 mg/kg/日，単回腹腔内[2]	陰性
染色体異常試験	ラット骨髄[40]	40，200，1000mg/kg/日，単回経口[3]	陰性

[1] 9/30 の動物が死亡し、72 時間後の観察では多染性赤血球に対する成熟赤血球比率に毒性影響が認められた。
[2] 1500mg 以上投与群で 3/10 の動物が死亡した。
[3] 予備試験で 1500mg 以上の投与では副作用のため試験が困難とされた。1000mg 投与群では一部に重度の副作用が認められた。

上記の通り、げっ歯類を用いた *in vivo* の骨髄小核試験、骨髄染色体異常試験ではいずれも陰性であった。

エンロフロキサシンの遺伝毒性については CHO 培養細胞を用いた前進突然変異試験で陽性を疑わせる結果及び染色体異常試験で-S9 条件下の細胞毒性が認められる用量において陽性の結果が報告されている。しかし、骨髄に毒性影響が認められる用量まで試験されたマウスを用いた骨髄小核試験及び個体に著しい毒性が認められる用量まで試験されたラットを用いた骨髄染色体異常試験のいずれも陰性であった。

これらのことから、エンロフロキサシンに生体にとって問題となる遺伝毒性はないと考えられる。

(6)一般薬理試験

【一般症状及び行動】

Irwin の多次元観察法(マウス)において 25mg/kg 体重以上の腹腔内投与で運動性の抑制、83mg/kg 体重以上で認知力の抑制、250mg/kg 体重で振戦、攣縮、痙攣等の中枢興奮症状、姿勢制御抑制、眼裂縮小、排尿、流涎、立毛、体温降下等の自律神経症状が認められた。これらの症状は投与後 30～60 分で最大となり、約 2-3 時間で消失した。8.3mg/kg 体重の投与では一般症状及び行動に著変は認められなかった。[41]

【中枢神経系への作用】

体温測定(ウサギ；直腸温)においては 83mg/kg 体重の静脈投与で 1 例に(1/3)軽度の上昇が認められた(8.3、25mg/kg では影響なし)。[41]

ヘキソバルビタール麻酔(マウス；睡眠時間)、中枢性協調能(マウス；平行棒法)、鎮痛作用(マウス；熱板法)、抗痙攣作用(マウス；電気刺激、ペントテトラゾール痙攣)、懸垂能(マウス；水平棒)、カタレプシー(マウス、ラット)、探索行動 (マウス；Hoffmeister らの方法)、反射 (ラット；舌下顎反射、神経伝達阻害)において、100mg/kg までの経口投与で影響は認められなかった。自発運動(マウス)は 100mg/kg の経口投与で軽度の亢進作用を示した。[42]

【自律神経系への作用】

ウサギでは投与直後に一過性の縮瞳が認められた他に変化は認められなかった。[41]

【平滑筋に対する作用】

生体位子宮運動(ウサギ)では 83mg/kg 体重の静脈投与で自発性収縮の軽度な減少が認められた。[41]

摘出回腸(モルモット；自発収縮) では 10^{-7}～10^{-4}g/mL の濃度でコリン作動薬による収縮、ヒスタミン収縮に対して濃度依存的に抑制作用を示した。単独では収縮及び弛緩作用を示さなかった。[41]

摘出気管(モルモット；自発収縮)においては、10μg/mL までの濃度で摘出気管の固有緊張(トーン)、ヒスタミン及びロイコトリエン D_4 による収縮に影響を及ぼさなかった。[43]

【消化器官系に対する作用】

腸管輸送能(ラット；炭末移動)、胃忍容性(ラット；損傷測定)においては、100mg/kg までの濃度の経口投与で影響を及ぼさなかった。胃酸基礎分泌(ラット；胃管流液の測定)においては、100mg/kg までの用量の十二指腸内投与で影響を及ぼさなかった。[44]

【呼吸循環器系への作用】

呼吸、血圧、心拍数(いずれもウサギ；8.3、25、83mg/kg の静脈投与)が観察された。呼吸数はいずれの用量でも投与直後から用量依存的に減少したが、15 分から回復傾向を示し、60 分には回復した。血圧は投与直後から 60-90 分まで軽度に降下したが、その後は回復傾向を示した。心拍数は 83mg 投与群で投与直後から減少し、5 分後には約 23%の減少が認められた。その後は増加に転じ、30 分後には約 10%増加し、以後 180 分まで持続した。25mg 以下では変化は認められなかった。[41]

血圧、心拍数、血流量、心電図(麻酔イヌ)では 5 及び 15mg/kg の静脈内投与で一過性の軽度血圧低下を伴った末梢血管拡張、左心室内圧上昇速度の増加が認められた。これらの変化は投与量に関わりなく同様であり、内因性ヒスタミンの遊離の可能性が示唆された。[45]

【血液系への作用】

血液系への作用は、血液凝固能(ラット；血液凝固時間、血小板凝集、線維素溶解作用)について実施されたが、100mg/kg までの経口投与では影響は認められなかった。[46]

【その他】

尿排泄への作用(ラット；尿量、Na^+、K^+測定)においては 100mg/kg の経口投与で K^+の排泄が増加した。30mg/kg までの濃度では影響は認められなかった。[47]

血糖値、血清トリグリセライド値(ラット) においては、摂食ラットでは 100mg/kg までの経口投与では影響は認められなかったが、絶食ラットでは 30mg/kg 以上の経口投与で血糖値、血清トリグリセライド値の上昇が認められた。耐糖能(絶食ラット；グルコース経口負荷試験)においては、100mg/kg までの経口投与では影響は認められなかったが、100mg/kg の投与 120 分後の血糖値には上昇が認められた。[48]

(7)その他

【皮膚感作性】

雄モルモット(白色種)15 匹に 25%エンロフロキサシン懸濁液を粘着性パッチを用いて試験 0、7、14 日目にそれぞれ 6 時間皮膚に貼付し、感作を行った。27 日目に感作と同様の処置を行い、24 及び 48 時間後の発赤の程度を確認したところ、48 時間後に 1 例で非常に弱い発赤が認められたのみであり、感作性はないものと考えられた。[49]

(8) 微生物学的影響に関する特殊試験

【 *in vitro* の MIC 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)[50),(51)]

ヒト臨床分離株等に対するエンロフロキサシンの 10^7cfu/mL における MIC が報告されている。

菌名	株数	最小発育阻止濃度(μg/mL)		
		Enrofloxacin		
		MIC_{50}	MIC_{90}	範囲
偏性嫌気性菌				
Bacteroides spp.	10	1	4	0.5-4
Bifidobacterium spp.	10	0.5	2	0.016-2
Clostridium spp.	10	0.5	4	0.125-4
Eubacterium spp.	10	0.25	0.25	0.125-4
Fusobacterium spp.	10	0.125	8	0.062-8
Peptostreptococcus spp.	10	0.25	8	0.062-16
通性嫌気性菌				
Enterococci	10	1	1	0.5-1
Escherichia coli	10	0.031	0.062	0.031-0.062
Lactobacillus spp.	10	0.5	1	0.5-4
Proteus spp.	10	0.125	0.125	0.062-0.125

調査された菌種のうち、最も低い MIC_{50} が報告されているのは *Escherichia coli* の 0.031μg/mL であった。次いで *Fusobacterium spp.*、*Proteus* spp. の 0.125μg/mL であった。

②代謝物のヒトの腸内細菌に対する最小発育阻止濃度 (MIC)

エンロフロキサシン及びエンロフロキサシンの代謝物として同定されたシプロフロキサシン、オキソシプロフロキサシン、開環オキソシプロフロキサシン、7-aminoacetic fluroquinolonic acid、desethylene enrofloxacin、desethylene ciprofloxacin、n-formyl ciprofloxacin、7-aminofluoro-quinolonic acid、オキソエンロフロキサシンについて、*Escherichia coli*、*Proteus*、*Lactobacillus*、*Enterococcus*、*Staphylococcus* に対する MIC が測定されたが、抗菌活性はシプロフロキサシンを除きいずれもエンロフロキサシンよりも弱かった。

③pHの最小発育阻止濃度 (MIC)に及ぼす影響

エンロフロキサシンの *Bacteroides* spp.、*Bifidobacterium* spp.、*Clostridium* spp.、*Enterococcus* spp.、*Escherichia coli*、*Eubacterium* spp.、*Fusobacterium* spp.、*Lactobacillus* spp.、*Peptostreptococcus* spp.、*Proteus* spp. に対する MIC(算術平均)に pH が及ぼす影響が調査されている。少数例[e]を除き pH7.2 で pH6.2 あるいは 5.2 よりも強い抗菌活性が認められた。

[e] *Peptostreptococcus* spp.、*Eubacterium* spp.は pH5.2 においてやや強い抗菌活性を示した

④ *in vitro* 擬似腸内環境における細菌の生存率

エンロフロキサシンを Cooked meat 培地に加え、適当な pH、塩濃度でペプシン、パンクレアチン処理した腸内環境を模した条件下において、*Bifidobacterium* は 0.4、*Escherichia coli* は 0.56、*Enterococcus*、*Clostridium* は 0.9、*Bacteroides* は 1.4μg/mL の濃度のエンロフロキサシン存在下においても菌の増殖が認められた。これらはいずれも①で測定された MIC よりも高い濃度であった。

【ヒトボランティアにおける微生物学的影響】

エンロフロキサシンについて、ヒトにおける直接の知見は得られていないが、シプロフロキサシンについては複数の事例が報告されている。

12 名の健常男性ボランティアについて、500mg のシプロフロキサシンを 1 日 2 回、7 日間経口投与し、投与前、投与最終日及び投与終了後1週時点の糞便中の大腸菌(Coli forms)、*Streptococci*、*Staphylococci*、酵母及び偏性嫌気性菌数の変動が報告されている。投与最終日では、大腸菌が消失し、*Streptococci*、*Staphylococci* は統計学的に有意に減少した。酵母は増加、偏性嫌気性菌は減少したがいずれもわずかであった。投与終了後1週の時点では、これらはほぼ回復した。[52]

12 名の健常ボランティア(男女各 6 名)について、400mg のシプロフロキサシンを 1 日 2 回、7 日間経口投与し、投与前、投与期間中の 2、5 日、投与終了後1、3、8 日時点の糞便中の *E. coli*、*Streptococci*、*Staphylococci*、カンジダ酵母、偏性嫌気性菌(*Bacteroides*、*Bifidobacterium*)等の変動が報告されている。投与開始後、*E. coli* が消失し、*Streptococci*、*Staphylococci* が減少した。カンジダ酵母、偏性嫌気性菌は減少したがいずれもわずかであった。投与終了後、これらは徐々に回復した。また、*Clostridium difficile* は投与前、投与期間中、投与後共に検出されなかった。[53]

12 名の健常ボランティア(男女各 6 名)について、500mg のシプロフロキサシンを 1 日 2 回、5 日間経口投与し、投与前、投与期間中の 1、3、5 日、投与終了後 2、14 日時点の糞便中の種々の通性嫌気性菌(enterobacteria、enterococci 等)や偏性嫌気性菌(anaerobic cocci、*Bacteroides*、*Bifidobacterium*、*Fusobacterium* 等)の変動が報告されている。投与開始後、enterobacteria、enterococci は顕著に減少したが、偏性嫌気性菌の減少はわずかであった。投与終了後 14 日の時点では、これらはほぼ回復した。*Clostridium difficile* 及びその毒素は投与前、投与期間中、投与後共に検出されなかった。また、MIC_{50} が 1mg/L を超える耐性菌の出現は認められなかった。[54]

12 名の健常ボランティアについて、200mg のシプロフロキサシンを 1 日 4 回、6 日間経口投与し、投与前、投与期間中毎日、投与終了後 4 日までの糞便中の *Streptococci*、カンジダ酵母、腸内細菌科の細菌の変動が報告されている。腸内細菌科の細菌は投与 4 日目には消失し、*Streptococci* はわずかに減少、カンジダ酵母がわずかに増加した。投与終了後 7 日の時点では、これらはほぼ回復した。また、耐性菌の出現は認められなかった。[55]

14 名の肝硬変患者(男性 5、女性 9 名)について、シプロフロキサシン 500mg を 1 日 1 回、もしくは 250mg を 1 日 2 回、5-10 日間経口投与し、投与前、投与期間中 3-5 日、投与終了後 2-4、5-8、9-14 日の糞便中の種々の通性嫌気性菌、偏性嫌気性菌、酵母の変動が報告されている。投与開始後、腸内細菌科の細菌は顕著に減少し、bacteroides も減少したが、投与終了後 14 日の時点ではこれらはほぼ回復した。それぞれの投与群の各 1 名で投与期間中カンジダ酵母が認められ、投与終了後 14 日の時点においてもなお認められた。[56]

10 名の健常ボランティアについて、750mg のシプロフロキサシンを単回経口投与し、投与前及び投与後 8 日までの糞便中の種々の通性嫌気性菌、偏性嫌気性菌、酵母の変動が報告されている。投与開始後、腸内細菌科の細菌が顕著に減少し、このため通性嫌気性菌数が減少した。偏性嫌気性菌、*Streptococci*、

Staphylococci、酵母には投与の影響はほとんど認められなかった。また、*Pseudomonas aeruginosa*、*Clostridium difficile* は投与前に *C. difficile* の健常キャリアーであった1名を除き検出されなかった。投与によりナリジクス酸耐性の腸内細菌科の細菌が増加したが、投与後5-8日までには投与前の状態となった。[57]

(9)ヒトにおける知見について

【ヒトにおけるキノロンの毒性影響】

エンロフロキサシンのヒト臨床における使用歴はないが、同系統に属するキノロン類あるいはフルオロキノロン類の抗生物質、代謝物であるシプロフロキサシンは広くヒト臨床において利用されている。

臨床で認められた副作用で最も一般的なものは消化器系への影響で、悪心、嘔吐等であるが下痢や抗生物質に起因する大腸炎はまれであるとされている。その他、中枢神経系に関連するものとして頭痛、めまい、消炎薬との併用で痙攣、アレルギー反応に関連するものとして発疹があるとされる。この系統の薬剤による副作用に特徴的なのものとして、特に未成熟な動物における関節痛や関節膨張等の関節障害、一部では光毒性に由来する光過敏症がある。

【薬剤耐性菌について】

エンロフロキサシンの代謝物であるシプロフロキサシンはヒト臨床上において広く使用されている。なお、米国ではフルオロキノロン耐性カンピロバクターに対するリスク評価が実施され、鶏に対する使用許可が2005年9月12日に取り消された。

3．食品健康影響評価について

【関節影響に関する知見について】

キノロン剤は未成熟な動物における関節痛や関節膨張等の関節障害を起こすことが知られている。エンロフロキサシンについては、3ヵ月齢のビーグル犬を用いた13週間の混餌投与試験において関節影響が観察されている。3.0、9.6、75mg/kg体重/日の用量が13週間投与され、臨床症状観察で75mg投与群に手根関節の過伸展、病理組織学的検査で 9.6mg 以上の投与群に股関節や膝関節の異常が認められた。これらは3.0mg投与群では観察されず、関節影響に対するNOAELは3.0mg/kg体重/日であると考えられた。

【若齢犬における精巣毒性について】

若齢犬における精巣に対する影響ついては、3ヶ月齢のビーグル犬を用いた13週間の混餌投与試験が実施されている。精細管中の精原細胞の空胞化が対照群を含めて観察された。空胞化自体は対照群を含めて観察されていたが、用量相関性はないものの最高用量(2500ppm)における発生頻度が高く認められたため、この変化がエンロフロキサシンの投与に関連するものであるかを検討する目的で最高用量を 3200ppm に設定した追加試験が実施されている。追試験においても、対照群を含めた全ての群で同様の精原細胞の空胞化が認められ、これらの試験条件下においては被験物質投与の有無にかかわらず空胞変性の発生が認められるものと考えられた。一方、発生頻度は最高用量を含め投与群間で差は認められず、高用量における空胞変性の発生頻度の増加は再現できなかった。これらのことから、これら若齢犬において認められた精原細胞の空胞変性は発達過程における生理的な変化の範囲内であり、エンロフロキサシンの投与に伴う影響ではないと判断された。なお、成熟犬においては 2000ppm までの投与でもこれらの変化は認められていない。

【繁殖毒性及び催奇形性について】

繁殖毒性及び催奇形性については、ラットの2世代繁殖試験、ラット、ウサギの催奇形性試験が実施されている。ラットの繁殖試験において高用量で精子の変性が認められたが、NOAEL が明確になっており(10mg/kg 体重/日)、また回復性の変化であった。

ラット、ウサギとも催奇形性は認められなかった。

【遺伝毒性／発がん性について】

遺伝毒性試験については、*in vitro* の UDS 試験、Ames 試験では代謝活性化の有無にかかわらず陰性を示した。ほ乳類培養細胞を用いた前進突然変異試験では遺伝子変異を疑わせる所見が散見されたが、その発生頻度には用量相関性が無く、再現性も認められなかった。一方、ほ乳類培養細胞を用いた染色体異常試験では非代謝活性化条件下の細胞毒性が認められる用量で陽性の結果が得られている。しかしながら、*in vivo* の骨髄に毒性影響が認められる用量まで試験されたマウスを用いた骨髄小核試験及び個体に著しい毒性が認められる用量まで試験されたラットを用いた骨髄染色体異常試験のいずれも陰性であった。これらのことから、生体にとって問題となる遺伝毒性はないと考えられる。

発がん性については、マウス及びラットの2年間の発がん性試験が実施されている。このうちマウスの試験では発がん性を示唆する報告は認められなかった。ラットの試験では、雌の 6000ppm 投与群で統計学的な有意差はないが、心内膜下神経鞘腫の増加が認められ、心内膜下間葉性細胞過形成と合算した場合、統計学的に有意であった。この所見は別途評価され、本試験では対照群の雌雄で心内膜下間葉性細胞腫と過形成の発生がなく、対照群における同病変の頻度は背景データより低い値であること、雄では用量相関性が観察されなかったこと等から、雌雄ともこれらの病変の増加は投与との関連性はないと結論されており、EMEA および JECFA においてもその結論は支持されている。また、本試験の雌雄で増加した心筋症との関連性も認められていない。さらに、心内膜下神経鞘腫はラットにのみ発生する種特異的な腫瘍であると考えられている。これらの結果より、心内膜の腫瘍性病変の発生頻度の増加が投与に関連する可能性は極めて低く、またヒトへの外挿性はないと考えられる。

【光毒性について】

1990 年代後半からフルオロキノロン剤について光毒性／光遺伝毒性があることが報告されてきており、そのメカニズムについて光照射によって活性化された分子の DNA との直接作用、光照射によって生じた活性酸素やフリーラジカルの生成による二次的傷害が提案されている。フルオロキノロン剤の光毒性や光遺伝毒性についてはいくつかの報告があり、構造的に6位及び8位にハロゲン置換基を有するフルオロキノロン剤が明らかに強い光毒性を示すこと[58]、1 位の置換基の種類によっては光毒性が減弱することが報告されている[59], [61]。エンロフロキサシンについて直接のデータは得られていないが、代謝物であるシプロフロキサシンについてはいくつかの報告が得られている。エンロフロキサシンとシプロフロキサシンの構造的な違いはエチル基の有無のみであり、光毒性／光遺伝毒性についてはほぼ同様と推定される。

シプロフロキサシンについて、*in vitro* では CHLV79 培養細胞を用いた UV 照射による細胞毒性の増強、コメットアッセイ[61]や光小核試験[62]でいずれも UV 照射による毒性の増強が認められたが、他のフルオロキノロン剤との比較では相対的に弱いものであった。また、UV 照射後のマウスの耳介炎症を指標とした試験[58], [59]において光毒性が弱いことが知られるオフロキサシンとほぼ同レベルであったこと、ヒトボランティアの UV 照射後皮膚紅斑を指標とした試験においては、1 回 500mg、7 日間の投与でも影響

は弱かったこと[63]が報告されている。

これらのことから、少なくともエンロフロキサシンについてはフルオロキノロン剤の中では光毒性／光遺伝毒性は弱い部類に分類される。また、適切に管理される限り、通常食品中のエンロフロキサシンの残留はごく微量であり、食品を介して生体にとって問題となる光遺伝毒性が生じる可能性は無視できる程度と考えられる。

【毒性学的影響のエンドポイントについて】

毒性学的影響について最も低い用量で被験物質投与の影響が認められたと考えられる指標は、ラットの2年間慢性毒性試験で認められた胆管過形成であり、NOAELは2.9mg/kg体重/日であった。

【微生物学的影響のエンドポイントについて】

微生物学的影響の評価については、ヒトの腸内細菌叢への影響を十分に反映できる単独の試験法が確立されていない現状を考慮すると、得られている知見のうち最も適切と考えられるものを用いて微生物学的ADIを設定する手法が妥当であると考えられる。エンロフロキサシンは生体内で代謝されるが、シプロフロキサシンを除き、代謝物の抗菌活性はほとんどない。シプロフロキサシンの抗菌活性はエンロフロキサシンとほとんど同等であり、主要な畜産動物における残留物は未変化体のエンロフロキサシンが主であった。エンロフロキサシンについてヒトにおける直接の知見は得られておらず、シプロフロキサシンについてはいくつかのヒトにおける知見があるが、明確な無影響量は特定できていない。このため、現時点ではエンロフロキサシンの*in vitro*のMIC_{50}を用いて検討するのが適当と考えられた。

エンロフロキサシンのMIC_{50}については、ヒト腸内細菌叢から優勢に検出される*Bacteroides*、*Bifidobacterium*、*Clostridium*、*Eubacterium*、*Fusobacterium*、*Peptostreptococcus*、*Enterococci*、*E. coli*、*Lactobacillus*、*Proteus*の10種について10菌株の合計100菌株についてMIC_{50}の情報が得られている。

単純に最も感受性が高かった細菌種は*E. coli*であり、そのMIC_{50}値は0.031 μg/mLであったが、*E. coli*についてはヒト腸内細菌の総細菌数に占める割合はごくわずか(1%程度)で、腸内細菌叢の変動に対する寄与率は軽微であること、一般的に高度に感受性か非感受性であることが多いことから、単独で微生物学的ADIの評価に用いるMIC_{50}として採用するべきではないとされている[64], [65]。指標として適当と考えられる細菌種の中で、最も感受性が高かったのは*Fusobacterium* spp.、*Proteus* spp.における0.125μg/mLであり、現時点においてはこれらにおけるMIC_{50}の0.125μg/mLを採用することが適当であると判断された。

なお、ニューキノロンはナリジクス酸等のオールドキノロンと比較して耐性を付与しにくいとされているが、耐性菌が選択される可能性は否定できない。この問題についての定性あるいは定量的評価には、別途のリスク評価が必要であると考えられる。

【微生物学的ADIの設定について】

微生物学的影響について現時点で利用可能なものは*in vitro*のMIC_{50}のみであった。結腸内容物に220g、細菌が暴露される分画に20%、ヒト体重に60kgを適用すると、

$$\text{ADI (mg/kg 体重/日)} = \frac{0.000125\ (\text{mg/mL}) \times 220\ (\text{g})}{0.2^{f} \times 60\ (\text{kg})} = 0.002\ \text{mg/kg 体重/日}$$

[f] シプロフロキサシンのヒトにおける知見に基づく

となる。

【一日摂取許容量(ADI)の設定について】

エンロフロキサシンについては、遺伝毒性および発がん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。

毒性学的影響について最も低い用量で被験物質投与の影響が認められたと考えられる指標は、ラットの2年間慢性毒性試験におけるNOAEL 2.9 mg/kg 体重/日であった。この知見からADIを設定するにあたっては、種差 10、個体差 10 の安全係数 100 を考慮し、毒性学的データからは ADI は 0.029 mg/kg 体重/日と設定される。一方、微生物学的影響から導かれた ADI は 0.002mg/kg 体重/日であった。

毒性学的データから導かれる ADI と微生物学的データから導かれる ADI を比較すると、微生物学的データから導かれた値がより小さくなり、感受性が高いと考えられる。このためエンロフロキサシンの残留基準を設定するに際しての ADI としては、0.002 mg/kg 体重/日と設定することが適当であると考えられる。

【食品健康影響評価について】

以上より、エンロフロキサシン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。なお、本剤の再審査に係る評価については、薬剤耐性菌を介した影響について考慮する必要があり、これについては検討中である。

エンロフロキサシン　0.002 mg/kg 体重/日

本評価書中で使用した略号については次にならった

ADI	一日許容摂取量
ALT	アラニンアミノトランスフェラーゼ
AP	アルカリフォスファターゼ
AST	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
AUC	血中薬物濃度ー時間曲線下面積
BUN	血液尿素窒素
cAMP	サイクリック AMP
CHL	チャイニーズハムスター肺由来細胞株
CHO	チャイニーズハムスター卵巣由来細胞株
C_{max}	最高血(漿)中濃度
CPK	クレアチンフォスフォキナーゼ
GOT	グルタミン酸オキサロ酢酸トランスアミナーゼ
GPT	グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ
Hb	ヘモグロビン(血色素)
Ht	ヘマトクリット
LOAEL	最小毒性量
LOEL	最小作用量
MCH	平均赤血球血色素量
MCHC	平均赤血球血色素濃度
MCV	平均赤血球容積
MIB	最小殺菌濃度
MIC	最小発育阻止濃度
MLA	マウスリンフォーマ試験
NOAEL	無毒性量
NOEL	無作用量
$T_{1/2}$	消失半減期
TBIL	総ビリルビン
Tcho	総コレステロール
TDI	耐容一日摂取量
TG	トリグリセリド
T_{max}	最高血(漿)中濃度到達時間

4. <参考文献>

1. エンロフロキサシンの構造決定、物理的・化学的性質に関する試験資料(バイエルメディカル社内資料)
2. William 2001;抗微生物薬 グッドマン・ギルマン 薬理書(下) 薬物治療の基礎と臨床 第10版;廣川書店
3. Disposition and metabolism of Bay Vp 2674 in male rats(バイエルメディカル社内資料)
4. Biotransformation of BAY Vp 2674-2-^{14}C in Sprague-Dawley Rats(バイエルメディカル社内資料)
5. Characterization of a rat urinary polar metabolite of BAY Vp 2674(バイエルメディカル社内資料)
6. M. Scheer (1987); Concentrations of active ingredient in the serum and tissues after oral and parenteral administration of Baytril
   Vet Med Rev : 1987 (2), 104-118
7. Metabolism of BAY Vp 2674-2-^{14}C in the cow(バイエルメディカル社内資料)
8. Metabolism of BAY Vp 2674-2-^{14}C in swine(バイエルメディカル社内資料)
9. Pharmacokinetics of BAY Vp 2674 in chickens(バイエルメディカル社内資料)
10. Metabolism of BAY Vp 2674-2-^{14}C in chickens and turkeys(バイエルメディカル社内資料)
11. Metabolic profile of (2-^{14}C) BAY Vp 2674-2-^{14}C in chickens(バイエルメディカル社内資料)
12. BAY Vp 2674 Akute toxizität bei ratte, maus, kaninchen und hund(バイエルメディカル社内資料)
13. BAY Vp2674 のラット及びマウスにおける急性毒性試験(バイエルメディカル社内資料)
14. BAY Vp 2674 のマウスを用いた皮下投与による急性毒性試験(バイエルメディカル社内資料)
15. BAY Vp 2674 のラットを用いた皮下投与による急性毒性試験(バイエルメディカル社内資料)
16. BAY Vp 2674 のラットにおける4週間皮下投与による亜急性毒性試験(バイエルメディカル社内資料)
17. Safety evaluation of BAY Vp 2674: Subchronic (13week) feeding study in the rat(バイエルメディカル社内資料)
18. A subchronic (13week) feeding study followed by a 13-week withdrawal period in male rats with BAY Vp 2674 (バイエルメディカル社内資料)
19. Safety evaluation of BAY Vp 2674: Subchronic (13week) feeding study in the dog (バイエルメディカル社内資料)
20. Safety evaluation of BAY Vp 2674: repeat of a subchronic (13week) feeding study in the dog (バイエルメディカル社内資料)
21. Safety evaluation of BAY Vp 2674: subchronic (13week) feeding study in male dogs(バイエルメディカル社内資料)
22. Safety evaluation of BAY Vp 2674: subchronic (13week) feeding study in male dogs followed by a 13-week withdrawal period(バイエルメディカル社内資料)
23. BAY Vp 2674 study of chronic toxicity and carcinogenicity (administration in feed over 24 months) (バイエルメディカル社内資料)
24. BAY Vp 2674 study of chronic toxicity and carcinogenicity in rats after administration in feed over 2 years (バイエルメディカル社内資料)
25. Pathology working group on a 2-year chronic feeding study with 1-year interm kill in rats on the compound BAY Vp 2674(バイエルメディカル社内資料)
26. WHO: Food Additives Series 34, 1994. Enrofloxacin
27. FDA: Freedom of Information Summary, NADA 140-828, 1996.
28. EMEA: COMMITTEE FOR VETERINARY MEDICINAL PRODUCTS, ENROFLOXACIN, SUMMARY REPORT(1)～(5), 1998～2002
29. A two-generation reproduction study in rats with BAY Vp 2674(バイエルメディカル社内資料)

30. A two-generation reproduction study in rats with BAY Vp 2674(第二報)(バイエルメディカル社内資料)
31. A specialized male fertility study with BAY Vp 2674 in the rat(バイエルメディカル社内資料)
32. A Teratology (Segment Ⅱ) study in the rat with BAY Vp 2674(バイエルメディカル社内資料)
33. Embryotoxicity (including teratogenicity) study with BAY Vp 2674 in the rabbit(バイエルメディカル社内資料)
34. Evaluation of BAY Vp 2674 in the rat primary hepatocyte unscheduled DNA synthesis assay (バイエルメディカル社内資料)
35. 細菌による変異原性試験報告(バイエルメディカル社内資料)
36. BAY Vp 2674 Salmonella/Mikrosomen-Test zur untersuchung auf punktmutagene Wirkung (バイエルメディカル社内資料)
37. Clastogenic evaluation of BAY Vp 2674: in an in vitro cytogenetic assay measuring chromosome aberration frequencies in chinese hamster ovary (CHO) cells(バイエルメディカル社内資料)
38. Mutagenicity evaluation of BAY Vp 2674 in the CHO HGPRT forward mutation assay: Final report (バイエルメディカル社内資料)
39. BAY Vp 2674 micronucleus-test on the mouse to evaluate for mutagenic effect(バイエルメディカル社内資料)
40. BAY Vp 2674: Investigation of effects on bone marrow chromosomes of the rat after acute oral administration (Amended Report)(バイエルメディカル社内資料)
41. BAY Vp2674 の一般薬理試験(バイエルメディカル社内資料)
42. ZNS-sicherheitspharmakologische Studie mit BAY Vp 2674(バイエルメディカル社内資料)
43. BAY Vp 2674 general/safety respiratory pharmacology: evaluation of bronchoactivity in the guinea-pig isolated trachea (バイエルメディカル社内資料)
44. Safety pharmacology of BAY Vp 2674 in the gastrointestinal tract: its effect on intestinal charcoal transit, on gastric tolerability and basal gastric acid secretion in rats(バイエルメディカル社内資料)
45. Influence on hemodynamics and cardiac contractility of anaesthetized dogs after intravenous administration. (バイエルメディカル社内資料)
46. BAY Vp 2674 Blutpharmakologische untersuchungen(バイエルメディカル社内資料)
47. BAY Vp 2674 Prüfung auf diuretische wirkung an ratten(バイエルメディカル社内資料)
48. Beeinflussung der blutglucose-bzw. Serumtriglyceridkonzentration gefütterter bzw. nüchterner ratten und glucosetoleranz nüchterner ratten nach oraler applikation von BAY Vp 2674(バイエルメディカル社内資料)
49. Dermal sensitization evaluation of BAY Vp 2674 in the guinea pig(バイエルメディカル社内資料)
50. Determination of the minimum inhibitory concentration (MIC) of enrofloxacin against 100 bacterial strains of human gut origin at three inoculum levels(バイエルメディカル社内資料)
51. Expert report on microbiological safety of enrofloxacin. Evaluation of the effects of enrofloxacin on human gut flora and microbial starter cultures.(バイエルメディカル社内資料)
52. W Brumfitt, et al. (1984); Changes in the pharmacokinetics of ciprofloxacin and fecal flora during administration of a 7-day course to human volunteers
Antimicrob Agents Chemother.: 1984 (26), No.5, 757-761
53. R Enzensberger, et al. (1985); Impact of oral ciprofloxacin on the faecal flora of healthy volunteers
Infection: 1985 (13), Nr.6, 33-35
54. T Bergan, et al. (1986); Pharmacokinetics of ciprofloxacin and effect of repeated dosage on salivary and fecal microflora
Antimicrob Agents Chemother.: 1986 (29), No.2, 298-302

55. JJM VAN SAENE, et al. (1986); Quinolones and colonization resistance in human volunteers
Pharmaceutisch Weekblad Sci Ed: 1986 (8), 67-71
56. S Esposito, et al. (1987); Intestinal microflora changes induced by ciprofloxacin and treatment of portal-systemic encephalopathy (PSE)
Durg Exptl Clin Res : 1987 XIII(10), 641-646
57. S Pecquet, et al. (1990); Faecal excretion of ciprofloxacin after a single oral dose and its effect on faecal bacteria in healthy volunteers
J of Antimicrob Chemother.: 1990 (26), 125-129
58. K Marutani, et al. (1993); Reduced phototoxicity of a fluoroquinolone antibacterial agent with a methoxy group at the 8 position in mice irradiated with long-wavelength UV light
Antimicrob Agents Chemother.: 1993 (37), No.10, 2217-2223
59. N Hayashi, et al (2004); New finding on the structure-phototoxicity relationship and photostability of fluoroquinolones with various substituents position 1
Antimicrob Agents Chemother.: 2004 (48), No.3, 799-803
60. N Hayashi (2005); New findings on the structure-phototoxicity relationship and photostability of fluoroquinolones
Yakugaku Zasshi: 2005 (125), No.3, 255-261.
61. T Zhang et al., (2004); Compare two methods of measurering DNA damage induced by photogenotoxicity of fluoroquinolones
Acta Phaemacol Sin: 2004, 25(2), 171-175
62. DS Ronald and SC Curt (1999); Photogenotoxicity of fluoroquinolones in Chinese hamster V79 Cells: Dependency on active topoisomerase II
Photochem and photobiol: 1999, 69(3), 288-293
63. J Ferguson and R Dawe (1997); Phototoxicity in quinolones: comparison of ciprofloxacin and grepafloxacin
J of Antimicrob Chemother.: 1997 (40), Suppl. A, 93-98
64. WHO: Technical Report Series 893, 2000.
65. EMEA (2002); REVISED GUIDELINE ON SAFETY EVALUATION OF ANTIMICROBIAL SUBSTANCES REGARDING THE EFFECTS ON HUMAN GUT FLORA

厚生労働省発食安０７２１第５号
平成２３年７月２１日

薬事・食品衛生審議会
会長　望月　正隆　殿

厚生労働大臣　細川　律夫

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

セフキノム

平成２４年１２月２０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２３年７月２１日付け厚生労働省発食安０７２１第５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項の規定に基づくセフキノムに係る食品規格（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。

セフキノム

今般の残留基準の検討については、薬事法に基づく承認事項の変更について農林水産大臣から意見聴取があったことに伴い、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：セフキノム ［ Cefquinome ］

（2）用途：抗菌剤

セフキノムはセフェム系抗生物質であり、作用機序は細菌の細胞壁の合成を阻害することで、細菌の増殖を抑え殺菌作用を示す。

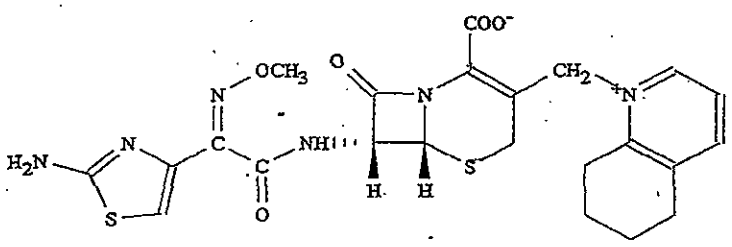
海外では、牛の *Pasteurella multocida*、*Pasteurella (Mannheimia) haemolytica* による肺炎の治療薬として開発され、その後、牛の趾間腐爛及び大腸菌性急性乳房炎あるいは子牛の大腸菌性敗血症の治療へと効能が拡大されている。また、豚へも効能拡大されており、*P. multocida*、*Haemophilus parasuis*、*Actinobacillus pleuropneumoniae*、*Streptococcus suis* 及びその他セフキノム感受性菌による豚呼吸器感染症及び MMA（乳房炎－子宮炎－無乳症症候群）にも使用されている。

現在、日本を含め世界約 60 カ国で動物用医薬品として承認されており、我が国では平成 12 年 11 月に牛の肺炎を適応症として、輸入承認を受けている。

（3）化学名：

1-[[(6*R*, 7*R*)-7-[[(2*Z*)-(2-Amino-4-thiazolyl)(methoxyimino)acetyl]amino]-2-carboxy-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-3-yl]methyl]-5, 6, 7, 8-tetrahydroquinolinium inner salt (CAS)

（4）構造式及び物性



分　子　式：$C_{23}H_{24}N_6O_5S_2$

分　子　量：528.60

（5）適用方法及び用量

セフキノムの使用対象動物及び使用方法等を以下に示す。

対象動物及び使用方法、使用国、休薬期間となっているものについては、今回薬事法(昭和35年法律第145号)に基づく承認事項の変更について意見聴取がなされたものを示している。

対象動物及び使用方法		使用国	休薬期間
牛	1mg(力価)/kg 体重/day を3~5日間筋肉内投与	日本	7日間
		EU地域の各国、ニュージーランド	5日間
泌乳牛	1mg(力価)/kg 体重/day を3~5日間筋肉内投与	日本	36時間
	1mg(力価)/kg 体重/day を2日間筋肉内投与	EU地域の各国	24時間
		ニュージーランド	12時間
	75mg(力価)/分房を3回(搾乳)連続乳房内投与	EU地域の各国、ニュージーランド	96時間
豚	2mg(力価)/kg 体重/day を3~5日間筋肉内投与	EU地域の各国	3日間
	1-2mg(力価)/kg 体重/day を3日間筋肉投与	ニュージーランド	2日間
	1-2mg(力価)/kg 体重/day を3日間筋肉投与	日本	4日間
馬	1mg(力価)/kg 体重/day を1日2回6~14日間筋肉投与	EU地域の各国	4日間

2．対象動物における薬物動態試験

(1) 牛における投与試験

牛(2頭)を用いた^{14}C硫酸セフキノム(約1mg 当量/kg 体重/day)の5日間連続筋肉内投与試験が実施され、全血中及び血漿中濃度、排泄、組織中残留濃度が調べられた。投与後の薬物動態パラメーターを表1に示す。

全血中の濃度は、投与後速やかに上昇し、約1時間後に最高に達した。また、投与回数の増加に伴い投与後のC_{max}は高くなった(初回投与後：平均1.37μg当量/g、5回目投与後：平均1.83μg当量/g)。血漿中濃度は平均で全血中濃度より約40%高く、全血中と同様の推移を示した。

硫酸セフキノムは、主に尿中に排泄され、5回目投与後24時間後には平均で総投与量の約95%が尿中に排泄された。当該尿を分析した結果、尿中の主要な排泄物は未変化の硫酸セフキノムであった(89~95%)。なお、糞便中の排泄はそれぞれの牛で総投与量の4.03%、5.02%であった。

表1 牛における^{14}C硫酸セフキノムの5日間筋肉内投与後の全血中薬物動態パラメーター

パラメーター	個体番号C1		個体番号C2	
	初回投薬後	5回目投薬後	初回投薬後	5回目投薬後
C_{max}(μg当量/g)	1.32	1.72	1.43	1.95
$T_{1/2}$(hr)phase Ⅰ	1.24	0.97	1.39	1.19
$T_{1/2}$(hr)phase Ⅱ	—*	—*	—*	49.2

—*：投与から採取までの時間が短かったため分析を実施していない。

最終投与の24時間後(C1)及び48時間後(C2)の硫酸セフキノムの残留濃度は表2のとおりであった。検体中で投与部位筋肉が最も高い値を示し(C1：5.01μg 当量/g、C2：1.96μg 当量/g)、腎臓、肝臓がこれに次ぐ濃度で検出された。

表 2　牛における ^{14}C 硫酸セフキノムの 5 日間筋肉内投与 24 又は 48 時間後の各組織中の残留濃度

（μg当量/g）

組織	個体番号C1 (最終投与 24 時間後)	個体番号C2 (最終投与 48 時間後)
腎臓	1.290	1.097
肝臓	0.5226	0.4782
心臓	<0.0322	0.0414
肺	0.1004	0.0816
骨格筋	<0.0352	<0.0352
皮下脂肪	<0.0579	<0.0579
後腹膜脂肪	<0.0515	<0.0515
注射部位筋肉	5.009	1.957
注射部位皮膚	0.7293	0.6382

（2）豚における投与試験

① 豚（2頭）を用いた^{14}C硫酸セフキノム(1.17、1.10mg 当量/kg/day)の5日間連続筋肉内投与試験が実施され、排泄及び組織中残留濃度について調べられた。

排泄は主として尿を介して行われ、個体番号P1は1回目投与後0～120時間（最終投与後24時間まで）で総投与量の72.42%を排泄した。一方、個体番号P2は同時間で82.23%を排泄し、その後24時間（最終投与後48時間まで）で83.16%を排泄した。また、代謝畜舎から乾燥尿を採るための洗浄液を含めると、2頭の尿排泄率は82.62%及び86.25%と近似していた。

なお、試験期間中の糞便からの排泄は総投与量の6.52%(P1)及び8.70%(P2)とわずかの量しか排泄されなかった。

表3　豚における^{14}C硫酸セフキノムを5日間筋肉内投与後の尿及び糞便中排泄量

採取試料	個体番号	総投与量 (mg 当量)	採取時間* (時間)	排泄量 (mg 当量)	割合 (%)
尿	P1	134.7	0～120	97.53	72.42
	P2	126.2	0～144	104.9	83.16
糞便	P1	134.7	0～120	8.775	6.52
	P2	126.2	0～144	10.97	8.70

＊：採取時間は1回目投与後の時間を示す。

組織中濃度では、最高濃度が投与部位の筋肉で認められ、最終投与24時間後で7.81μg当量/g、最終投与48時間後で7.52μg当量/gであった。投与部位の皮下脂肪組織を含む皮膚は0.22及び0.81μg当量/gで筋肉より低濃度であった。以下、腎臓(2.25及び2.16μg当量/g)、肝臓(0.69及び0.57μg当量/g)、血漿(0.23及び0.19μg当量/g)、血液(0.13及び0.14μg当量/g)、肺(0.12及び0.10μg当量/g)の順で、その他の器官・組織は0.10μg当量/g未満であった。

表4　豚における^{14}C硫酸セフキノムを5日間筋肉内投与後の組織中の残留濃度（μg当量/g）

個体番号		P1	P2
最終投与後時間（時間）		24	48
腎臓		2.2450	2.1570
肝臓		0.6876	0.5695
心臓		0.0672	0.0612
肺		0.1172	0.0998
骨格筋		0.0239	0.0202
皮下脂肪		0.0457	0.0397
腹膜後脂肪		<0.035	<0.035
血液		0.1305	0.1367
血漿		0.2288	0.1912
注射部位	筋肉	7.8100	7.5230
	皮膚・皮下脂肪	0.2205	0.8149

② ①の試験で得られた豚の尿を用いて尿中における硫酸セフキノムの代謝が調べられた。

最終投与（5回目）後の0～2時間及び2～8時間の尿中における総セフキノム量に対するセフキノムの割合を分析した結果、最終投与後0～2時間の割合はP1、P2それぞれで45%及び63%であったが、最終投与後2～8時間後の割合は84%及び80%であった。

表5　豚における尿中代謝

個体番号	採取時期（最終投与後時間）	セフキノムの割合（%）
P1	96～98時間（0～2）	45
	98～104時間（2～8）*	84
P2	96～98時間（0～2）	63
	96～104時間（2～8）*	80

*98～102時間は排尿なし（検体なし）

豚におけるセフキノムの尿排泄は遅く、投与後8～48時間経過しないと投与量の大部分が排泄されないことから、5回目の投与後0～2時間の検体は4回目の投与量の残余が主な排泄物であり、長時間アルカリ性環境である尿路に滞留していたため部分的に分解したものと判断された。一方、5回目の投与後2～8時間に排泄された尿は主として親化合物を含んでいたことから、豚におけるセフキノムの代謝速度は遅く、また、未変化体の排泄が多いが、尿路のアルカリ性環境に長く滞留するために分解が起こるものと考えられた。

3．対象動物における残留試験

（1）分析の概要

① 分析対象の化合物

・セフキノム

② 分析法の概要

微生物学的定量法等により各対象動物組織における残留性が検討されている。

（2）牛における残留試験

① ホルスタイン種牛（50頭）を用いた硫酸セフキノム（常用量：1mg（力価）/kg 体重/day、2倍量：2mg（力価）/kg 体重/day）の5日間連続筋肉内（臀部及び頸部）投与試験が実施された。

最終投与後4、5、6、7日後（各群6頭　対照群2頭）の筋肉、脂肪、肝臓、腎臓及び小腸の残留濃度について微生物学的定量法により測定した結果、常用量、2倍量ともに最終投与の4日後において検出限界（0.02μg（力価）/g）未満であった。

表6　牛に硫酸セフキノムを常用量及び2倍量投与後の食用組織中のセフキノム濃度

試験群	採材時期	各組織における残留濃度（μg（力価）/g）				
		筋肉	脂肪	肝臓	腎臓	小腸
1mg（力価）/kg 体重/day 投与群（常用量）	4日	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02
	5日	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02
	6日	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02
	7日	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02
2mg（力価）/kg 体重/day 投与群（2倍量）	4日	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02
	5日	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02
	6日	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02
	7日	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02

② ホルスタイン種泌乳牛（12頭）を用いた硫酸セフキノム（常用量：1mg（力価）/kg 体重/day、2倍量：2mg（力価）/kg 体重/day）の5日間連続筋肉内（臀部筋肉）投与試験が実施された。

投与12時間前、最終投与後12、24、36及び48時間後に搾乳した乳汁での残留濃度について微生物学的定量法により測定した結果、常用量、2倍量ともに最終投与の24時間後において検出限界（0.02μg（力価）/g）未満であった。

表7　牛に硫酸セフキノムを常用量及び2倍量投与後の乳汁中のセフキノム濃度（μg（力価）/g）

試験群	投与開始前	最終投与後（時間）			
	12時間	12	24	36	48
1mg（力価）/kg 体重/day 投与群（常用量）	<0.02（6）	<0.02（4）、0.02（2）	<0.02（6）	—（3）<0.02（3）	—*
2mg（力価）/kg 体重/day 投与群（2倍量）	<0.02（6）	<0.02（1）、0.02（3）、0.03、0.04	<0.02（6）	<0.02（6）	—

＊ 分析せず

※ 括弧内は検体数を示す

（3）豚における残留試験

① 豚を用いたセフキノム（2mg（力価）/kg 体重/day）の5日間連続筋肉内投与試験が実施された。最初の4回は同じ部位に投与し、最終投与は別の部位に投与された。最終投与24、48、72、96、120及び144時間後に4頭/群の動物が屠殺され残留濃度がHPLC法により測定された。

24時間後のすべての腎臓サンプルで定量限界を上回り、最小及び最大濃度は88及び293μg/kgであった。48、72及び120時間後の腎臓からセフキノムは測定されなかったが、96時間後の4例中1例のみが定量下限を上回った（40μg/kg）。肝臓、脂肪、皮膚及び筋肉については、最終投与72時間後まで調べられた。72時間後の脂肪1例に27μg/kgの残留が認められた以外は、未変化体セフキノムは検出されなかった。

承認事項の変更に当たり実施された試験

② 豚（38頭）を用いたセフキノム（2mg（力価）/kg 体重/day）の3日間連続筋肉内（大腿部）投与試験が実施された。

最終投与6、12時間及び1、2、3、4日後に筋肉、脂肪、肝臓、腎臓及び小腸の残留濃度について微生物学的定量法により測定した結果、最終投与2日後には全例で定量限界（0.016μg（力価）/g）未満であった。

表9 豚にセフキノムを3日間連続投与した際の食用組織中のセフキノム濃度

対象動物	投与量	投与後時間	試験対象	残留濃度（ppm）		定量限界
				施設Ⅰ	施設Ⅱ	
豚	2mg/kg 体重/day を3日間連続投与	6時間	筋肉	<0.016	<0.016	<0.016
			脂肪	<0.016～0.028	<0.016	
			肝臓	0.18～0.38	0.20～0.36	
			腎臓	1.8～2.1	1.6～2.1	
			小腸	<0.016～0.028	<0.016～0.018	
		12時間	筋肉	<0.016	<0.016	
			脂肪	<0.016	<0.016	
			肝臓	0.021～0.032	<0.016～0.034	
			腎臓	0.23～0.87	0.40～0.51	
			小腸	<0.016	<0.016	
		24時間	脂肪	<0.016	<0.016	
			肝臓	<0.016	<0.016	
			腎臓	0.023～0.066	<0.016～0.089	
			小腸	<0.016	<0.016	
		48時間	肝臓	<0.016	<0.016	
			腎臓	<0.016	<0.016	
		72時間	腎臓	<0.016	<0.016	
		96時間	腎臓	<0.016	<0.016	

（4）馬における残留試験

馬（去勢馬6頭、雌馬6頭）を用いたセフキノム（1mg（力価）/kg 体重を1日2回）の14日間連続投与試験が実施された。1～6回を静脈に投与した後、7～28回を筋肉に投与した。

最終投与後24、72及び120時間後（各群4頭）の筋肉、脂肪、肝臓及び腎臓の残留濃度についてHPLC-MS/MS法により測定した結果を表10に示す。

表10 馬にセフキノムを14日間連続投与した際の食用組織中のセフキノム濃度

投与後時間	各組織における残留濃度（ppb）			
	筋肉	脂肪	肝臓	腎臓
24時間	<LOQ(4)	<LOQ(4)	<LOQ(3)、86.0	181、260、315、400
72時間	<LOQ(4)	<LOQ(4)	<LOQ(4)	<LOQ(4)
120時間	<LOQ(4)	<LOQ(4)	<LOQ(4)	<LOQ(4)

定量限界値 (ppb)

	筋肉	脂肪	肝臓	腎臓
LOQ	24.7	24.7	50.9	102.0

4．ADIの評価

食品安全基本法（平成15年法律第48号）第24条の規定に基づき、食品安全委員会あて意見を求めたセフキノムに係る食品健康影響評価について、以下のとおり評価されている。

①毒性学的ADIについて

無毒性量：25 mg/kg 体重/day
(動物種) ラット
(投与方法) 経口投与
(試験の種類) 亜急性毒性試験
(期間) 90日間
安全係数：1,000
ADI ： 0.025 mg/kg体重/day

セフキノムは慢性毒性及び発がん性試験が実施されていないが、生体にとって問題となる遺伝毒性を示さないと考えられること、EMEAの評価でセフキノムの化学構造が既知の発がん性物質と関連がないとしていることから追加の安全係数を加えることによってADIを設定することが可能であると判断された。

②微生物学的ADIについて

EMEAの評価では、セフキノムの持つ毒性は低いため、セフキノムのヒト腸内細菌叢への影響に基づきADIを設定することが適切であるとされている。ヒト腸内細菌叢への影響については*Bacteroides* sp.、*Bifidobacterium* sp.、*Peptococcus* sp.、*Clostridium* sp.、*Eubacterium*から算出された幾何平均MIC 0.0015mg/gに1日糞便量150g、腸内細菌のセフキノム利用率10%、安全係数10を適用してADI 0.0038mg/kg 体重(0.225mg/ヒト(体重60kg))と評価されている。

一方、VICHガイドラインに基づく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)から得られており、この結果から微生物学的ADIを算出することができる。

セフキノムのMICcalcに0.376 μg/mL、細菌が暴露される分画は、実験動物における経口からの吸収が数%でほとんど吸収されないことを根拠に100%、結腸内容物220g、ヒト体重60kgを適用し、VICHの算出式により、

$$\text{ADI (mg/kg 体重/day)} = \frac{0.000376\,(\text{mg/mL})^{*1} \times 220^{*2}}{1^{*3} \times 60^{*4}} = 0.001379$$

と算出された。

*1：試験薬に活性のある最も関連のある属の平均MIC_{50}の90%信頼限界の下限値

*2：結腸内容物(g)

*3：経口用量として生物学的に利用可能な比率(実験動物の経口における吸収率が数%との知見をもとに推定した)

*4：ヒト体重(kg)

③ADIの設定について

微生物学的ADI(0.0014mg/kg体重/day)は、毒性学的ADI(0.025mg/kg 体重/day)よりも十分低く、セフキノムが動物用医薬品として用いられたときのセフキノムの食品中における安全性を担保していると考えられることから、ADIとして次の値を設定した。

セフキノム　0.0014mg/kg 体重/day

5．諸外国における状況

FAO/WHO合同食品添加物専門家会議（JECFA）においては評価されておらず、国際基準も設定されていない。

米国、カナダ、欧州連合（EU）、オーストラリア及びニュージーランドについて調査した結果、EU及びニュージーランドにおいて基準値が設定されている。

6．基準値の取扱い

（1）残留の規制対象

セフキノムとする。

（2）基準値の取扱い

本剤については、食品一般の成分規格6において食品に残留する量の限度（現行基準）が定められている。現行基準は別紙1参照。

今般の承認事項変更に当たり実施された試験の結果によると、農林水産省において設定される予定の使用禁止期間内に残留量が現行基準の範囲内まで減少することから、基準を変更する必要はない。

（3）暴露評価

各食品について基準値案の上限までセフキノムが残留していると仮定した場合、国民栄養調査結果に基づき試算される、1日当たり摂取する本剤の量（理論最大1日摂取量（TMDI））のADIに対する比は、以下のとおりである。詳細な暴露評価は別紙2参照。

	TMDI/ADI（%）注
国民平均	7.0
幼小児（1～6歳）	24.2
妊婦	8.0
高齢者（65歳以上）	6.9

注）TMDI試算は、基準値案×各食品の平均摂取量の総和として計算している。

(別紙1)

セフキノム

食品名	基準値 現行	EU	NZ	残留試験成績	
	ppm	ppm	ppm	結果(ppm)	試験日
牛の筋肉	0.02	0.05	0.05	<0.02	5日
豚の筋肉	0.05	0.05	0.05	<0.016	6時間
その他の陸棲哺乳類に属する動物の筋肉	0.05	0.05		<0.0247	5日
牛の脂肪	0.02	0.05	0.05	<0.02	5日
豚の脂肪	0.05	0.05	0.05	<0.016	12時間
その他の陸棲哺乳類に属する動物の脂肪	0.05	0.05		<0.0247	5日
牛の肝臓	0.02	0.1	0.1	<0.02	5日
豚の肝臓	0.1	0.1	0.1	<0.016	24時間
その他の陸棲哺乳類に属する動物の肝臓	0.1	0.1		<0.0509	5日
牛の腎臓	0.02	0.2	0.2	<0.02	5日
豚の腎臓	0.2	0.2	0.2	<0.016	48時間
その他の陸棲哺乳類に属する動物の腎臓	0.2	0.2		<0.1020	5日
牛の食用部分*	0.02			<0.02	5日
豚の食用部分*	0.2				
その他の陸棲哺乳類に属する動物の食用部分*	0.2				
乳	0.02	0.02	0.03	0.02	12時間

*：食用部分については、腎臓の値を参照した。

（別紙２）

セフキノムの推定摂取量（単位：μg/人/day）

食品名	基準値現行 (ppm)	国民平均 TMDI	幼小児 (1～6 歳) TMDI	妊婦 TMDI	高齢者 (65 歳以上) TMDI
牛の筋肉	0.02	0.4*1	0.2*1	0.4*1	0.4*1
牛の脂肪	0.02				
牛の肝臓	0.02	0.0	0.0	0.0	0.0
牛の腎臓	0.02	0.0	0.0	0.0	0.0
牛の食用部分	0.02	0.0	0.0	0.0	0.0
豚の筋肉	0.05	1.8*1	1.1*1	2.0*1	1.8*1
豚の脂肪	0.05				
豚の肝臓	0.1	0.0	0.0	0.0	0.0
豚の腎臓	0.2	0.0	0*3	0.0	0.0
豚の食用部分	0.2	0.1	0.1	0.1	0.1
その他の陸棲哺乳類に属する動物の筋肉	0.05	0.1*2	0.0*2	0.1*2	0.1*2
その他の陸棲哺乳類に属する動物の脂肪	0.05				
その他の陸棲哺乳類に属する動物の肝臓	0.1				
その他の陸棲哺乳類に属する動物の腎臓	0.2				
その他の陸棲哺乳類に属する動物の食用部分	0.2				
乳	0.02	2.9	3.9	3.7	2.9
計		5.3	5.4	6.3	5.2
ADI 比（%）		7.0	24.2	8.0	6.9

TMDI：理論最大１日摂取量（Theoretical Maximum Daily Intake）
高齢者及び妊婦については摂取量データの一部がないため、国民平均の摂取量を参考とした。
*1：筋肉又は脂肪の基準値×筋肉及び脂肪の摂取量。
*2：各部位のうち、基準値が最も高い腎臓の値を用いた。
*3：摂取量データがないため、推定摂取量は「0」とした。

（参考）

これまでの経緯

平成１７年１１月２９日	残留基準告示
平成１８年１２月１８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２０年１２月１８日	食品安全委員会委員長から厚生労働省大臣へ通知
平成２１年　６　月１５日	薬事・食品衛生審議会へ諮問
平成２２年　１　月２７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
平成２２年１０月２０日	残留基準告示
平成２３年　６　月３０日	農林水産大臣から厚生労働大臣あてに承認事項の変更について意見聴取
平成２３年　７　月２１日	薬事・食品衛生審議会へ諮問
平成２４年１１月２７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・食品担当主任研究員
○大野　泰雄	国立医薬品食品衛生研究所長
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准教授
佐藤　清	一般財団法人残留農薬研究所業務執行理事・化学部長
高橋　美幸	農業・食品産業技術総合研究機構動物衛生研究所上席研究員
永山　敏廣	東京都健康安全研究センター食品化学部長
廣野　育生	東京海洋大学大学院海洋科学技術研究科教授
松田　りえ子	国立医薬品食品衛生研究所食品部長
宮井　俊一	一般社団法人日本植物防疫協会技術顧問
山内　明子	日本生活協同組合連合会執行役員組織推進本部長
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	東北大学大学院薬学研究科医療薬学講座薬物動態学分野准教授
鰐渕　英機	大阪市立大学大学院医学研究科都市環境病理学教授

（○：部会長）

答申（案）

セフキノムについては、現行の食品規格（食品中の動物用医薬品の残留基準）を変更しないことが適当である。

府食第１３６１号
平成２０年１２月１８日

厚生労働大臣
　舛添　要一　　殿

食品安全委員会
委員長　見上　彪

食品健康影響評価の結果の通知について

平成１８年１２月１８日付け厚生労働省発食安第１２１８００９号をもって貴省から当委員会に意見を求められたセフキノム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

セフキノムの一日摂取許容量を 0.0014 mg/kg 体重/日とする。

動物用医薬品評価書

セフキノム

２００８年１２月
（2012年10月　一部改訂）

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
○食品安全委員会動物用医薬品専門調査会確認評価部会専門委員名簿 ……4
○要約 ……5

Ⅰ．評価対象動物用医薬品の概要 ……6
1．用途 ……6
2．一般名 ……6
3．化学名 ……6
4．分子式 ……6
5．分子量 ……6
6．構造式 ……6
7．使用目的及び使用状況等 ……6

Ⅱ．安全性に係る試験の概要 ……7
1．吸収・分布・代謝・排泄試験 ……7
（1）投与試験（ラット及びイヌ） ……7
（2）投与試験（牛） ……9
（3）投与試験（豚） ……10
（4）尿中及び血漿中代謝物（ラット、イヌ及び牛） ……11
（5）尿中及び血漿中代謝物（豚） ……12
（6）残留試験（牛） ……13
（7）残留試験（乳汁） ……13
（8）残留試験（豚） ……14
2．急性毒性試験 ……14
3．亜急性毒性試験 ……15
（1）90日間亜急性毒性試験（ラット） ……15
（2）90日間亜急性毒性試験（イヌ） ……16
4．慢性毒性試験及び発がん性試験 ……16
5．生殖発生毒性試験 ……16
（1）2世代繁殖試験（ラット） ……16
（2）催奇形性試験（ラット） ……16
（3）催奇形性試験（ウサギ） ……16
6．遺伝毒性試験 ……17

7．微生物学的影響に関する特殊試験……17
（1）ヒト腸内細菌叢に対する影響 ……17
（2）臨床分離菌に対する最小発育阻止濃度（MIC） ……17

Ⅲ. 食品健康影響評価 ……18
1．毒性学的 ADI について……18
2．微生物学的 ADI について ……18
3．ADI の設定について ……19
4．食品健康影響評価について……19

・表 14　各試験における無毒性量等の比較 ……20
・別紙 1　検査値等略称 ……21
・参照 ……22

〈審議の経緯〉

2005年 11月 29日　暫定基準告示(参照1)
2006年 12月 18日　厚生労働大臣より残留基準設定に係る食品健康影響評価について要請（厚生労働省発食安第1218009号）
2006年 12月 19日　関係書類の接受
2006年 12月 21日　第172回食品安全委員会（要請事項説明）
2008年 4月 23日　第5回動物用医薬品専門調査会確認評価部会
2008年 6月 25日　第6回動物用医薬品専門調査会確認評価部会
2008年 7月 16日　第96回動物用医薬品専門調査会
2008年 10月 30日　第260回食品安全委員会（報告）
2008年 10月 30日　より11月28日　国民からの御意見・情報の募集
2008年 12月 16日　動物用医薬品専門調査会座長より食品安全委員会委員長へ報告
2008年 12月 18日　第267回食品安全委員会（報告）
(同日付けで厚生労働大臣に通知)
2012年 10月 15日　第449回食品安全委員会（報告）（一部改訂）
(同日付けで厚生労働大臣に通知)
(記載の修正に伴う一部改訂)

〈食品安全委員会委員名簿〉

(2006年12月20日まで)

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

(2006年12月21日から)

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
廣瀬　雅雄**
本間　清一

*：2007年2月1日から
**：2007年4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名簿〉

(2007年2月11日まで)

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

(2007年9月30日まで)

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

(2008年3月31日まで)

三森　国敏　(座長)
井上　松久　(座長代理)
青木　宙　　寺本　昭二
今井　俊夫　頭金　正博
今田　由美子　戸塚　恭一
江馬　眞　　中村　政幸
小川　久美子　林　　真
下位　香代子　山崎　浩史
津田　修治　吉田　緑
寺岡　宏樹

(2008年4月1日から)

三森　国敏　(座長)
井上　松久　(座長代理)
青木　宙　　寺本　昭二
今井　俊夫　頭金　正博
今田　由美子　戸塚　恭一
江馬　眞　　中村　政幸
小川　久美子　能美　健彦
下位　香代子　山崎　浩史
津田　修治　吉田　緑
寺岡　宏樹

〈食品安全委員会動物用医薬品専門調査会確認評価部会専門委員名簿〉

(2007年9月30日まで)

三森　国敏　(座長)
林　　真　　(座長代理)
渋谷　淳
嶋田　甚五郎
鈴木　勝士
寺本　昭二
平塚　明

(2008年4月22日まで)

三森　国敏　(座長)
林　　真　　(座長代理)
井上　松久
今井　俊夫
津田　修治
寺本　昭二
頭金　正博

(2008年4月23日から)

三森　国敏　(座長)
井上　松久　(座長代理)
今井　俊夫
津田　修治
寺本　昭二
頭金　正博
能美　健彦

要約

「セフキノム」（CAS No. 84957-30-2）について、各種評価書等（EMEA レポート等）を用いて食品健康影響評価を実施した。

セフキノムは、セフェム系抗生物質で、牛の肺炎及び乳房炎、豚の呼吸器感染症等の治療薬として使用されている。

評価に供した試験成績は、吸収・分布・代謝・排泄試験（ラット、イヌ、豚及び牛）、急性毒性試験（マウス及びラット）、亜急性毒性試験（ラット及びイヌ）、生殖発生毒性試験（ラット及びウサギ）、遺伝毒性試験、微生物学的影響に関する特殊試験等である。

慢性毒性及び発がん性試験は実施されていないが、セフキノムは生体にとって問題となる遺伝毒性を示さないと考えられることから、追加の安全係数を加えることによって ADI を設定することが可能であると判断された。

各毒性試験で得られた無毒性量の最小値は、ラットを用いた 90 日間亜急性毒性試験及び催奇形性試験の 25 mg/kg 体重/日であった。

毒性学的 ADI については、NOAEL 25 mg/kg 体重/日に、安全係数 1,000（種差 10、個体差 10、慢性毒性及び発がん性試験を欠いていることによる追加の 10）を適用することが適切と考えられ、0.025 mg/kg 体重/日と設定された。

一方、微生物学的影響から導き出された ADI は、現時点において国際的コンセンサスが得られている VICH 算出式に基づいて 0.0014 mg/kg 体重/日と設定された。この微生物学的 ADI は、毒性学的 ADI よりも十分小さく、毒性学的安全性を十分に担保していると考えられる。

以上より、セフキノムの食品健康影響評価については、ADI として 0.0014 mg/kg 体重/日を設定した。

Ⅰ．評価対象動物用医薬品の概要

1．用途

抗菌剤

2．一般名

和名：セフキノム

英名：Cefquinome

3．化学名（セフキノム）

CAS (No.84957-30-2)

英名：1-[[(6*R*,7*R*)-7-[[(2*Z*)-(2-Amino-4-thiazolyl)(methoxyimino)acetyl]amino]-2-carboxy-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-3-yl]methyl]-5,6,7,8-tetra

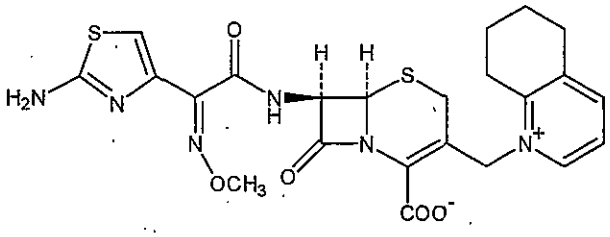
4．分子式

$C_{23}H_{24}N_6O_5S_2$

5．分子量

528.60

6．構造式



7．使用目的及び使用状況等（参照1、2、4、5）

セフキノムは、牛の *Pasteurella multocida*、*Pasteurella(Mannheimia) haemolytica* による肺炎の治療剤として旧ヘキスト社（現、インターベット インターナショナル社、ドイツ）で開発された動物専用のセフェム系抗生物質であり、その後、牛の趾間腐爛及び大腸菌性急性乳房炎あるいは子牛の大腸菌性敗血症の治療と効能拡大を行った。また、豚へも効能拡大されており、*P. multocida*、*Haemophilus parasuis, Actinobacillus pleuropneumoniae, Streptococcus suis* 及びその他セフキノム感受性菌による豚呼吸器感染症並びに乳房炎－子宮炎－無乳症症候群にも使用されている。

本製品が最初に承認されたのはイギリスで、現在日本を含め 50 カ国以上で動物用医薬品として承認されている。わが国では、2000 年 11 月に牛の肺炎（有効菌種 *Pasteurella multocida*、*Pasteurella* (*Mannheimia*) *haemolytica*）を適応症として、動物用医薬品の輸入承認を受けている。

EUにおけるセフキノムの投与方法及び用量は、牛において1 mg/kg体重を1日1回、3~5日間筋肉内投与あるいは泌乳牛では搾乳直後に75 mg/分房を3回（搾乳）連続乳房内投与、豚においては2 mg/kg体重を1日1回、3~5日間筋肉内投与とされている。

日本におけるセフキノムの投与方法及び用量は、牛において1 mg/kg体重を1日1回、3~5日間筋肉内投与とされている。休薬期間については、牛は食用に供するためにと殺する前7日間、牛乳では食用に供するために搾乳する前36時間である。

なお、ポジティブリスト制度導入に伴う残留基準値[1]が設定されている。

Ⅱ. 安全性に係る試験の概要 （参照2~6）

本評価書は、動物用医薬品「コバクタン」、「セファガード」の承認申請資料概要、EMEAレポート（1995年、1998年、1999年、2003年）等を基に毒性に関する主な知見を整理したものである。

1. 吸収・分布・代謝・排泄試験 （参照3）

セフキノムの経口投与による吸収はわずかで、実験動物、牛ともに数%であり、筋肉内及び皮下投与による吸収では30分から2時間以内にC_{max}となる。乳房内投与されたセフキノムのごく一部は全身に吸収される。

セフキノムは酸解離定数が2.51と2.91で脂溶性の低い有機酸であり、その分布は狭い。イヌでは見かけの分布容は定常状態で約0.2 L/kg体重である。血漿タンパクとは約5~15 %程度で結合している。非経口投与の場合、標識した未変化体セフキノムの高い放射活性が注射部位、腎臓、肝臓において認められる。

血漿におけるセフキノムの消失半減期はイヌで1~2時間、牛では1.5~3時間で用量依存的ではない。

非経口投与されたセフキノムの大部分は腎臓から排泄される。子牛では尿中から投与量の50~80 %が4時間以内に回収され、24時間以内には90 %が回収された。一方、糞中からは投与量の約5 %が回収された。乳房内投与されたセフキノムは主に乳汁から排泄される。

セフキノムはほとんど代謝されない。放射標識したセフキノムの牛への投与試験では、初回投与後8時間に排泄される尿中放射活性の90 %が未変化体のセフキノムであった。

（1）投与試験（ラット及びイヌ）（参照2）

Wistar系ラット（雌雄各6匹）及びイヌ（ビーグル犬、雄3頭）に対する^{14}C硫酸セフキノム[2]の単回静脈内投与（5 mg(力価)/kg体重）試験が実施され、全血中及び血漿中濃度、排泄、組織中残留濃度について調べられた（液体シンチレーション法）。

硫酸セフキノムの投与後の薬物動態パラメーターは表1のとおりである。

硫酸セフキノムは、ラット及びイヌのいずれにおいても全血中からは二相的に排泄された。また、血漿中濃度は全血中濃度の約2倍に達し、硫酸セフキノムの血液成分への結合は顕著ではないと考えられた。

---

[1] 平成17年厚生労働省告示第499号によって新たに定められた残留基準値

[2] チアゾール環のC（2）の位置に標識（以下、同様）

排泄では、ラット及びイヌともに腎臓から急速及び優先的に排泄された（ラット：約88％、イヌ：約95％）。また、両被験動物において尿中でも二相的に排泄された。

投与168時間後の組織中残留濃度は表2のとおりであった。腎臓（雄：0.58±0.11 μg当量/g、雌：0.93±0.07 μg当量/g）及び脾臓（雄：0.16±0.02 μg当量/g、雌：0.19±0.02 μg当量/g）で高い残留が認められた。

表1　ラット及びイヌにおける^{14}C硫酸セフキノムの単回静脈内投与後の薬物動態パラメーター

パラメーター	雄ラット (平均値±SD)	雌ラット (平均値±SD)*			イヌ (平均値±SD)
C_{max} (μg当量/g)	19.36±16.49	28.50	9.92	10.55	16.15±0.62
T_{max} (h)	0.083	5.0	0.083	0.083	0.083
$T_{1/2}\alpha$ (h)	0.8±0.1	0.9±0.1			1.8±0.2
$T_{1/2}\beta$ (h)	45.6±5.0	44.3±2.6			113.9±8.5
AUC_{168} (μg当量×h/g)	35.53±17.66	35.58±12.19			57.51±6.51
AUC_{∞} (μg当量×h/g)	36.90±17.23	37.22±12.05			82.21±12.73

* C_{max} 、T_{max}については個体値を示した。

表2　ラットにおける^{14}C硫酸セフキノムの単回静脈内投与168時間後（7日後）の各組織の組織中残留量（μg当量／g）

組織	雄ラット (平均値±SD)	雌ラット (平均値±SD)
膵臓	0.0159±0.0039	0.0258±0.0038
脾臓	0.1631±0.0151	0.1856±0.0186
副腎	0.0337 1)	0.0430 1)
腎臓	0.5764±0.1081	0.9274±0.0683
生殖腺	0.0131±0.0017	0.0499±0.0014
肝臓	0.0586±0.0072	0.0671±0.0056
心臓	0.0185±0.0031	0.0304±0.0018
肺	0.0364±0.0057	0.0734±0.0056
骨格筋	0.0086±0.0008	0.0128±0.0004
平滑筋	0.0266±0.0016	0.0347±0.0038
皮下脂肪	0.0359±0.0036	0.0515±0.0031
後腹膜脂肪	0.0201±0.0044	0.0289±0.0008
骨髄	0.0297 1)	0.0279 1)
眼	0.0099±0.0011	0.0161±0.0008
子宮	—	0.0578±0.0164
全血	0.0206±0.0019	0.0252±0.0029
血漿	0.0172±0.0006	0.0289±0.0070
大脳	<0.0020	0.0034 2)
小脳	<0.0040	<0.0054
前立腺	0.0237±0.0018	—

1) 1匹のみで測定した。

2) 3匹中1匹で検出された。

（2）投与試験（牛）　（参照 2）

① 5 日間筋肉内投与試験

牛（牛 C1：体重 162.0 kg、牛 C2：体重 172.5 kg、2 頭）に ^{14}C 硫酸セフキノムの 5 日間筋肉内投与（約 1 mg(力価)/kg 体重/日）試験が実施され、全血中及び血漿中濃度、排泄、組織中残留濃度について調べられた（液体シンチレーション法）。

投与後のセフキノムの薬物動態パラメーターは表 3 のとおりである。

全血中の濃度は、投与後速やかに上昇し、約 1 時間後に最高に達した。また、投与回数の増加に比例して投与後の C_{max} は高くなった（初回投与後：平均 1.37 μg 当量/g、5 回投与後：平均 1.83 μg 当量/g）。血漿中濃度は平均で全血中より約 40 %高く、全血中と同様の推移を示した。

硫酸セフキノムは、主に尿中に排泄され、5 回目投与後 24 時間までには総投与量の約 95 %が排泄された。なお、糞便中の排泄は、牛 C1、牛 C2 それぞれで総投与量の 4.03 %、5.02 %であった。

表 3　牛における ^{14}C 硫酸セフキノムの 5 日間筋肉内投与後の全血中薬物動態パラメーター

パラメーター	牛 C1		牛 C2	
	初回投与後	5 回目投与後	初回投与後	5 回目投与後
C_{max} (μg 当量/g)	1.32	1.72	1.43	1.95
$T_{1/2}$ (hr) phase Ⅰ	1.24	0.97	1.39	1.19
$T_{1/2}$ (hr) phase Ⅱ	—*	—*	—*	49.2

—*：投与から採取までの時間が短かったため分析を実施していない。

最終投与 24 時間後（牛 C1）及び 48 時間後（牛 C2）の硫酸セフキノムの残留濃度は表 4 のとおりであった。投与部位筋肉が最も高い値を示し（牛 C1：5.01 μg 当量/g、牛 C2：1.96 μg 当量/g）、腎臓、肝臓がこれに次ぐ濃度で検出された。

表 4　牛における ^{14}C 硫酸セフキノムの 5 日間筋肉内投与 24 又は 48 時間後の各組織の残留量（μg 当量/g）

組織	牛 C1 (最終投与 24 時間後)	牛 C2 (最終投与 48 時間後)
腎臓	1.290	1.097
肝臓	0.5226	0.4782
心臓	<0.0322	0.0414
肺	0.1004	0.0816
骨格筋	<0.0352	<0.0352
皮下脂肪	<0.0579	<0.0579
後腹膜脂肪	<0.0515	<0.0515
注射部位筋肉	5.009	1.957
注射部位皮膚	0.7293	0.6382

② 単回皮下及び筋肉内投与試験　(参照 2)

牛 (12 頭、平均体重約 185 kg) に硫酸セフキノムを単回皮下及び筋肉内投与 (1 mg(力価)/kg 体重) 後、3 週間以上の休薬期間を設けた後、単回筋肉内投与 (1 mg(力価)/kg 体重) 試験が実施され、それぞれの投与 0、3、5、10、15、20、30、45 及び 60 分後及び 1.5、2、3、4、5、6、8、12、及び 24 時間後に採取し、薬物動態パラメーターが調べられた (HPLC)。

皮下投与における C_{max} は平均 2.955 μg (力価) /mL (平均 1.453 時間後)、AUC_{∞} は 16.362 μg (力価) ·hr/L となり、筋肉内投与では、C_{max} は平均 2.981 μg (力価) /L (平均 2.014 時間後)、AUC_{∞} は 19.061 μg (力価) ·hr /L となった。(表 5)

表 5　牛における硫酸セフキノムを単回皮下及び筋肉内投与後の薬物動態パラメーター

投与経路	AUC　0→最終採取時点 (μg(力価) ·hr /L)	AUC　0→∞ (μg(力価) ·hr /L)	$T_{1/2}\alpha$ (hr)	$T_{1/2}\beta$ (hr)	C_{max} (μg(力価)/mL)	T_{max} (hr)
皮下注射	14.528±1.515	16.362±2.12	0.648± 0.519	2.612± 0.826	2.955±0.638	1.453± 0.643
筋肉内注射	16.234±2.434	19.061±2.689	1.024± 0.679	2.509± 0.687	2.981±0.461	2.014± 0.832

③ 子牛及び泌乳牛における単回筋肉内投与試験　(参照 2)

子牛 (ホルスタイン種×黒毛和種、雌 7 頭、体重 206~234 kg) 及び泌乳牛 (ホルスタイン種、7 頭、体重 587~747 kg) に硫酸セフキノムを頚部に単回筋肉内投与 (1 mg(力価)/kg) し、投与前、投与 1、2、3、6、9、12 及び 24 時間後に血液を採取し、微生物学的定量法により薬物動態パラメーターが調べられた。

表 6 のとおり、子牛及び泌乳牛とも同様の薬物動態パラメーターを示した。

表 6　子牛及び泌乳牛における硫酸セフキノムを単回筋肉内投与後の薬物動態パラメーター

試験群	AUCt (μg (力価) · hr / g)	C_{max} (μg (力価) / g)	T_{max} (hr)
子牛	5.22±0.62	1.3±0.3	1.6±0.5
泌乳牛	6.26±1.70	1.8±0.3	1.4±0.5

(3) 投与試験 (豚)　(参照 2)

豚 (2 頭) に対する ^{14}C 硫酸セフキノムの 5 日間筋肉内投与 (1.17、1.10 mg(力価)/kg/日) 試験が実施され、排泄、組織内残留濃度について調べられた (液体シンチレーション法)。

排泄は主に尿を介して行われ、最終投与後 24 時間に、個体番号 P1 では総投与量の 72.42 %を排泄した。個体番号 P2 では、最終投与後 24 時間に 82.23 %、その後 24 時間 (最終投与後 48 時間) で 83.16 %の排泄となった。また、代謝畜舎から乾燥尿を採るための洗浄液を含めると、2 頭の動物の尿排泄は総投与量の 82.62 %、86.25 %と近似していた。なお、試験期間中の糞便からの排泄は総投与量の 6.52 % (P1)、8.70 % (P2) とわずかな量しか排泄されなかった。(表 7)

表7　豚における^{14}C硫酸セフキノムを5日間筋肉内投与後の尿及び糞便中排泄結果

採取試料	個体番号	総投与量 (mg当量)	採取時間* (時間)	排泄量 (mg当量)	割合 (%)
尿	P1	134.6731	0~120	97.5348	72.42
	P2	126.1645	0~144	104.9124	83.16
糞	P1	134.6731	0~120	8.7753	6.52
	P2	126.1645	0~144	10.9739	8.70

＊：採取時間は1回目投与後の時間を示す。

組織中濃度では、最高濃度が投与部位の筋肉で認められ、最終投与24時間後で7.81 μg当量/g、最終投与48時間後で7.52 μg当量/gであった。投与部位の皮下脂肪組織を含む皮膚は0.22及び0.81 μg当量/gで筋肉より低濃度であった。以下、腎臓（2.25及び2.16 μg当量/g）、肝臓（0.69及び0.57 μg当量/g）、血漿（0.23及び0.19 μg当量/g）、血液（0.13及び0.14 μg当量/g）、肺（0.12及び0.10 μg当量/g）の順で、その他の組織は0.10 μg当量/g未満であった。（表8）

表8　豚における^{14}C硫酸セフキノム5日間筋肉内投与後の組織内濃度（μg当量/g）

個体番号	P1	P2
最終投与後時間（時間）	24	48
腎臓	2.2450	2.1570
肝臓	0.6876	0.5695
心臓	0.0672	0.0612
肺	0.1172	0.0998
骨格筋	0.0239	0.0202
皮下脂肪	0.0457	0.0397
腹膜後脂肪	検出限界(0.035)未満	検出限界(0.035)未満
血液	0.1305	0.1367
血漿	0.2288	0.1912
注射部位（筋肉）	7.8100	7.5230
注射部位（皮膚・皮下脂肪）	0.2205	0.8149

（4）尿中及び血漿中代謝物（ラット、イヌ及び牛）　（参照2）

上記「（1）投与試験（ラット及びイヌ）」及び「（2）投与試験（牛）」で得られたイヌの尿、牛の尿、血漿、組織及び「（1）投与試験（ラット及びイヌ）」と同様の方法で新たに採取したラットの尿を用いてラット、イヌ、牛の尿中における代謝物、牛の血漿中の総放射活性に占める硫酸セフキノムの割合及び牛の組織内残留物を検索した。

①尿中の代謝物（ラット、イヌ及び牛）

ラット、イヌ、牛の尿をTLCを用いて分析した。さらにイヌの尿についてはHPLCによる分析を行い、「（1）投与試験（ラット及びイヌ）」の試験で得られた尿中総放射活性濃度との比較を行った。

分析の結果、牛では尿中の主要な排泄物は未変化の硫酸セフキノムであった（89~95 %）。ラット及びイヌでも尿中の主要な排泄物は未変化の硫酸セフキノムであった（ラット：89~92 %、イヌ：89~93 %）。また、イヌの尿を HPLC で測定した結果、（1）の試験で得られた総放射活性中の硫酸セフキノムの割合は、多くの検体で 90 %以上であった。

②血漿中の総放射活性に占める硫酸セフキノムの割合（牛）

「（2）投与試験（牛）」で得られた牛の血漿を用い、HPLC による分析を行い、同試験で得られた放射活性濃度との比較を行った。

分析の結果、総放射活性中の硫酸セフキノムの割合は約 80 %であった。

③組織内残留物

「（2）投与試験（牛）」の牛の組織内残留分析で高い残留が認められた投与 24 時間後の注射部位筋肉、肝臓及び腎臓の硫酸セフキノム濃度を HPLC（検出限界 0.1 μg（力価）/mL）により測定した。また、この材料について微生物学的定量法（検出限界 0.02 μg（力価）/mL）により、抗菌活性を測定した。

HPLC では硫酸セフキノムは検出されなかった。また、微生物学的定量法による分析では抗菌活性は検出されなかった。

（5）尿中及び血漿中代謝物（豚）　（参照 2、4、5）

「（3）投与試験（豚）」で得られた尿を用いて尿中における硫酸セフキノムの代謝について検討した。（表 9）

被験動物（2 頭）を用いて最終投与後 0~2 時間及び最終投与後 2~8 時間の尿中における総セフキノム量に対する親化合物の割合を TLC により調べた。その結果、投与後 0~2 時間の割合はそれぞれ 45 %及び 63 %であったが、投与後 2~8 時間の割合はそれぞれ 84 %及び 80 %であった。残りの放射活性は 2、3 種類の代謝物と思われたが、それ以上のことは不明であった。

表 9　豚における尿中代謝結果（TLC 法）

個体番号	採材時期（最終投与後時間）	硫酸セフキノムの割合（%）	代謝物の割合（%）
P1	96~98 時間（0~2）	45	55
	98~104 時間（2~8）*	84	16
P2	96~98 時間（0~2）	63	37
	98~104 時間（2~8）*	80	20

*：98~102 時間は排尿なし（検体なし）

豚における硫酸セフキノムの尿排泄は遅く、投与後 8~48 時間経過しないと投与量の大部分が排泄されないことから、5 回目の投与後 0~2 時間の検体は 4 回目の投与量の残余が主な排泄物であり、長時間アルカリ性環境である尿路に滞留していたため部分的に分解したものと判断された。一方、投与後 8~48 時間に排泄された尿は主として親化合物を含んでいたことから、豚における硫酸セフキノムの代謝速度は遅く、また、未変化

体の排泄が多いが、尿路のアルカリ性環境に長く停滞するために分解が起こるものと考えられた。

（6）残留試験（牛）　（参照2、3）

ホルスタイン種牛（試験Ⅰ：雌子牛25頭、平均体重150 kg、試験Ⅱ：雌子牛25頭，平均体重132 kg、臀部及び頸部筋肉内に投与）[3]を用いて硫酸セフキノムの1日1回5日間連続筋肉内投与（常用量：1 mg（力価）/kg体重/日、2倍量：2 mg（力価）/kg体重/日）試験が実施された。被験動物は経時的（最終投与4、5、6、7日後）に血漿、筋肉、脂肪、肝臓、腎臓、小腸、注射部位筋肉、注射部位周辺筋肉の残留性について微生物学的定量法により検討された。

注射部位筋肉及び注射部位周辺筋肉を除くすべての組織では、常用量、2倍量とも最終投与4日後において検出限界（0.02 μg（力価）/g）未満であった。注射部位筋肉及び注射部位周辺筋肉では、最終投与5日後に試験Ⅰの常用量投与群1例で0.02 μg（力価）/gが検出されたものの、最終投与6日後以降は両投与群の全例で検出限界未満となった。

牛を用いて放射標識セフキノムの消失試験が実施された（筋肉内投与、1 mg/kg体重、24時間毎に5回投与）。投与部位で放射活性が最も高く（最終投与12時間後に約40 μg eq/g組織）、腎臓と肝臓は、それぞれ3~5 μg eq/gと1~1.5 μg eq/gであったが、その後8~9日以内に一次速度式的に減少し、それぞれ2~5、1.5、0.5 μg eq/gとなった。全試料において12時間後の抽出可能な残留量（抗菌活性残留量）は総セフキノム量の1/3未満であった。投与部位組織については、消化処理後（すなわち塩酸あるいは消化酵素で処理）、ごくわずかな抗菌活性残留量（3~4 %）しか認められなかった。一方、腎臓及び肝臓のサンプルでは、消化処理後により高い抗菌活性が残った（腎臓で約10 %、肝臓ではほぼ100 %）。しかしながら、12時間以降の調べられた全ての組織において、消化処理後の抗菌活性と同様に抽出可能な残留は検出限界（0.01~0.02 μg eq/g）未満であった。

（7）残留試験（乳汁）　（参照2）

ホルスタイン種泌乳牛（試験Ⅰ：6頭、体重505~572 kg、試験Ⅱ：6頭、体重582~730 kg）[4]を用いて硫酸セフキノムの1日1回5日間連続筋肉内投与（常用量：1 mg（力価）/kg体重/日、2倍量：2 mg（力価）/kg体重/日、臀部筋肉内に投与）試験が実施された。被験動物は経時的（投与12時間前、最終投与12、24、36、48、60、72、84、96、108及び120時間後）に搾乳した乳汁での残留性について微生物学的定量法により検討された。

常用量投与群では、試験Ⅰにおいては最終投与12時間後及び24時間後の全例が検出限界（0.02 μg（力価）/g）未満であり、試験Ⅱにおいては最終投与12時間後に3例中2例から0.02 μg（力価）/gが検出されたものの、最終投与24及び36時間後には全例が検出限界未満となった。

2倍量投与群では試験Ⅰにおいて最終投与12時間後の全例で0.02 μg（力価）/gが検

[3] 試験Ⅰ、試験Ⅱとも共通の方法により試験を実施している。

[4] 試験Ⅰ、試験Ⅱとも共通の方法により試験を実施している。

出され、試験Ⅱにおいては最終投与12時間後の3例中2例から0.03及び0.04 μg（力価）/gが検出されたが、いずれも最終投与24及び36時間後では検出限界未満となった。

（8）残留試験（豚）　（参照2、4、5）

LWD種子豚（試験Ⅰ：去勢雄6頭、雌13頭、概ね2ヶ月齢、体重30.7~37.2 kg、試験Ⅱ：去勢雄13頭、雌6頭、2~3ヶ月齢、体重35.2~42.5 kg）[5]を用いて硫酸セフキノムの1日1回3日間連続筋肉内投与（臨床予定最高用量：2 mg（力価）/kg体重/日、大腿部筋肉内に投与）試験が実施された。被験動物は経時的（最終投与6、12時間及び1、2、3、4日後）に血漿、筋肉、脂肪、肝臓、腎臓、小腸、注射部位筋肉、注射部位周辺部筋肉の残留性について微生物学的定量法により検討された。

注射部位筋肉及び注射部位周辺筋肉を除く筋肉ではいずれの採取時点でも定量限界（0.016 μg（力価）/g）未満であった。脂肪、小腸、血漿では最終投与6時間後まで、肝臓では最終投与12時間後まで、腎臓及び注射部位周辺部筋肉では最終投与1日後まで検出されたが、最終投与2日後には注射部位筋肉を除き全例で定量限界（0.016 μg（力価）/g）未満となった。

注射部位筋肉では、試験Ⅱにおいて最終投与3日後に1例で0.016 μg（力価）/g検出されたが、最終投与4日後には定量限界未満となった。

豚を用いて臨床用量の非放射標識セフキノムによる消失試験が実施された（2 mg/kg体重を5回24時間間隔）。最初の4回は同じ部位に投与し、最終投与は別の部位に投与された。最終投与24、48、72、96、120及び144時間後に4頭/群の動物が屠殺され残留濃度が測定された（HPLC）。

24時間後では、すべての注射部位サンプルでセフキノムが検出された。1~4回目及び5回目の投与部位の最小及び最大濃度は、それぞれ、18及び34 μg/kg、100及び208 μg/kgであった。それ以降は5回目に投与した注射部位のみが検査された。48時間後のサンプルはすべて13 μg/kg以上であった。72及び96時間後では4例中2例のみ検出された（それぞれ、16、19 μg/kg及び14、20 μg/kg）。120時間後では、注射部位の1例のみが定量限界を上回った（14 μg/kg）が、144時間後では、すべて定量限界未満となった。

24時間後のすべての腎臓サンプルで定量限界を上回り、最小及び最大濃度は88及び293 μg/kgであった。48、72及び120時間後の腎臓からセフキノムは測定されなかったが、96時間後の4例中1例のみが定量限界を上回った（40 μg/kg）。肝臓、脂肪、皮膚及び筋肉組織（非投与部位）については、最終投与72時間後まで調べられた。72時間後の脂肪1例に27 μg/kgの残留が認められた以外は、未変化体セフキノムは検出されなかった。

2．急性毒性試験　（参照2）

ICR系マウス及びSD系ラット（6週齢、いずれも雌雄各5匹/群）に硫酸セフキノムを経口、皮下及び腹腔内投与した。それぞれの投与経路におけるLD_{50}は表10のとおりである。

[5] 試験Ⅰ、試験Ⅱとも共通の方法により試験を実施している。

表 10　硫酸セフキノム投与によるマウス及びラットの LD_{50}

動物種	投与経路	LD_{50} (mg/kg 体重)	
		雄	雌
マウス	経　口	>2,000	>2,000
	皮　下	>5,000	>5,000
	腹腔内	4,524	4,322
ラット	経　口	>2,000	>2,000
	皮　下	>5,000	>5,000
	腹腔内	>5,000	>5,000

経口投与ではマウス、ラットともに一般状態に異常は見られなかった。皮下投与では、マウスの 5,000 mg/kg 体重投与群で一過性の自発運動減少及び呼吸数減少、ラットでは一過性の自発運動の減少、投与部位の腫脹、硬化、びらん及び潰瘍等が認められた。腹腔内投与では、マウスの 5,000 mg/kg 体重投与群で一過性の自発運動減少、呼吸数の減少、腹臥、振戦及び跳躍が認められ、ラットでは全群で下痢、2,500 mg/kg 体重以上投与群で一過性の自発運動減少、呼吸数減少、腹臥、振戦及び跳躍が認められた。剖検所見ではラットの皮下投与において投与部位の痂皮形成、脱毛及びびらんが認められた。また、ラットの腹腔内投与における死亡例では腹水の貯留が認められた。

3．亜急性毒性試験

（1）90 日間亜急性毒性試験（ラット）　（参照 2、3）

Hoe 系統：WISKf (SPF71) ラット（雌雄各 15 匹/群）を用いた経口（0、25、250、2,500 mg（力価）/kg 体重/日）投与による 90 日間の亜急性毒性試験で認められた毒性所見は以下のとおりであった

本試験期間中に死亡例は認められなかった。

一般的な臨床症状観察では、250 mg (力価) /kg 体重/日以上投与群で流涎の増加、2,500 mg（力価）/kg 体重/日投与群で、腹部膨満、眼の淡色化が認められた。

摂餌量では、2,500 mg (力価) /kg 体重/日投与群の雌雄でわずかな減少が認められた。

血液学的検査では、250 mg（力価）/kg 体重/日以上投与群の雌で赤血球の減少、雄で好中球の増加、リンパ球の減少が認められ、2,500 mg（力価）/kg 体重/日投与群の雌雄で赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット値の減少、好中球の増加、リンパ球の減少、雌で網状赤血球の増加が認められた。

血液生化学的検査では、250 mg（力価）/mg 体重/日以上投与群の雌雄で BUN の増加、雌で尿酸値の増加が認められ、2,500 mg（力価）/kg 体重/日投与群の雌雄でビリルビン値の増加が認められた。

臓器重量では、250 mg（力価）/kg 体重/日以上投与群の雄で腎臓の重量の増加が認められ、2,500 mg（力価）/kg 体重/日投与群の雌で腎臓の重量の増加が認められた。

剖検では、被験物質の抗菌作用による二次的変化（腸内細菌叢の変化）と思われる盲腸の拡張が、25 mg（力価）mg/kg 体重/日投与群の雄 1 例、250 mg（力価）/kg 体重/日以上投与群の雌雄で認められた。2,500 mg（力価）/kg 体重/日投与群の雄で腎臓に軽度の斑点が認められた。

病理組織学的検査では、2,500 mg（力価）/kg 体重/日投与群の雄で近位曲尿細管の空胞変性が認められた。

本試験の NOAEL は、雌雄とも 25 mg（力価）/kg 体重/日であると考えられた。

（2）90 日間亜急性毒性試験（イヌ）　（参照 2、3）

ビーグル犬（雌雄各 4 匹/群）を用いた経口（0、3.2、32、320 mg（力価）/kg 体重/日）投与による 90 日間の亜急性毒性試験で認められた毒性所見は以下のとおりである。

本試験期間中に死亡例は認められなかった。また、投与に関連した異常は認められなかった。

本試験の NOAEL は、雌雄とも 320 mg（力価）/kg 体重/日であると考えられた。

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）2 世代繁殖試験（ラット）　（参照 3）

ラットを用いた経口（0、25、250、2,500 mg（力価）/kg 体重/日）投与による 2 世代繁殖試験が実施され、生殖に対する影響は認められなかったと評価されている。

（2）催奇形性試験（ラット）　（参照 2）

Wistar 系ラット（雌 20 匹/群）を用いた経口（0、25、250、2,500 mg（力価）/kg 体重/日）投与による試験において認められた毒性所見は以下のとおりであった。被験物質の投与は、妊娠 7 日から 16 日までの間 1 日 1 回行い、妊娠 21 日に剖検して胎児への影響を検査した。

母動物では、250 mg（力価）/kg 体重/日投与群で摂餌量のわずかな減少、尿量の増加が認められ、2,500 mg（力価）/kg 体重/日投与群で摂餌量の減少、体重増加抑制、尿量増加が認められた。

胎児では、2,500 mg（力価）/kg 体重/日投与群でわずかな発育遅延、第 14 肋骨の発現頻度の増加が認められた。

本試験の NOAEL は母動物で 25 mg（力価）/kg 体重/日、胎児で 250 mg（力価）/kg 体重/日であると考えられた。催奇形性は認められなかった。

（3）催奇形性試験（ウサギ）　（参照 2）

ロシアウサギ（雌 15 匹/群）を用いた経口（0、0.10、0.32、1.0 mg（力価）/kg 体重/日）投与による試験が実施されている。被験物質の投与は、妊娠 6 日から 18 日まで行なった。

母動物では、1.0 mg（力価）/kg 体重/日投与群で軟便や排糞量の減少、摂餌量及び飲水量の減少、体重増加抑制が認められ、試験途中に一般状態の悪化した 2 匹と流産の徴候を示した 1 匹を殺処分した。これらの所見は、より高用量を用いて実施された予備試験でも観察されており、ウサギに抗菌剤を経口投与した場合に通常認められている消化

管影響を介した二次的作用によると考えられることから、催奇形性試験にウサギを用いるのは適切ではないと考えられた。

6．遺伝毒性試験　(参照 2、3)

遺伝毒性に関する各種の *in vitro* 及び *in vivo* 試験の結果を表 11 及び表 12 にまとめた。

表 11　*in vitro* 試験

試験	対象	用量	結果
不定期 DNA 合成試験	ヒト株細胞 A549	1、3、10、30、100、300、1,000 μg/mL (±S9)	陰性
染色体異常試験	チャイニーズ・ハムスター V79 細胞	626.7、3,133.5 μg/mL (±S9;18h)	陰性
		6,267.0 μg/mL (±S9;7、18、28h)	陰性

表 12　*in vivo* 試験

試験	対象	用量	結果
小核試験	マウス骨髄細胞	5,000 mg（力価）/kg 体重を単回経口投与	陰性

上記のように、*in vitro* の不定期 DNA 合成試験、染色体異常試験及び *in vivo* の小核試験はいずれも陰性であり、セフキノムは生体にとって問題となる遺伝毒性はないものと考えられた。

7．微生物学的影響に関する特殊試験

（1）ヒト腸内細菌叢に対する影響　(参照 3)

EMEA の評価では、*Escherichia coli*、*Proteus* sp.、*Bacteroides* sp.、*Bifidobacterium* sp.、*Clostridium* sp.、*Peptostreptococcus* sp.、*Peptococcus* sp.、*Eubacterium* などで代表される 68 株のバクテリアに関するセフキノムの感受性データが得られ、ヒトの大腸の濃度と一致する菌濃度 (1.5×10^9 CFU/mL) における幾何平均 MIC_{50} が求められている。

その結果、最も感受性が高かったのは、*Bacteroides* sp.、*Bifidobacterium* sp.、*Peptococcus* sp.、*Clostridium* sp.、*Eubacterium* で、その幾何平均 MIC_{50} は 1.5 μg/mL であった。

（2）臨床分離菌に対する最小発育阻止濃度（MIC）　(参照 7)

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セフキノムの約 5×10^6 CFU/spot における MIC が調べられている。結果は、表 13 に示されている。

表 13　セフキノムの各菌種に対する MIC

菌名	株数	最小発育阻止濃度（μg/mL）	
		Cefquinome	
		MIC_{50}	範囲
通性嫌気性菌			
Escherichia coli	30	2	1~8
Enterococcus sp.	30	8	2~>128
嫌気性菌			
Bacteroides sp.	30	128	16~ >128
Fusobacterium sp.	20	32	4~32
Bifidobacterium sp.	30	≦0.06	≦0.06~0.25
Eubacterium sp.	20	0.5	0.25~>128
Clostridium sp.	30	2	1~2
Peptococcus sp.　*Peptostreptococcus* sp.	30	0.12	≦0.06~1
Prevotella sp.	20	0.12	≦0.06~128
Lactobacillus sp.	30	2	1~>128
Propionibacterium sp.	30	1	0.25~2

調査された菌種のうち、最も低い MIC_{50} が報告されているのは *Bifidobacterium* sp. で≦ 0.06 μg/mL であり、MICcalc[6]は 0.000376 mg/mL（0.376 μg/mL）であった。

Ⅲ．食品健康影響評価

１．毒性学的 ADI について

セフキノムは慢性毒性及び発がん性試験が実施されていないが、生体にとって問題となる遺伝毒性を示さないと考えられること、EMEA の評価でセフキノムの化学構造が既知の発がん性物質と関連がないとしていることから追加の安全係数を加えることによって 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、ラットを用いた 90 日間亜急性毒性試験における雌の赤血球の減少、雄の好中球増加等及びラット催奇形性試験における母動物の摂餌量減少及び尿量増加で NOAEL 25 mg/kg 体重/日であった。

毒性学的 ADI については、この NOAEL 25 mg/kg 体重/日に安全係数 1,000（種差 10、個体差 10、慢性毒性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、0.025 mg/kg 体重/日と設定された。

２．微生物学的 ADI について　（参照 3、4、5、7）

EMEA の評価では、セフキノムの持つ毒性は低いため、セフキノムのヒト腸内細菌叢への影響に基づき ADI を設定することが適切であるとされている。ヒト腸内細菌叢への影響については *Bacteroides* sp.、*Bifidobacterium* sp.、*Peptococcus* sp.、*Clostridium* sp.、

[6] 試験薬に活性のある最も関連のある属の平均 MIC_{50} の 90 %信頼限界の下限値

Eubacterium から算出された幾何平均 MIC 0.0015 mg /g に 1 日糞便量 150 g、腸内細菌のセフキノム利用率 10 %、安全係数 10 を適用して ADI 0.0038 mg /kg 体重（0.225 mg /ヒト(体重 60 kg)）と評価されている。

一方、VICH ガイドラインに基づく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)から得られており、この結果から微生物学的 ADI を算出することができる。

セフキノムの MICcalc に 0.376 μg/mL、細菌が暴露される分画は 実験動物における経口からの吸収が数%でほとんど吸収されないことを根拠に 100 %、結腸内容物 220 g、ヒト体重 60 kg を適用し、VICH の算出式により、

$$\text{ADI (mg/kg 体重/日)} = \frac{0.000376\ (\text{mg/mL})^{*1} \times 220^{*2}}{1^{*3} \times 60^{*4}} = 0.001379$$

と算出された。

*1：試験薬に活性のある最も関連のある属の平均 MIC_{50} の 90 %信頼限界の下限値

*2：結腸内容物(g)

*3：経口用量として生物学的に利用可能な比率（実験動物の経口における吸収率が数%との知見をもとに推定した。）

*4：ヒト体重（kg)

微生物学的 ADI については、現時点において国際的コンセンサスが得られている VICH 算出式を採用するのが適切と考えられる。

3．ADI の設定について

微生物学的 ADI（0.0014 mg/kg 体重/日）は、毒性学的 ADI（0.025 mg/kg 体重/日）よりも十分低く、セフキノムが動物用医薬品として用いられたときのセフキノムの食品中における安全性を担保していると考えられる。

4．食品健康影響評価について

以上より、セフキノムの食品健康影響評価については、ADI として次の値を設定した。

セフキノム　0.0014 mg /kg 体重/日

暴露量については、当評価結果を踏まえ暫定基準値の見直しを行う際に確認することとする。

表 14　各試験における無毒性量等の比較

動物種	試験	投与量 (mg(力価)/kg 体重/日)	無毒性量 (mg/kg 体重/日)	
			EMEA	承認時概要
ラット	90 日間 亜急性毒性 試験	25、250、2,500 (経口)	— 用量依存的な溶血性貧血 用量依存的に腎臓の機能障害	25 雌：赤血球の減少、尿酸値の増加 雄：好中球の増加、リンパ球の減少、腎臓の重量増加 雌雄：BUN の増加
	2 世代繁殖 試験	25、250、2,500 (経口)	— 毒性なし	
	催奇形性試験	25、250、2,500 (経口)	— 催奇形性なし	
		25、250、2,500 (経口)		母動物：25 胎児：250 母動物：摂餌量の低下、尿量の増加 胎児：発育遅延、第 14 肋骨の発現頻度増加 催奇形性なし
イヌ	90 日間 亜急性毒性 試験	3.2、32、320 (経口)	320 毒性なし	320 毒性なし
毒性学的 ADI			—	
微生物学的 ADI			0.0038	
微生物学的 ADI 設定根拠			*Bacteroides* spp., *Bifidobacterium* spp., *Peptococcus* spp., *Clostridium* spp., *Eubacterium* の幾何平均 MIC 0.0015 mg/kg 体重/日、結腸内容物 150g、腸内細菌のセフキノム利用率 10 %、安全係数 10、ヒト体重 60kg	
ADI			0.0014 mg/kg 体重/日	

＜別紙１　検査値等略称＞

略称	名称
ADI	一日摂取許容量
AUC	血漿薬物濃度曲線下面積
BUN	血液尿素窒素
C_{max}	最高濃度
EMEA	欧州医薬品庁
HPLC	高速液体クロマトグラフィー
LD_{50}	半数致死量
MIC	最小発育阻止濃度
NOAEL	無毒性量
$T_{1/2}$	消失半減期
TLC	薄層クロマトグラフィー
T_{max}	最高濃度到達時間
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 三共ライフテック株式会社, 川崎三鷹製薬株式会社. 硫酸セフキノム　食品健康影響評価に関する資料（申請資料概要の抜粋）
3 EMEA, COMMITTEE FOR VETERINARY MEDICINAL PRODUCTS. "CEFQUINOME", SUMMARY REPORT, 1995
4 EMEA, COMMITTEE FOR VETERINARY MEDICINAL PRODUCTS. "CEFQUINOME (extension to pigs)", SUMMARY REPORT(1), 1998
5 EMEA, COMMITTEE FOR VETERINARY MEDICINAL PRODUCTS. "CEFQUINOME (Extension to pigs)", SUMMARY REPORT(2), 1999
6 EMEA, COMMITTEE FOR VETERINARY MEDICINAL PRODUCTS. "CEFQUINOME (Extension to horses)", SUMMARY REPORT(3), 2003
7 食品安全委員会. 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

厚生労働省発食安１０２３第３号
平成２４年１０月２３日

薬事・食品衛生審議会
会長　望月　正隆　殿

厚生労働大臣　　三井　辨雄

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

鶏大腸菌症生ワクチン

平成２４年１１月１５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２４年１０月２３日付け厚生労働省発食安１０２３第３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項の規定に基づく鶏大腸菌症生ワクチンに係る食品規格（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。

鶏大腸菌症生ワクチン

今般の残留基準の検討については、本剤が動物用医薬品として製造販売の承認申請がなされたことに伴い、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：鶏大腸菌症生ワクチン

商品名：ガルエヌテクトCBL

（2）用途：鶏大腸菌症の予防

主剤は鶏大腸菌血清型O78 AESN1331 株[1]である。本剤1 バイアル（1,000 羽分）中に鶏大腸菌血清型O78 AESN1331 株（以下「製造用株」という。）が1×10^{10}～1×10^{12} CFU含まれている。

また、安定剤として脱脂粉乳100 mg、酵母エキス50 mg及びD-ソルビトール100 mgが含まれている。

（3）適用方法及び用量

鶏を対象とし、本剤を日局の生理食塩液を用いて1,000 羽分当たり100～300 mL に溶解し、3～4週間隔で2 回噴霧する。

（4）諸外国における使用状況

海外では、本剤と類似の鶏大腸菌弱毒生ワクチンが使用されている。

2．食品健康影響評価

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鶏大腸菌症生ワクチンに係る食品健康影響評価について、以下のとおり評価されている。

主剤の製造用株は、親株の*crp* 遺伝子を欠損型の*Δcrp* 遺伝子に置き換えて作出されたもので、その塩基配列は全て大腸菌由来である。また、自然状態において、一定の頻度で*crp* 遺伝子の欠損変異株が分離されることが報告されている。これらのことから、製造用株において、遺伝子を置き換えることに起因する安全性上の新たな懸念は生じないものと考えられた。

大腸菌の血清型O78において、鶏大腸菌症由来株とヒトの毒素原性大腸菌感染症由来株との間でH 抗原や病原性遺伝子の保有パターンが異なるとの報告がある。また、製造用株

---

[1] 野外分離株（J29 株）を親株とし、その染色体上の*crp* 遺伝子を欠損変異型*crp* 遺伝子に置き換えた変異株である。

は、ヒトの病原性大腸菌の病原性遺伝子を保有していないことから、ヒトに対する病原性大腸菌には相当しない。さらに、製造用株は、親株より鶏体内への定着性が減弱しており、ヒナに2 回噴霧投与した場合でも投与4 日後には消失することが認められている。これらのことから、製造用株はヒトに対して病原性を示さないものと考えられた。

本剤の安定剤として使用されている添加剤については、物質の使用状況、既存の毒性評価及び本製剤の投与量を考慮すると、本製剤の含有成分として摂取した場合の健康影響は無視できると考えられる。

また、製造用株の病原性復帰は認められないこと及び性状は安定であることが確認されている。

以上のことから、本剤が適切に使用される限りにおいては、食品を通じてヒトの健康に影響を与える可能性は無視できるものと考えられる。

3．基準値の取扱い

食品安全委員会における評価結果を踏まえ、残留基準を設定しないこととする。

（参考）

これまでの経緯

平成２４年　２月　６日	農林水産大臣から厚生労働大臣あてに動物用医薬品の製造販売の承認及び使用基準の設定について意見聴取 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２４年　９月２４日	食品安全委員会委員長から厚生労働省大臣あてに食品健康影響評価について通知
平成２４年１０月２３日	薬事・食品衛生審議会へ諮問
平成２４年１０月３０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・食品担当主任研究員
○大野　泰雄	国立医薬品食品衛生研究所長
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准教授
佐藤　清	一般財団法人残留農薬研究所業務執行理事・化学部長
高橋　美幸	農業・食品産業技術総合研究機構動物衛生研究所上席研究員
永山　敏廣	東京都健康安全研究センター食品化学部長
廣野　育生	東京海洋大学大学院海洋科学技術研究科教授
松田　りえ子	国立医薬品食品衛生研究所食品部長
宮井　俊一	一般社団法人日本植物防疫協会技術顧問
山内　明子	日本生活協同組合連合会執行役員組織推進本部長
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	東北大学大学院薬学研究科医療薬学講座薬物動態学分野准教授
鰐渕　英機	大阪市立大学大学院医学研究科都市環境病理学教授

（○：部会長）

（答申案）

鶏大腸菌症生ワクチンについては、食品規格（食品中の動物用医薬品の残留基準）を設定しないことが適当である。

府食第８４２号
平成２４年９月２４日

厚生労働大臣
小宮山　洋子　殿

食品安全委員会
委員長　　熊谷　進

食品健康影響評価の結果の通知について

平成２４年２月３日付け厚生労働省発食安０２０３第４号をもって貴省から当委員会に意見を求められた鶏大腸菌症生ワクチン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

鶏大腸菌症生ワクチンが適切に使用される限りにおいては、食品を通じてヒトの健康に影響を与える可能性は無視できるものと考えられる。

動物用医薬品評価書

鶏大腸菌症生ワクチン
（ガルエヌテクトCBL）

２０１２年９月

食品安全委員会

目　次

頁

○審議の経緯 ……2
○食品安全委員会委員名簿 ……2
○食品安全委員会動物用医薬品専門調査会専門委員名簿 ……2
○要約 ……3

Ⅰ．評価対象動物用医薬品の概要 ……4
　１．主剤 ……4
　２．効能・効果 ……4
　３．用法・用量 ……4
　４．添加剤等 ……4
　５．開発の経緯 ……4

Ⅱ．安全性に係る知見の概要 ……5
　１．ヒトに対する安全性 ……5
　（１）主剤について ……5
　（２）添加剤について ……6
　２．鶏に対する安全性 ……6
　（１）鶏に対する安全性試験 ……6
　（２）鶏に対する臨床試験 ……7
　３．その他 ……7

Ⅲ．食品健康影響評価 ……8

・別紙：検査値等略称 ……9
・参照 ……9

〈審議の経緯〉

2012年　2月　6日　農林水産大臣より製造販売の承認に係る食品健康影響評価について要請（23消安第4963号）、厚生労働大臣より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0203第4号）、関係資料の接受
2012年　2月　9日　第418回食品安全委員会（要請事項説明）
2012年　3月　21日　第138回動物用医薬品専門調査会
2012年　7月　23日　第440回食品安全委員会（報告）
2012年　7月　24日　より　8月22日　国民からの御意見・情報の募集
2012年　9月　18日　動物用医薬品専門調査会座長より食品安全委員会委員長へ報告
2012年　9月　24日　第447回食品安全委員会
（同日付で農林水産大臣及び厚生労働大臣に通知）

〈食品安全委員会委員名簿〉

（2012年6月30日まで）	（2012年7月1日から）
小泉 直子（委員長）	熊谷 進　（委員長）
熊谷 進　（委員長代理*）	佐藤 洋　（委員長代理）
長尾 拓	山添 康　（委員長代理）
野村 一正	三森 国敏（委員長代理）
畑江 敬子	石井 克枝
廣瀬 雅雄	上安平 冽子
村田 容常	村田 容常

＊：2011年1月13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名簿〉

（2012年6月30日まで）		（2012年7月1日から）	
三森 国敏（座長）		山手 丈至　（座長*）	
山手 丈至（座長代理）		小川 久美子（座長代理*）	
石川 さと子	福所 秋雄	石川 さと子	福所 秋雄
石川 整	舞田 正志	石川 整	舞田 正志
小川 久美子	松尾 三郎	寺本 昭二	松尾 三郎
寺本 昭二	山口 成夫	天間 恭介	山口 成夫
天間 恭介	山崎 浩史	頭金 正博	山崎 浩史
頭金 正博	渡邊 敏明	能美 健彦	渡邊 敏明
能美 健彦		*：2012年8月22日から	

（専門参考人）
澤田 純一

要　約

鶏大腸菌症生ワクチン（ガルエヌテクト CBL）について食品健康影響評価を実施した。

主剤の鶏大腸菌血清型 O78 AESN1331 株は、野外分離株の *crp* 遺伝子を欠損変異型 *crp* 遺伝子に置き換えて作出されたもので、その塩基配列は全て大腸菌由来である。また、自然状態において、一定の頻度で *crp* 遺伝子の欠損変異株が分離されることが報告されている。これらのことから、鶏大腸菌血清型 O78 AESN1331 株において、遺伝子を置き換えることに起因する安全性上の新たな懸念は生じないものと考えられた。

鶏大腸菌症は鶏及び七面鳥の感染性疾病で、大腸菌の血清型 O78 において、鶏大腸菌症由来株とヒトの毒素原性大腸菌感染症由来株との間で H 抗原や病原性遺伝子の保有パターンが異なるとの報告がある。また、鶏大腸菌血清型 O78 AESN1331 株は、ヒトの病原性大腸菌の病原性遺伝子を保有していないことから、ヒトに対する病原性大腸菌には相当しない。さらに、鶏大腸菌血清型 O78 AESN1331 株は、野外分離株より鶏体内への定着性が減弱しており、ヒナに 2 回噴霧投与した場合でも投与 4 日後には消失することが認められている。これらのことから、鶏大腸菌血清型 O78 AESN1331 株はヒトに対して病原性を示さないものと考えられた。

本製剤の安定剤として使用されている添加剤については、物質の使用状況、既存の毒性評価及び本製剤の投与量を考慮すると、本製剤の含有成分として摂取した場合の健康影響は無視できると考えられる。

また、鶏大腸菌血清型 O78 AESN1331 株の病原性復帰は認められないこと及び性状は安定であることが確認されている。

以上のことから、本製剤が適切に使用される限りにおいては、食品を通じてヒトの健康に影響を与える可能性は無視できるものと考えられる。

Ⅰ．評価対象動物用医薬品の概要

1．主剤　（参照 1）

主剤は鶏大腸菌血清型 O78 AESN1331 株[1]である。本製剤 1 バイアル（1,000 羽分）中に鶏大腸菌血清型 O78 AESN1331 株（以下「製造用株」という。）が 10^{10}～10^{12} CFU 含まれている。

2．効能・効果　（参照 1）

効能・効果は、鶏大腸菌症の予防である。

3．用法・用量　（参照 1）

本製剤を日局の生理食塩液を用いて 1,000 羽分当たり 100～300 mL に溶解し、3～4 週間隔で 2 回投与する。初回は噴霧器、第 2 回は噴霧器又は散霧器を用いて投与する。

4．添加剤等　（参照 1）

本製剤 1 バイアル（1,000 羽分）中に、安定剤として脱脂粉乳（100 mg）、酵母エキス（50 mg）及び D-ソルビトール（100 mg）が含まれている。

5．開発の経緯　（参照 2～6）

鶏大腸菌症は、大腸菌（*Escherichia coli*）を原因菌とする鶏及び七面鳥の感染性疾病で、敗血症、心膜炎、肝包膜炎、気嚢炎、眼球炎、蜂窩織炎等の病型がある。感染経路は主に呼吸器系を介した水平感染である。通常、卵用鶏よりも肉用鶏で発生することが多く、特に 5～10 週齢のブロイラーに多発する。本症は世界的に発生がみられており、日本では、厚生労働省発表の食鳥検査成績において、解体禁止及び全廃棄の措置が取られる原因の第一位となっている。鶏に病原性を示す菌株の血清型は O78、O2 又は O1 が主体で、日本においても O78 を主体に、次いで O2 が多く分離されており、特にブロイラーの蜂窩織炎の症例では O78 が多く分離されている。（参照 2～4）

日本における鶏大腸菌症ワクチンとしては、組換え型 F11 線毛抗原及びベロ細胞毒素抗原を主成分とする油性アジュバント加不活化ワクチン（筋肉内投与）及び大腸菌の全菌体破砕処理抗原を主成分とする脂質アジュバント加不活化ワクチン（点眼投与）の 2 製品が承認されている。前者は種鶏用であるためヒナに対して能動免疫の付与ができず、後者は接種に手間がかかるという難点がある。（参照 2、3）

鶏大腸菌血清型 O1 の菌株を用いたトランスポゾンのランダム挿入変異株の解析から、cAMP レセプタータンパク質をコードする *crp* 遺伝子が、本菌のβ溶血性の表現型及び鶏に対する病原性発現に関与することが明らかにされている。そこで、野外分離株（J29 株。以下「親株」という。）の染色体上にある完全な *crp* 遺伝子を、親株 *crp* 遺伝子から遺伝子改変された欠損変異型 *crp* 遺伝子（以下「*Δcrp* 遺伝子」という。）を挿入したプラスミドベクターを用いて形質転換させた大腸菌との接合によって *Δcrp* 遺伝子に置き

---

[1] 野外分離株（J29 株）を親株とし、その染色体上の *crp* 遺伝子を欠損変異型 *crp* 遺伝子に置き換えた変異株である。

換え、さらにコロニー選択により *crp* 遺伝子欠損変異株である製造用株を作出した（セルフクローニング[2]及びナチュラルオカレンス[3]に該当。）（参照 5、6）。製造用株を鶏に噴霧投与した場合、製造用株は呼吸器系に数日間のみ定着して免疫を惹起し、投与４日後には消失することが確認されている。また、採卵鶏へ噴霧投与した場合、製造用株の卵内への移行、産卵率の低下等は認められなかった。これらのことから、簡便でかつ短時間に多数のヒナに対して投与可能な噴霧又は散霧の用法が適用可能なワクチンとして、本製剤が開発された。

海外では、本製剤と類似の鶏大腸菌弱毒生ワクチンが使用されている。

Ⅱ．安全性に係る知見の概要

１．ヒトに対する安全性

（１）主剤について（参照 2、3、7、8）

主剤の製造用株は、親株の *crp* 遺伝子を、形質転換させた大腸菌との接合及びコロニー選択により、親株由来の *crp* 遺伝子から PCR を用いて *crp* 遺伝子のオープンリーディングフレーム（ORF）の中心部分に相当する塩基を欠損させて作出された *Δcrp* 遺伝子に置き換えて作出されたものである。作出に用いられたプラスミドは製造用株には残存しておらず、製造用株の塩基配列は全て大腸菌由来である。また、自然状態において、一定の頻度で *crp* 遺伝子の欠損変異株が分離されることが報告されている。これらのことから、製造用株において、遺伝子を置き換えることに起因する安全性上の新たな懸念は生じないものと考えられた。

鶏大腸菌症の起因菌である大腸菌株は、ヒトに対して病原性を示す大腸菌株とは保有する病原因子が異なるとされている。大腸菌の血清型 O78 においても、鶏大腸菌症由来株とヒトの毒素原性大腸菌感染症由来株との間で H 抗原や病原性遺伝子の保有パターンが異なるとの報告がある。一般に、ヒトに対する病原性大腸菌は腸管毒素原性大腸菌（ETEC）、腸管侵入性大腸菌（EIEC）、腸管病原性大腸菌（EPEC）、腸管出血性大腸菌（EHEC）及び腸管凝集接着性大腸菌（EAEC）の５種類に分類され、それぞれ同定可能な独自の病原因子を保有している。製造用株は、ヒトの病原性大腸菌の病原性遺伝子である *eaeA*、*stx1*、*stx2*、*LT*、*ST*、*astA*、*aggR* 及び *virA* を保有していないことから、ヒトに対する病原性大腸菌には相当しない。また、製造用株は、親株より鶏体内への定着性が減弱しており、ヒナに２回噴霧投与した場合でも投与４日後には消失することが認められている。これらのことから、製造用株はヒトに対して病原性を示さないものと考えられた。

---

[2] 同種の核酸のみを用いて加工する技術。用いる遺伝子組換え技術がセルフクローニングに該当する場合、遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律（以下「カルタヘナ法」という。）の対象とする技術から除外されている。（参照 5）

[3] 異種の核酸を用いた場合であっても、自然条件で核酸を交換することが知られている種の核酸のみを用いて加工する技術。用いる遺伝子組換え技術がナチュラルオカレンスに相当する場合、カルタヘナ法の対象とする技術から除外されている。（参照 5）

（2）添加剤について（参照 9～12）

本製剤に安定剤として使用されている添加剤のうち、D-ソルビトールは過去に動物用医薬品の添加剤として用いられており、食品安全委員会で評価されている（参照 9）。脱脂粉乳は、通常食品としても摂取されている。酵母エキスは、酵母を原料として自己消化や酵素添加により分解してエキス化したもので、食品として広く利用され摂取されている（参照 10～12）。

以上のことから、本製剤に含まれている添加剤は、物質の使用状況、既存の毒性評価及び本製剤の投与量を考慮すると、本製剤の含有成分として摂取した場合の健康影響は無視できると考えられる。

2．鶏に対する安全性

（1）鶏に対する安全性試験（参照 2、13）

SPF 鶏ひな（白色レグホン、1 日齢、雌雄計 30 羽/群）を用いて、本製剤の試作ワクチンの常用量[4]又は 100 倍量[5]をそれぞれ 3 週間隔で 2 回噴霧投与し、本製剤の安全性試験が実施された。対照群には溶解用液を投与した[6]。試験期間中、臨床観察を実施した。体重は、初回投与時、初回投与 7 及び 14 日後、第 2 回投与時、第 2 回投与 7 及び 14 日後の計 6 回測定された。また、各回投与 1、7 及び 14 日後に各群 5 羽[7]を剖検及び病理組織学的検査に用いた。

各投与群それぞれ 1 例が死亡した。常用量群における死亡例では、卵黄遺残及び筋胃炎に加えて削痩及び下痢が、100 倍量群における死亡例では、上部消化器及び皮下の水腫を伴った血管炎及び血管周囲炎並びに肝細胞の萎縮及び発育不良が観察された。これらの所見と死亡原因との関係は不明であるが、鶏大腸菌症に罹患した場合の典型的な病理変化像が認められなかったことから製造用株に起因する鶏大腸菌症ではなく、偶発的な事態等により衰弱した結果として突然死したものと考えられた。

その他に一般状態、体重及び剖検において投与に起因すると思われる変化はみられなかった。病理組織学的検査では、両投与群の鼻腔、肺及び気嚢に軽度又は中等度の炎症性変化（偽好酸球浸潤及びリンパ球浸潤）がみられたが、変化は一過性であり速やかに消失した。

---

4 試作ワクチン（1,000 羽分）を 300 mL の溶解用液に溶解し、1 羽当たり 0.3 mL ずつ投与。生菌数は、初回投与：8.4×10^7 CFU/羽、第 2 回投与：5.3×10^7 CFU/羽であった。

5 試作ワクチン（1,000 羽分）を 3 mL の溶解用液に溶解し、1 羽当たり 0.3 mL ずつ投与。生菌数は、初回投与：8.1×10^9 CFU/羽、第 2 回投与：5.4×10^9 CFU/羽であった。

6 溶解用液を 1 羽当たり 0.3 mL ずつ投与。

7 初回投与 6 日後に常用量群の 1 羽、同 7 日後に 100 倍量群の 1 羽が死亡したため、それぞれ同日に剖検した。その結果、第 2 回投与 14 日後の剖検は、常用量群及び 100 倍量群ともに 4 羽ずつ実施された。

（2）鶏に対する臨床試験　（参照 2、14）

鶏大腸菌症野外株の侵襲が認められた 1 施設及び鶏大腸菌症の発生が認められなかった 3 施設において、計 124,716 羽（63,208 羽/試験群、61,508 羽/対照群）の鶏を用いて本製剤の臨床試験が実施された。本製剤の試作ワクチン[8]を、試験群の初生ひなに初回は噴霧投与、第 2 回は初回投与 3～4 週後に噴霧又は散霧投与し、対照群は非投与とした。本試験における投与方法及び投与時期を、表 1 に示した。

各投与後 14 日間にわたり一般状態（元気、食欲、呼吸器及び消化器症状）について観察し、育成率、体重（初回及び第 2 回投与時、第 2 回投与 2 週後、出荷時の計 4 回）等について調査した。

表 1　鶏の臨床試験における投与方法及び投与時期

		施設 1	施設 2	施設 3	施設 4
投与方法	初回	噴霧	噴霧	噴霧	噴霧
	第 2 回	散霧	散霧	噴霧	噴霧
投与時期	初回	初生	初生	初生	初生
	第 2 回	3 週齢	3 週齢	4 週齢	4 週齢

その結果、異なる 4 施設で本製剤の試作ワクチンを投与された試験群 63,208 羽について、各回投与後 14 日間にわたり投与に起因する一般状態の異常は認められず、また、最終出荷までの育成率、増体重等に異常は認められなかったことから、本製剤の投与における鶏の安全性に問題はないものと考えられた。

3．その他　（参照 1、2、7）

本製剤の小分製品の規格として、夾雑菌否定試験、4 日齢の鶏を用いた安全性試験等が設定され、それらの試験が実施された結果、問題のないことが確認されている。さらに、これらの試験は製造方法にも規定されており、製造時に規格への適合性が確認されることとなっている。

また、本製剤の主剤（製造用株）について病原性復帰及び性状の安定性が調べられており、鶏に噴霧投与して、10 代継代した主剤（製造用株）の病原性復帰は認められないこと及び性状は安定であることが確認されている。

[8] 1 バイアル（1,000 羽分）中の成分・含有量：[主剤] 鶏大腸菌 AESN1331 株（1×10^{10} CFU 以上）、[安定剤] 脱脂粉乳（100 mg）、酵母エキス（50 mg）、ソイビーン・カゼインダイジェストブロス（60 mg）、D-ソルビトール（100 mg）

Ⅲ. 食品健康影響評価

主剤の製造用株は、親株の *crp* 遺伝子を欠損型の *Δcrp* 遺伝子に置き換えて作出されたもので、その塩基配列は全て大腸菌由来である。また、自然状態において、一定の頻度で *crp* 遺伝子の欠損変異株が分離されることが報告されている。これらのことから、製造用株において、遺伝子を置き換えることに起因する安全性上の新たな懸念は生じないものと考えられた。

鶏大腸菌症は鶏及び七面鳥の感染性疾病で、大腸菌の血清型 O78 において、鶏大腸菌症由来株とヒトの毒素原性大腸菌感染症由来株との間で H 抗原や病原性遺伝子の保有パターンが異なるとの報告がある。また、製造用株は、ヒトの病原性大腸菌の病原性遺伝子を保有していないことから、ヒトに対する病原性大腸菌には相当しない。さらに、製造用株は、親株より鶏体内への定着性が減弱しており、ヒナに 2 回噴霧投与した場合でも投与 4 日後には消失することが認められている。これらのことから、製造用株はヒトに対して病原性を示さないものと考えられた。

本製剤の安定剤として使用されている添加剤については、物質の使用状況、既存の毒性評価及び本製剤の投与量を考慮すると、本製剤の含有成分として摂取した場合の健康影響は無視できると考えられる。

また、製造用株の病原性復帰は認められないこと及び性状は安定であることが確認されている。

以上のことから、本製剤が適切に使用される限りにおいては、食品を通じてヒトの健康に影響を与える可能性は無視できるものと考えられる。

〈別紙：検査値等略称〉

略称等	名称
cAMP	環状アデノシン一リン酸
CFU	コロニー形成単位（colony-forming unit）
ORF	オープンリーディングフレーム
PCR	ポリメラーゼ連鎖反応

〈参照〉

1. 日生研株式会社. 動物用医薬品製造販売承認申請書 ガルエヌテクト CBL（未公表）
2. 日生研株式会社. 動物用医薬品製造販売承認申請書 ガルエヌテクト CBL 添付資料概要（未公表）
3. 日生研株式会社. 動物用医薬品製造販売承認申請書 ガルエヌテクト CBL 添付資料 1 起源又は発見の経緯（未公表）
4. 中澤宗生. “鶏の大腸菌症”、動物の感染症、小沼操、明石博臣、菊池直哉、澤田拓士、杉本千尋、宝達勉編. 第二版、近代出版、2006 年、p.220
5. 環境省 HP: 遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律の解説. 平成 19 年 4 月 1 日修正 (http://www.bch.biodic.go.jp/download/law/070401law_manual_ver5.pdf)
6. 農林水産省消費・安全局. 「セルフクローニング及びナチュラルオカレンスに該当すると判断された大腸菌株、ウイルス株について」（平成 19 年 2 月 1 日）
7. 日生研株式会社. 動物用医薬品製造販売承認申請書 ガルエヌテクト CBL 添付資料 2 物理的、化学的試験に関する資料（未公表）
8. 日生研株式会社. 鶏大腸菌症生ワクチン（ガルエヌテクト CBL）に関する追加資料（未公表）
9. 食品安全委員会. 「食品健康影響評価の結果の通知について」（平成 18 年 11 月 16 日付府食第 914 号）：（別紙）動物用医薬品評価書 鶏のトリニューモウイルス感染症生ワクチン（ノビリス TRT・1000）の再審査に係る食品健康影響評価について、2006 年
10. 酵母エキス. 第十六改正日本薬局方（平成 23 年 3 月 24 日 厚生労働省告示第 65 号）
11. 酵母エキス. 微生物学・分子生物学辞典、朝倉書店. 1997 年、p. 334
12. 酵母エキス. 丸善食品総合辞典、丸善株式会社. 平成 10 年、p. 385
13. 日生研株式会社. 動物用医薬品製造販売承認申請書 ガルエヌテクト CBL 添付資料 9 安全性に関する資料（未公表）
14. 日生研株式会社. 動物用医薬品製造販売承認申請書 ガルエヌテクト CBL 添付資料 14 臨床試験に関する資料（未公表）

厚生労働省発食安１０２３第２号
平成２４年１０月２３日

薬事・食品衛生審議会
会長　望月　正隆　殿

厚生労働大臣　　三井　辨雄

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

ラクトフェリン

平成２４年１２月２０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２４年１０月２３日付け厚生労働省発食安１０２３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項の規定に基づくラクトフェリンに係る食品規格（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。

ラクトフェリン

今般の残留基準の検討については、本剤が動物用医薬品として製造販売の承認申請がなされたことに伴い、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：ラクトフェリン［ Lactoferrin ］

（2）用途：牛の分娩直後の乳房炎発生率の低減

本剤は、有効成分として凍結乾燥した牛乳由来ラクトフェリンを含む乳房注入剤である。ラクトフェリン[1]は、主に乳汁中に存在する糖タンパク質であり、689個のアミノ酸残基から構成される一本のポリペプチド鎖でその分子量は約83kDa（83,100±400）とされている。

（3）有効成分の一般名：

和名：ラクトフェリン

英名：Lactoferrin

（4）適用方法及び用量

国内でのラクトフェリンの使用対象動物及び使用方法等を以下に示す。

対象動物及び使用方法		休薬期間
牛	1分房当たり10mL（ラクトフェリンとして200mg）を乾乳後7～14日の乳房内に単回注入	なし

（5）諸外国における使用状況

海外において、ラクトフェリンを有効成分とする動物用医薬品の承認はない。ラクトフェリンは、牛乳中に通常含まれているほか、乳製品等の食品、化粧品等に使用されている。また、米国食品医薬品庁（FDA）は、ラクトフェリンを、「一般的に安全と認められる(GRAS: Generally Recognized as Safe)」物質として牛の未調理肉の微生物汚染を防ぐことを目的とするスプレー剤並びにスポーツ用食品及び機能性食品の成分としての使用を認めている。

国内では、ラクトフェリンを含有する食品等があり、ラクトフェリン濃縮物 が食品添加物（既存添加物）として使用されている。

2．対象動物における薬物動態試験

① 乾乳7日後の牛にラクトフェリンが全分房に単回乳房内投与(1分房当たり400 mg (2倍量)) された。対照群（3頭/群）は無処置とした。投与直前、1、2及び3日前（投

[1] 本報告書において、特段の記載のない限り牛乳由来のラクトフェリンを指す。

与3 日前は3 時間間隔で3 回測定)、投与0.5、1、2、3、6、12、24、36、48、72、96、120、144 及び168 時間後の血清中ラクトフェリン濃度を、ELISA 法により測定した。

ラクトフェリンは、本剤投与の有無に関係なく血清中に検出されたが、その濃度には個体差が認められた。また、対照群の 2 時間後及び 2 倍量群の 6 時間後において、投与前の値と投与後の値との間に有意差が認められた（$p<0.05$）が、濃度の上昇は個体間の変動と同程度であった。

表 1　乳房内投与前後の血清中ラクトフェリン濃度の経時的推移（μg/mL）

試験群	個体番号	投与後（時間）							
		投与前注)	0.5	1	2	3	6	12	24
対照群	①	0.065	0.082	0.082	0.122	0.132	0.118	0.104	0.082
	②	0.073	0.056	0.060	0.105	0.089	0.083	0.093	0.068
	③	0.074	0.091	0.118	0.148	0.194	0.125	0.111	0.077
	平均	0.071	0.076	0.087	0.125	0.138	0.109	0.103	0.076
2倍量群	④	0.306	0.327	0.314	0.370	0.321	0.426	0.690	0.356
	⑤	0.080	0.066	0.072	0.094	0.111	0.175	0.181	0.114
	⑥	0.164	0.240	0.237	0.677	0.393	0.313	0.272	0.215
	平均	0.183	0.211	0.208	0.380	0.275	0.305	0.381	0.228

試験群	個体番号	投与後（時間）						
		36	48	72	96	120	144	168
対照群	①	0.086	0.116	0.098	0.080	0.081	0.060	0.076
	②	0.078	0.081	0.110	0.075	0.101	0.127	0.085
	③	0.073	0.094	0.107	0.070	0.101	0.134	0.112
	平均	0.079	0.097	0.105	0.075	0.094	0.107	0.091
2倍量群	④	0.339	0.783	0.493	0.352	0.407	0.379	0.309
	⑤	0.127	0.126	0.136	0.130	0.142	0.173	0.197
	⑥	0.168	0.142	0.112	0.097	0.129	0.142	0.157
	平均	0.211	0.350	0.247	0.193	0.226	0.231	0.221

注）投与前とは、投与直前、投与1、2 及び3 日前（投与3 日前は3 時間間隔で3 回測定）のラクトフェリン濃度の平均を指す。

3．対象動物における残留試験

（1）分析の概要

① 分析対象の化合物

・ラクトフェリン

② 分析法の概要

抗ラクトフェリン抗体を用いたELISA 法により、乳汁中の残留性が検討されている。

定量限界：7.8 ng/mL

（2）残留試験結果

① 乾乳期の乳牛にラクトフェリン製剤を分娩予定46 日前（乾乳7 日後）に単回乳房内投与（ラクトフェリンとして1 分房当たり200 mg（常用量））し、乳汁中ラクトフェリン残留が検討された。

ラクトフェリンは、本剤投与の有無にかかわらず乳汁中に検出された。また、各時点における全個体の無処置分房と本剤投与分房の間には、乳汁中ラクトフェリン濃度に差は認められなかった（$p>0.05$）。

これらのことから、本剤は、乾乳期の乳牛に単回乳房内投与される場合、分娩後の乳汁への移行はバックグラウンド値以下である。

表 2　単回乳房内投与(常用量)における分娩後の乳汁中ラクトフェリン濃度(μg/mL)

個体番号	投与量(mg)	投与後分娩まで(日)	試験対象(分房)	分娩後日数									
				1	2	3	4	5(朝)	5(夜)	6(朝)	6(夜)	7(朝)	7(夜)
①	0	56	右前	133	163	230	202	179	121	113	125	111	90
	0		左前	67	66	68	59	45	36	38	37	36	32
	200		左後	64	62	62	53	39	38	34	37	31	30
②	0	46	右前	271	128	136	139	198	141	130	132	158	75
	0		左前	271	161	143	160	247	236	223	197	194	127
	200		左後	379	368	269	227	125	111	92	104	84	202
③	0	45	右前	41	41	43	32	19	19	16	29	14	14
	0		左前	68	65	52	33	22	20	18	17	15	17
	200		右後	92	83	89	67	47	31	50	64	27	25
	200		左後	252	246	238	147	137	96	104	84	78	66
④	0	45	右前	97	60	72	104	145	122	124	111	97	84
	0		左前	153	65	62	70	84	77	86	65	72	69
	200		右後	152	61	51	63	74	73	72	65	64	57
	200		左後	111	107	65	96	91	84	76	70	80	67
⑤	0	46	右前	539	434	846	556	444	282	327	246	177	159
	0		左前	123	95	88	89	83	79	67	59	48	42
	200		右後	362	321	315	382	484	895	480	390	226	315
	200		左後	754	989	911	987	904	1848	917	1074	710	761

注）乳房炎と診断された分房（①牛の右後、②牛の右後）から採取した乳汁は検査対象外とした。
分娩後5日以内の乳は「乳及び乳製品の成分規格等に関する省令」により販売が禁止されている。

② 乾乳期の乳牛にラクトフェリン製剤を分娩予定46 日前（乾乳14 日後）に単回乳房内投与（ラクトフェリンとして1 分房当たり200 mg（常用量））し、乳汁中ラクトフェリン残留が検討された。

ラクトフェリンは、本剤投与の有無にかかわらず乳汁中に検出された。また、各時点における全個体の無処置分房と本剤投与分房の間には、乳汁中ラクトフェリン濃度に差は認められなかった（$p>0.05$）。

これらのことから、本剤は、乾乳期の乳牛に単回乳房内投与される場合、分娩後の乳汁への移行はバックグラウンド値以下である。

表 3　単回乳房内投与(常用量)における分娩後の乳汁中ラクトフェリン濃度(μg/mL)

個体番号	投与量(mg)	投与後分娩まで(日)	試験対象(分房)	分娩後日数									
				1	2	3	4	5(朝)	5(夜)	6(朝)	6(夜)	7(朝)	7(夜)
⑥	0	35	右前	42	51	57	49	51	60	65	59	78	69
	0		左前	55	63	65	78	67	68	66	67	66	56
	200		右後	77	104	81	57	119	109	126	87	80	78
	200		左後	79	91	76	64	84	105	91	96	82	123
⑦	0	37	右前	960	680	371	344	233	272	226	348	385	336
	0		左前	991	407	209	184	175	210	166	166	159	127
	200		右後	1646	275	164	149	138	190	161	194	165	139
	200		左後	770	558	348	249	270	168	321	186	201	197
⑧	0	45	右前	303	204	183	427	476	337	361	337	293	198
	0		左前	186	132	323	203	135	109	91	105	99	153
	200		右後	320	165	183	198	134	117	87	107	94	106
	200		左後	373	190	248	354	184	203	143	160	110	150
⑨	0	63	右前	279	115	66	45	37	36	36	28	32	41
	0		左前	874	348	164	131	92	87	92	76	84	69
	200		右後	693	991	619	786	455	474	428	402	331	582
	200		左後	205	158	134	286	170	400	164	267	153	160

注)　分娩後5日以内の乳は「乳及び乳製品の成分規格等に関する省令」により販売が禁止されている。

3．食品安全委員会の評価

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ラクトフェリンに係る食品健康影響評価について、以下のとおり評価されている。

ヒトにおけるラクトフェリンに対するIgEの同定及び牛乳アレルギーを有する子供における特異IgE抗体の頻度の増加が報告されている。しかし、酸性条件下でペプシンにより加水分解されることから、ヒトが経口摂取した場合のアレルゲン性は比較的高いものではないと考えられる。

また、乾乳期の乳牛にラクトフェリン製剤を乳房内投与した薬物動態試験及び残留試験において、血清及び乳汁中のラクトフェリンは、被験物質投与の有無にかかわらず検出された。血清中ラクトフェリン濃度は、投与前と投与後の各時点との間に有意差は認められなかった。また、乳汁中ラクトフェリン濃度は、各時点における被験物質投与分房と非投与分房の間に有意差は認められなかった。これらのことから、ラクトフェリンが動物用医薬品として投与された牛に由来する乳や肉等の畜産食品中に、通常含まれる以上のラクトフェリンが含有される可能性は低いと考えられる。

さらに、ラクトフェリンについては、ラクトフェリン濃縮物が食品添加物（既存添加物）として使用されているほか、乳製品等の食品にも含有され、また、食品に使用

され、ヒトが日常的に摂取してきているものである。

したがって、動物用医薬品として適切に使用されたラクトフェリンが、アレルギーを含む畜産食品のリスクを増加させることはないものと考えられた。

以上のことから、ラクトフェリンは動物用医薬品として適切に使用される限りにおいては、食品を通じてヒトの健康に影響を与える可能性は無視できるものと考えられる。

4．基準値の取扱い

ラクトフェリンは、牛乳中に通常含まれるほか、国内ではラクトフェリン濃縮物が食品添加物（既存添加物）として使用されており乳製品等の食品に含まれている。このため、ラクトフェリンについては食品、添加物等の規格基準（昭和34年厚生省告示第370号）第1食品の部A食品一般の成分規格8で規定している「農薬等の成分である物質が自然に食品に含まれる物質と同一であるとき、当該食品において当該物質が含まれる量は、当該食品に当該物質が通常含まれる量を超えてはならない。」（以下、「一般規則8」という）の適用の可否についても検討を行った。

食品安全委員会の食品健康影響評価において言及されているとおり、動物用医薬品として適切に使用される限りにおいては、投与された牛に由来する乳や肉等の畜産食品中に、通常含まれる以上のラクトフェリンが含有される可能性は低いと考えられる。ただし、食品添加物（既存添加物）としてラクトフェリン濃縮物が使用されているほか、乳製品等の食品にも含有されるなど、ラクトフェリンは人が日常的に摂取してきているものである。さらに、各種毒性試験において特に問題となる毒性影響は認められておらず、人が経口摂取した場合であっても酸性条件下においてはペプシンにより速やかに加水分解されることが報告されているなど、食品を通じて人の健康に影響を与える可能性は考えにくい。

したがって、ラクトフェリンを動物用医薬品として使用した場合に、人の健康を損なうおそれがあるとは考えにくいことから、残留基準を設定しないことが適当であると考えられる。ただし、食品添加物として使用されていること等を踏まえると食品衛生法第11条第3項の規定により人の健康を損なうおそれのないことが明らかであるものとして取り扱うことを別途検討することが適当であると考えられる。

（参考）

これまでの経緯

平成２３年　４月２８日	農林水産大臣から厚生労働大臣あてに動物用医薬品の承認及び使用基準の設定について意見聴取 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２４年　４月　５日	食品安全委員会委員長から厚生労働省大臣へ通知
平成２４年１０月２３日	薬事・食品衛生審議会へ諮問
平成２４年１１月２７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・食品担当主任研究員
○大野　泰雄	国立医薬品食品衛生研究所長
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准教授
佐藤　清	一般財団法人残留農薬研究所業務執行理事・化学部長
高橋　美幸	農業・食品産業技術総合研究機構動物衛生研究所上席研究員
永山　敏廣	東京都健康安全研究センター食品化学部長
廣野　育生	東京海洋大学大学院海洋科学技術研究科教授
松田　りえ子	国立医薬品食品衛生研究所食品部長
宮井　俊一	一般社団法人日本植物防疫協会技術顧問
山内　明子	日本生活協同組合連合会執行役員組織推進本部長
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	東北大学大学院薬学研究科医療薬学講座薬物動態学分野准教授
鰐渕　英機	大阪市立大学大学院医学研究科都市環境病理学教授

（○：部会長）

答申（案）

ラクトフェリンについては、食品規格（食品中の動物用医薬品の残留基準）を設定しないことが適当である。ただし、食品衛生法第１１条第３項の規定により人の健康を損なうおそれのないことが明らかであるものとして取り扱うことを別途検討することが適当である。

府食第３４３号
平成２４年４月５日

厚生労働大臣
小宮山　洋子　殿

食品安全委員会
委員長　　小泉　直子

食品健康影響評価の結果の通知について

平成２３年４月２８日付け厚生労働省発食安０４２８第４号をもって貴省から当委員会に意見を求められたラクトフェリン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

ラクトフェリンは動物用医薬品として適切に使用される限りにおいては、食品を通じてヒトの健康に影響を与える可能性は無視できるものと考えられる。

動物用医薬品評価書

ラクトフェリン

２０１２年４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．分子量 ……5
　４．使用状況等 ……5

Ⅱ．安全性に係る知見の概要 ……5
　１．薬物動態試験 ……6
　（１）薬物動態試験（マウス：分布） ……6
　（２）薬物動態試験（マウス：代謝） ……6
　（３）薬物動態試験（ラット：分布） ……6
　（４）薬物動態試験（ラット：代謝） ……7
　（５）薬物動態試験（牛：吸収、乳房内投与） ……7
　（６）薬物動態試験（牛：分布、乳房内投与） ……8
　２．残留試験 ……9
　（１）残留試験（牛①） ……9
　（２）残留試験（牛②） ……10
　３．遺伝毒性試験 ……12
　４．急性毒性試験 ……13
　（１）急性毒性試験（ラット） ……13
　５．亜急性毒性試験 ……13
　（１）4 週間亜急性毒性試験（ラット） ……13
　（２）13 週間亜急性毒性試験（ラット） ……13
　（３）14 日間亜急性毒性試験（ラット）　＜参考データ＞ ……14
　（４）13 週間亜急性毒性試験（ラット）　＜参考データ＞ ……14
　６．慢性毒性試験及び発がん性試験 ……15
　（１）40 週間慢性毒性試験（ラット）　＜参考データ＞ ……15
　（２）60 週間慢性毒性試験（ラット）　＜参考データ＞ ……15
　７．生殖発生毒性試験 ……15
　（１）発生毒性試験（ラット）　＜参考データ＞ ……15
　８．一般薬理試験 ……16
　（１）一般行動への影響（マウス、腹腔内投与） ……16
　（２）一般状態への影響（ウサギ、静脈内投与） ……16

（3）心拍数、血圧及び呼吸数への影響（ウサギ、静脈内投与）……16
（4）薬理作用について……16
9．ヒトへの影響……17
（1）妊婦への影響（30 日間経口投与）……17
（2）アレルゲン性について……18

Ⅲ．食品健康影響評価……19
1．薬物動態試験及び残留試験について……19
2．毒性学的影響について……20
（1）遺伝毒性試験……20
（2）亜急性毒性試験……20
（3）慢性毒性試験……20
（4）発がん性試験……20
（5）生殖発生毒性試験……20
（6）アレルゲン性について……20
3．FDA における評価……21
4．食品健康影響評価について……21

・別紙：検査値等略称……22
・参照……23

〈審議の経緯〉

2011年　5月 10日 厚生労働大臣より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0428第4号）、関係資料の接受
2011年　5月 12日 第381回食品安全委員会（要請事項説明）
2011年　6月 24日 第132回動物用医薬品専門調査会
2011年　9月 28日 第134回動物用医薬品専門調査会
2012年　2月 23日 第420回食品安全委員会（報告）
2012年　2月 23日 より 3月23日　国民からの御意見・情報の募集
2012年　4月　2日 動物用医薬品専門調査会座長より食品安全委員会委員長へ報告
2012年　4月　5日 第426回食品安全委員会
（同日付で厚生労働大臣に通知）

〈食品安全委員会委員名簿〉

（2011年1月7日から）
小泉 直子（委員長）
熊谷 進　（委員長代理*）
長尾 拓
野村 一正
畑江 敬子
廣瀬 雅雄
村田 容常

*：2011年1月13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名簿〉

（2011年9月30日まで）		（2011年10月1日から）	
三森 国敏（座長）		三森 国敏（座長）	
寺本 昭二（座長代理）		山手 丈至（座長代理）	
石川 さと子	福所 秋雄	石川 さと子	福所 秋雄
石川 整	舞田 正志	石川 整	舞田 正志
小川 久美子	松尾 三郎	小川 久美子	松尾 三郎
寺岡 宏樹	山口 成夫	寺本 昭二	山口 成夫
天間 恭介	山崎 浩史	天間 恭介	山崎 浩史
頭金 正博	山手 丈至	頭金 正博	渡邊 敏明
能美 健彦	渡邊 敏明	能美 健彦	

要　約

牛の乳房炎用剤であるラクトフェリンについて、製造販売承認申請書添付資料等を用いて食品健康影響評価を実施した。

ラクトフェリンは、ヒト、牛等の哺乳動物において主に乳汁中に存在する糖タンパク質である。

ラクトフェリンは遺伝毒性試験の *in vivo* 試験が実施されていないが、*in vitro* の復帰突然変異試験では陰性の結果が得られている。

各種動物における毒性試験の結果から得られた NOAEL は、ラットを用いた 4 週間及び 13 週間亜急性毒性試験における最高用量の 2,000 mg/kg 体重/日であった。

ラクトフェリンは、牛乳中アレルゲンとして主要なものとは考えられないものの、ヒトにおけるラクトフェリンに対する IgE の同定及び牛乳アレルギーを有する子供における特異 IgE 抗体の頻度の増加が報告されている。しかし、酸性条件下でペプシンにより加水分解されることから、ヒトが経口摂取した場合のアレルゲン性は比較的高いものではないと考えられる。

また、乾乳期の乳牛にラクトフェリン製剤を乳房内投与した薬物動態試験及び残留試験において、血清及び乳汁中のラクトフェリンは、被験物質投与の有無にかかわらず検出された。血清中ラクトフェリン濃度は、投与前と投与後の各時点との間に有意差は認められなかった。また、乳汁中ラクトフェリン濃度は、各時点における被験物質投与分房と非投与分房の間に有意差は認められなかった。これらのことから、ラクトフェリンが動物用医薬品として投与された牛に由来する乳や肉等の畜産食品中に、通常含まれる以上のラクトフェリンが含有される可能性は低いと考えられる。

さらに、ラクトフェリンについては、ラクトフェリン濃縮物が食品添加物（既存添加物）として使用されているほか、乳製品等の食品にも含有され、また、食品に使用され、ヒトが日常的に摂取してきているものである。

したがって、動物用医薬品として適切に使用されたラクトフェリンが、アレルギーを含む畜産食品のリスクを増加させることはないものと考えられた。

以上のことから、ラクトフェリンは動物用医薬品として適切に使用される限りにおいては、食品を通じてヒトの健康に影響を与える可能性は無視できるものと考えられる。

Ⅰ．評価対象動物用医薬品の概要

1．用途　（参照 1）

乳房炎用剤

2．有効成分の一般名　（参照 1）

和名：ラクトフェリン[1]

英名：Lactoferrin

3．分子量　（参照 2）

約 83 kDa[2]（83,100±400）

4．使用状況等

ラクトフェリンは、赤色の糖タンパク質で、1939 年に牛乳の乳清画分から発見され、1960 年に母乳由来のラクトフェリン及び牛乳由来のラクトフェリンが初めて単離された。主に乳汁中に存在するほか、乳汁以外にも種々の分泌液、血清中に存在している。ラクトフェリンは、689 個のアミノ酸残基から構成される一本のポリペプチド鎖である。この立体構造は、類似した N ローブ及び C ローブと呼ばれる領域から構成され、二つの領域にはそれぞれ一つの 3 価鉄イオン（Fe^{3+}）及び一つの重炭酸イオン（CO_3^{2-}）との結合部位を有する。また、ラクトフェリンはヒト由来ラクトフェリン（692 個のアミノ酸残基）と 69 %のアミノ酸相同性を有する。（参照 2、4、5）

国内外において、ラクトフェリンを有効成分とする動物用医薬品の承認はない。ラクトフェリンは、牛乳中に通常含まれているほか、乳製品等の食品、化粧品等に使用されている。また、米国食品医薬品庁（FDA）は、ラクトフェリンを、「一般的に安全と認められる(GRAS: Generally Recognized as Safe)」物質として牛の未調理肉の微生物汚染を防ぐことを目的とするスプレー剤並びにスポーツ用食品及び機能性食品の成分としての使用を認めている。（参照 6～8）日本では、ラクトフェリンを含有する食品等があり、ラクトフェリン濃縮物[3]が食品添加物（既存添加物）として使用されている。（参照 3、9）

今回、牛の分娩直後の乳房炎発生率の低減を目的としたラクトフェリンを有効成分とする牛の乳房注入剤の承認申請が行われたことに伴い、厚生労働省より残留基準設定に係る評価が要請されたものである。

Ⅱ．安全性に係る知見の概要

本評価書では、製造販売承認申請書添付資料等をもとに、毒性に関する主な知見を整理した。検査値等略称を別紙に示した。

---

1 本評価書において、特段の記載がない限り牛乳由来のラクトフェリンを指す。

2 ダルトン（ドルトン）：1 モル中に含まれる原子の数は各物質について等しく、$N=6.02\times10^{23}$（アボガドロ数）である。水素原子の 1 モルは 1 g/L であるので、アボガドロ数の逆数に g をつけたもの（1.67×10^{-24}）は、水素原子 1 個の質量に相当し、1 ダルトンという。主として核酸のような高分子物質で、1 分子という概念にあてはめることが難しいものに用いられる単位。（参照 3）

3 ほ乳類の乳から得られた、ラクトフェリンを主成分とするもの。（参照 9）

1．薬物動態試験

（1）薬物動態試験（マウス：分布）

マウス（BALB/c系、10～15週齢、雌20匹/群）をグループ1及び2に分類し、グループ1には水のみ、グループ2にはラクトフェリン1mg（鉄飽和率17％）が4週間経口投与された。その後、両グループは2日間の投与中止後、ラクトフェリン1mgが単回胃内投与された（単回投与前5時間は両グループに給餌せず）。単回胃内投与0～60分後の末梢血、脳、脾臓、肝臓、胆嚢及び腎臓並びに胃、小腸、盲腸及び大腸の各内容物中のラクトフェリン濃度が、ELISA法により測定された。

ラクトフェリン単回胃内投与前の胃及び近位腸の内容物中ラクトフェリン濃度はグループ1よりもグループ2の方が有意に低かった。その他の遠位腸、盲腸及び大腸ではいずれのグループもラクトフェリンが不検出であった。単回胃内投与60分後では、いずれのグループも胃内容物中ラクトフェリン濃度が最も高かったが、両グループ間で有意差は得られなかった。しかし、近位及び遠位腸、盲腸並びに大腸内容物中ラクトフェリン濃度はグループ1よりもグループ2の方が有意に低い結果が得られた。

末梢血中ラクトフェリン濃度は、グループ1よりもグループ2の方が有意に低い結果が得られた。

グループ1において、各臓器中のラクトフェリン濃度は、肝臓、腎臓及び脾臓中では投与10分後に、胆嚢及び脳中では投与20分後にピークに達した。また、肝臓中濃度はピーク時を含めて全測定時間において他の臓器よりも高かった。ピーク後、臓器中のラクトフェリン濃度は、肝臓を除いて、急速に低下し、投与から60分以内に投与前の値まで回復した。しかし、肝臓は、投与60分後でも相当量が検出された。グループ2では、各臓器中のラクトフェリンは、投与10分後にピークに達し、ピーク時の濃度は肝臓で他の臓器よりも高かった。（参照10）

（2）薬物動態試験（マウス：代謝）

マウス（BALB/c系、7週齢、雄5又は6匹/群）にラクトフェリンを添加した牛乳（ラクトフェリン最終濃度4％）又は無添加の牛乳を30日間、自由に摂取させた。30日後、糞便を採取し、表面増強レーザー脱離イオン化（SELDI）アフィニティー質量分析法により消化管内のラクトフェリン量が調べられた。

その結果、ラクトフェリン添加牛乳を投与されたマウス糞便中からは、ラクトフェリシン[4]領域を含む分解物の存在が少なくともpmol/gの濃度で確認されたが、正確な定量はできなかった。（参照11、12）

（3）薬物動態試験（ラット：分布）

投与前18時間絶食させたラット（F344系、9週齢、雄3匹/群）に、^{125}I標識ラクトフェリンを強制経口投与（200mg/kg体重）し、さらに投与後360分間絶食させ、その

[4] ラクトフェリンは、強酸存在下（pH 3.0）でペプシン消化すると様々なペプチドに加水分解される。特にラクトフェリンの17～41残基はラクトフェリシンと呼ばれ、強い殺菌作用を示す。ラクトフェリシンは分子量が約3.1kDaのペプチドで、1箇所のジスルフィド結合によりループ状の構造を有している。ラクトフェリシンは細胞膜構造の不安定化を誘導することによって殺菌的に作用すると考えられている。（参照13）

間を含む投与 5、20、60、180、360 及び 720 分後の生体内分布が、ラジオルミノグラフィーにより調べられた。

その結果、投与 20 及び 60 分後の放射活性は、肝臓及び腎臓をはじめ全身に分布していた。甲状腺ブロックを実施しなかったため、甲状腺における放射活性は投与 20～720 分後に高かった。全身では投与 180～720 分後で放射活性は減少し、膀胱からの大量の放射活性の排泄は投与 360 分後で明らかであった。(参照 14、15)

(4) 薬物動態試験 (ラット：代謝)

ラット (F344 系、9 週齢、雄 3 匹/群) にラクトフェリンを添加した牛乳 (ラクトフェリン最終濃度 40 mg/mL) を 1 週間、自由摂取させた。摂取 1 週間後、被験動物の消化管を摘出し、小腸を均等な長さに切断し、小腸中の薬物動態について SELDI アフィニティー質量分析法により調べられた。

摂取 1 週間後、ラクトフェリシン領域を含む分解物が胃、小腸上部及び下部において認められた。しかし、対照群ではラクトフェリシンを含む分解物は検出されなかった。

また、ラクトフェリン (200 mg/3 mL/kg 体重) を単回投与し、60 分後の消化管内におけるラクトフェリン濃度が測定された。その結果、小腸下部における分解物の濃度は少なくとも 1×10^{-11} mol/g であった。(参照 14)

(5) 薬物動態試験 (牛：吸収、乳房内投与)

乾乳 7 日後の牛 (ホルスタイン種、3 頭/群) にラクトフェリンが全分房に単回乳房内投与 (1 分房当たり 400 mg (2 倍量)) された。対照群 (3 頭/群) は無処置とした。投与直前、1、2 及び 3 日前 (投与 3 日前は 3 時間間隔で 3 回測定)、投与 0.5、1、2、3、6、12、24、36、48、72、96、120、144 及び 168 時間後の血清中ラクトフェリン濃度を、ELISA 法により測定した。測定結果を表 1 に示す。

表 1　牛におけるラクトフェリン乳房内投与前後の血清中ラクトフェリン濃度の経時的推移 (μg/mL)

試験群	個体番号	投与後 (時間)							
		投与前[1)]	0.5	1	2	3	6	12	24
対照群	501	0.065	0.082	0.082	0.122	0.132	0.118	0.104	0.082
	502	0.073	0.056	0.060	0.105	0.089	0.083	0.093	0.068
	503	0.094	0.091	0.118	0.148	0.194	0.125	0.111	0.077
平均		0.071	0.076	0.087	0.125	0.138	0.109	0.103	0.076
2 倍量群	504	0.306	0.327	0.314	0.370	0.321	0.426	0.690	0.356
	505	0.080	0.066	0.072	0.094	0.111	0.175	0.181	0.114
	506	0.164	0.240	0.237	0.677	0.393	0.313	0.272	0.215
平均		0.183	0.211	0.208	0.380	0.275	0.305	0.381	0.228

試験群	個体番号	投与後（時間）						
		36	48	72	96	120	144	168
対照群	501	0.086	0.116	0.098	0.080	0.081	0.060	0.076
	502	0.078	0.081	0.110	0.075	0.101	0.127	0.085
	503	0.073	0.094	0.107	0.070	0.101	0.134	0.112
平均		0.079	0.097	0.105	0.075	0.094	0.107	0.091
2倍量群	504	0.339	0.783	0.493	0.352	0.407	0.379	0.309
	505	0.127	0.126	0.136	0.130	0.142	0.173	0.197
	506	0.168	0.142	0.112	0.097	0.129	0.142	0.157
平均		0.211	0.350	0.247	0.193	0.226	0.231	0.221

1）投与前とは、投与直前、投与1、2及び3日前（投与3日前は3時間間隔で3回測定）のラクトフェリン濃度の平均を指す。

ラクトフェリンは、被験物質投与に関係なく血清中に検出されたが、その濃度には個体差が認められた。

両群において、投与前の値と投与後の各時点の値との間に有意差は認められなかった（$p>0.05$）。（参照 16）

（6）薬物動態試験（牛：分布、乳房内投与）

泌乳中期の牛（フィンランド・エアシャー種、6頭）にラクトフェリンを乳房内投与（ラクトフェリンとして1分房当たり1 g）し、経時的に乳汁中濃度が時間分解蛍光法（DELFIA法）により測定された。

乳汁中ラクトフェリン濃度の推移を表2に示した。ラクトフェリン投与後、乳汁中ラクトフェリン濃度は数時間で上昇した。ラクトフェリンの平均半減期は2.2時間、投与後1～4時間の間に平均最大濃度（6.3 mg/mL）に達した。投与8時間後には、ほぼ投与前の濃度に低下した。投与48時間後には再び投与前のラクトフェリン濃度よりも上昇し、平均1.5 mg/mLに達した。（参照 17）

表 2　牛における乳房内投与後の乳汁中ラクトフェリン濃度の推移（mg/mL）

番号	投与後時間（時間）						
	0	1	2	4	8	24	48
Cow 1	0.1	5.9	4.6	1.5	0.4	0.3	0.7
Cow 2	0.1	5.1	5.3	1.1	0.3	0.5	0.9
Cow 3	0.1	12.3	8.7	2.1	0.2	0.3	0.8
Cow 4	0.4	3.0	2.8	3.0	1.6	0.2	2.1
Cow 5	0.7	4.6	3.8	3.7	1.1	1.1	2.7
Cow 6	1.1	4.5	5.1	6.4	1.1	0.8	1.5

※ Cow 1～3は初産牛、Cow 4～6は経産牛である。
※ 定量限界は不明。

2．残留試験

（1）残留試験（牛①）

乾乳期の乳牛（ホルスタイン種、6頭/群）にラクトフェリン製剤を分娩予定46日前（乾乳7日後）に単回乳房内投与（ラクトフェリンとして1分房当たり200 mg（常用量）及び400 mg（2倍量））し、乳汁中ラクトフェリン残留が検討された。投与は各個体の後方分房に行い、前方分房を無処置にし対照としたため、別途対照群は設定されなかった。分娩1～4日後までは1日1回、分娩5～7日後までは1日2回分房ごとに搾乳し、乳汁中ラクトフェリン濃度をELISA法により測定した。測定結果を表3及び4に示した。

表3　ラクトフェリン製剤（常用量）の単回乳房内投与における分娩後の乳汁中ラクトフェリン濃度の経時的推移（μg/mL）

個体番号	分房	投与量（mg）	投与後分娩まで（日）	分娩後日数（日）									
				1	2	3	4	5（朝）	5（夜）	6（朝）	6（夜）	7（朝）	7（夜）
501	右前	0	56	133	163	230	202	179	121	113	125	111	90
	左前	0		67	66	68	59	45	36	38	37	36	32
	左後	200		64	62	62	53	39	38	34	37	31	30
504	右前	0	46	271	128	136	139	198	141	130	132	158	75
	左前	0		271	161	143	160	247	236	223	197	194	127
	左後	200		379	368	269	227	125	111	92	104	84	202
505	右前	0	45	41	41	43	32	19	19	16	29	14	14
	左前	0		68	65	52	33	22	20	18	17	15	17
	右後	200		92	83	89	67	47	31	50	64	27	25
	左後	200		252	246	238	147	137	96	104	84	78	66
509	右前	0	45	97	60	72	104	145	122	124	111	97	84
	左前	0		153	65	62	70	84	77	86	65	72	69
	右後	200		152	61	51	63	74	73	72	65	64	57
	左後	200		111	107	65	96	91	84	76	70	80	67
512	右前	0	46	539	434	846	556	444	282	327	246	177	159
	左前	0		123	95	88	89	83	79	67	59	48	42
	右後	200		362	321	315	382	484	895	480	390	226	315
	左後	200		754	989	911	987	904	1848	917	1074	710	761

定量限界：7.8 ng/mL

① 乳房炎と診断された分房（個体番号501の右後、個体番号504の右後）から採取した乳汁は検査対象外とした。

② 分娩後起立不能となった個体（個体番号508）から採取した乳汁は検査対象外とした。

表 4　ラクトフェリン製剤（2 倍量）の単回乳房内投与における分娩後の乳汁中ラクトフェリン濃度の経時的推移（μg/mL）

個体番号	分房	投与量(mg)	投与後分娩まで(日)	分娩後日数（日）									
				1	2	3	4	5（朝）	5（夜）	6（朝）	6（夜）	7（朝）	7（夜）
502	左前	0	55	295	220	161	96	74	48	59	64	46	45
	左後	400		221	179	89	95	68	58	54	60	45	45
503	右前	0	56	93	80	94	67	57	49	43	39	41	36
	左前	0		103	72	80	55	48	43	38	35	35	30
	右後	400		80	72	63	67	48	48	43	37	42	34
	左後	400		61	111	130	103	94	116	100	98	88	81
506	右前	0	55	46	22	23	21	11	10	11	12	10	9
	左前	0		24	15	12	14	11	13	12	10	8	12
	右後	400		46	17	14	12	7	8	11	9	7	8
	左後	400		53	27	16	17	15	11	10	17	9	10
507	右前	0	36	739	121	92	83	63	61	62	51	49	52
	左前	0		624	81	76	72	70	49	46	63	66	48
511	右前	0	40	68	30	62	102	84	43	46	39	31	31
	左前	0		110	38	72	124	99	68	59	47	39	38
	右後	400		98	53	75	93	74	59	54	42	38	35
	左後	400		148	57	85	117	82	67	54	48	48	63

定量限界：7.8 ng/mL

① 乳房炎と診断された分房（個体番号 502 の右前後、個体番号 507 の左右後）から採取した乳汁は検査対象外とした。
② 分娩後起立不能となった個体（個体番号 510）から採取した乳汁は検査対象外とした。

ラクトフェリンは、被験物質の投与の有無にかかわらず乳汁中に検出された。

ラクトフェリンは乳汁中、特に初乳中に多く含まれており、牛における一般的な初乳中濃度は約 1,000 μg/mL と報告されている（参照 19）。今回の結果では、分娩 5 及び 6 日後の夜に採取した常用量群の 1 個体（投与分房）で 1,000 μg/mL を超えた以外は、2 倍量群の全時点を含めて、いずれの分房から採取された乳汁中のラクトフェリン濃度はこの一般的な初乳中濃度を下回っていた。

また、各時点における全個体の無処置分房と被験物質投与分房の間には、乳汁中ラクトフェリン濃度に差は認められなかった（p>0.05）。（参照 18）

（2）残留試験（牛②）

乾乳期の乳牛（ホルスタイン種、6 頭/群）にラクトフェリン製剤を分娩予定 46 日前（乾乳 14 日後）に単回乳房内投与（ラクトフェリンとして 1 分房当たり 200 mg（常用量）及び 400 mg（2 倍量））し、乳汁中ラクトフェリン残留が検討された。投与は各個体の後方分房に行い、前方分房を無処置にし対照としたため、別途対照群は設定されなかった。分娩 1～4 日後までは 1 日 1 回、分娩 5～7 日後までは 1 日 2 回分房ごとに搾乳し、

乳汁中ラクトフェリン濃度をELISA法により測定した。測定結果を表5及び6に示した。

表5　ラクトフェリン製剤（常用量）の単回乳房内投与における分娩後の乳汁中ラクトフェリン濃度の経時的推移（μg/mL）

個体番号	分房	投与量(mg)	投与後分娩まで(日)	分娩後日数（日）									
				1	2	3	4	5（朝）	5（夜）	6（朝）	6（夜）	7（朝）	7（夜）
6435	右前	0	35	42	51	57	49	51	60	65	59	78	69
	左前	0		55	63	65	78	67	68	66	67	66	56
	右後	200		77	104	81	57	119	109	126	87	80	78
	左後	200		79	91	76	64	84	105	91	96	82	123
0356	右前	0	37	960	680	371	344	233	272	226	348	385	336
	左前	0		991	407	209	184	175	210	166	166	159	127
	右後	200		1646	275	164	149	138	190	161	194	165	139
	左後	200		770	558	348	249	270	168	321	186	201	197
2507	右前	0	45	303	204	183	427	476	337	361	337	293	198
	左前	0		186	132	323	203	135	109	91	105	99	153
	右後	200		320	165	183	198	134	117	87	107	94	106
	左後	200		373	190	248	354	184	203	143	160	110	150
9554	右前	0	63	279	115	66	45	37	36	36	28	32	41
	左前	0		874	348	164	131	92	87	92	76	84	69
	右後	200		693	991	619	786	455	474	428	402	331	582
	左後	200		205	158	134	286	170	400	164	267	153	160

定量限界：7.8 ng/mL

表 6　ラクトフェリン製剤（2 倍量）の単回乳房内投与における分娩後の乳汁中ラクトフェリン濃度の経時的推移（μg/mL）

個体番号	分房	投与量(mg)	投与後分娩まで(日)	分娩後日数（日）									
				1	2	3	4	5（朝）	5（夜）	6（朝）	6（夜）	7（朝）	7（夜）
2575	右前	0	66	406	462	383	1022	704	888	599	610	426	468
	左前	0		89	84	89	109	63	77	57	47	55	47
	右後	400		228	345	291	349	214	168	160	151	137	115
	左後	400		298	148	145	124	79	61	63	69	79	65
2523	左前	0	35	212	205	183	369	254	196	137	102	70	49
	右後	400		281	263	222	319	291	157	108	96	59	49
0295	右前	0	43	85	77	45	35	24	27	25	27	27	31
	左前	0		92	59	47	48	29	29	29	31	32	34
	右後	400		100	125	114	76	79	89	93	80	100	72
	左後	400		121	93	111	83	68	58	61	67	81	58
4506	右前	0	26	665	215	108	107	106	104	99	83	100	108
	左前	0		5342	756	317	262	186	166	156	141	138	133
	右後	400		3193	544	341	197	150	171	171	138	140	172
	左後	400		3812	522	466	189	189	183	173	175	183	174

定量限界：7.8 ng/mL

① 乳房炎と診断された分房（個体番号 2523 の右前及び左後）から採取した乳汁は検査対象外とした。
② 分娩後起立不能となった個体（個体番号 4322 及び 8763）から採取した乳汁は検査対象外とした。

ラクトフェリンは、被験物質投与の有無にかかわらず乳汁中に検出された。

分娩 1 日後の常用量群の 1 例（投与分房）及び 2 倍量群の 3 例（同一個体、うち 2 例は投与分房、1 例は無処置分房）、分娩 4 日後の 2 倍量群の 1 例（無処置分房）を除き、乳汁中ラクトフェリン濃度は一般的な初乳中濃度（約 1,000 μg/mL）（参照 19）を下回っていた。

また、各時点における全個体の無処置分房と被験物質投与分房の間には、乳汁中ラクトフェリン濃度に差は認められなかった（$p>0.05$）。（参照 20）

3．遺伝毒性試験

ラクトフェリンを用いた復帰突然変異試験の結果は陰性であった（表 7）。*in vivo* 試験は行われていない。（参照 21、22）

また、表 8 には MBP[5]を用いた復帰突然変異試験の結果を参考として記載した。（参照 23）

[5] Milk Basic Protein：牛乳に含まれているラクトフェリン、キニノーゲンフラグメント 1-2、シスタチン C 等の塩基性タンパク質をいう。FDA では、GRAS として MBP をカッテージチーズ等の複数の食品カテゴリに 10～40 mg/製品含む食品原料としての使用を認めている。（参照 23～25）

表 7　ラクトフェリンの *in vitro* 試験結果

試験	対象	用量	結果
復帰突然変異試験 1) (参照 21、22)	*Salmonella typhimurium* TA100、TA1535、TA98、 TA1537、 *Escherichia coli* WP2 *uvrA*	0、0.16、0.32、0.63、1.25、 2.50、5.00 mg/plate (±S9)	陰性

1) 陽性対照物質：2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide, sodium azide, 9-aminoacridine, benzo[a]pyrene(BaP), 2-aminoanthracene、陰性対照物質：注射用水

表 8　MBP の *in vitro* 試験結果（参考）

試験	対象	用量	結果
復帰突然変異試験 1) (参照 23)	*S. typhimurium* TA100、TA98	1 回目：1.6、8.0、40、200、1,000、 5,000 μg/plate (±S9) 2 回目：156、313、625、1,250、 2,500、5,000 μg/plate (±S9)	陰性

1) 陰性対照物質：水、陽性対照物質：不明

4．急性毒性試験

（1）急性毒性試験（ラット）

投与前 16 時間絶食させたラット（SD 系、6 週齢、雌雄各 5 匹/群）に、ラクトフェリン（溶媒：注射用水）を単回強制経口投与（0（溶媒）、1,000 及び 2,000 mg/kg 体重）し、ラクトフェリンの急性毒性について検討された。

いずれの投与群においても死亡は認められず、一般状態に異常は認められなかった。また、体重は各投与群の雌雄とも対照群とほぼ同様な体重推移を示し、剖検においてはいずれの投与群の雌雄にも肉眼的異常は認められなかった。（参照 26）

本試験の結果から、致死量は 2,000 mg/kg 体重以上と考えられた。

5．亜急性毒性試験

（1）4 週間亜急性毒性試験（ラット）

ラット（SD 系、約 6 週齢、雌雄各 12 匹/群）にラクトフェリン（溶媒：注射用水）を 4 週間経口投与（0（溶媒）、200、600 及び 2,000 mg/kg 体重/日）し、亜急性毒性試験が実施された。

試験期間中に死亡は全群において認められなかった。

一般症状、体重、摂餌量、眼科学検査、尿検査、血液学的検査、血液生化学的検査、剖検、臓器重量及び病理学的検査において投与に起因する影響は認められなかった。（参照 27）

本試験において、NOAEL は最高用量である 2,000 mg/kg 体重/日と考えられた。

（2）13 週間亜急性毒性試験（ラット）

ラット（SD 系、6 週齢、雌雄各 12 匹/群）にラクトフェリン（溶媒：注射用水）を 13 週間経口投与（0（溶媒）、200、600 及び 2,000 mg/kg 体重/日）し、亜急性毒性試験

が実施された。

試験期間中に投与に起因した死亡は認められなかった。

一般症状、体重、摂餌量、眼科学検査、血液学的検査、血液生化学的検査及び剖検において投与に起因する影響は認められなかった。

尿検査では、2,000 mg/kg 体重/日投与群の雌雄において pH の低下が認められたが、その際の尿中のラクトフェリン濃度は検出限界未満であった。また、尿検査の他項目については影響が見られず、腎臓の病理組織学的検査及び血液生化学的検査でも変化が認められなかったことから、投与に起因する変化ではないと考えられた。

臓器重量については、2,000 mg/kg 体重/日投与群の雌において甲状腺の絶対及び相対重量が有意に低下したが、軽度であり、器質的変化を伴わないことから、投与によるものでないと考えられた。

病理組織学的検査では、膵島の線維化が対照群及び投与群の雄で見られ、対照群と比較して、投与群における発生率及びその重症度は、やや高かった（対照群では、軽度が雄 2 例、中程度が雄 1 例。200 mg/kg 体重/日投与群では、軽度が雄 2 例、中程度が雄 4 例、600 及び 2,000 mg/kg 体重/日投与群では、それぞれ中程度が雄 6 例）。しかしながら、膵島の線維化は対照群と投与群との間に器質的な差は認められず、週齢の進行に伴う本系統特有の変化とみなされることから、投与に起因するものではないと考えられた。（参照 28～30）

本試験において、NOAEL は最高用量である 2,000 mg/kg 体重/日と考えられた。

（3）14 日間亜急性毒性試験（ラット）　＜参考データ＞

ラット（SD 系、約 5 週齢、雌雄各 10 匹/群）に、MBP を 14 日間経口投与（2,000 mg/kg 体重、具体的な投与法は不明。）し、MBP の亜急性毒性について検討された。被験動物は投与前 17～18 時間及び投与後 4 時間に絶食させた。

いずれの投与群においても死亡は認められず、また、体重及び一般状態にも異常は認められなかった。また、剖検においては、臓器に病理学的異常は認められなかった。（参照 23）

（4）13 週間亜急性毒性試験（ラット）　＜参考データ＞

ラット（SD 系、雌雄各 10 匹/群）を用いて、MBP の 13 週間混餌投与（0、200 及び 2,000 mg/kg 体重/日）による亜急性毒性試験が実施された。

試験期間中に死亡は認められなかった。

一般症状、体重、摂餌量、眼科学検査、血液学的検査及び尿検査において投与に起因する影響は認められなかった。

血液生化学的検査において、2,000 mg/kg 体重/日投与群の雄のみでカリウムの統計学的に有意な変動が認められた。

剖検及び臓器重量では、投与に起因する影響は認められなかった。

病理組織学的検査において、2,000 mg/kg 体重/日投与群の雄各 2 例の腎臓に硝子様円柱及びリンパ球浸潤が観察された。しかし、硝子様円柱は対照群の雌雄で、リンパ球浸潤は対照群の雄で観察されていることから、これらは投与に関連した影響とは考えられ

なかった。(参照 23)

6．慢性毒性試験及び発がん性試験

発がん性試験は実施されていない。

（1）40 週間慢性毒性試験（ラット）　＜参考データ＞

ラット（F344 系、6 週齢、雄 15 匹/群）にラクトフェリンを 40 週間混餌投与（0 及び 0.2 %）し、慢性毒性試験が実施された。

試験期間中、投与に起因する死亡はなく、臨床所見及び体重において投与に起因する影響は認められなかった。

血液生化学的検査では、対照群と比較して AST、ALT、ALP、BUN 及び TG に有意な減少が見られた。

臓器重量では、肝臓の体重比重量（以下「比重量という。」）がわずかに有意な増加を示した。

剖検及び病理組織学的検査では、投与に関連した病変は認められなかった。(参照 31)

（2）60 週間慢性毒性試験（ラット）　＜参考データ＞

ラット（F344 系、雄：17 週齢、雌：11 週齢）にラクトフェリンを 60 又は 65 週間混餌投与（混餌濃度：0、0.02、0.2、2.0 及び 5.0 %、投与期間：雄は 60 週間、雌は 65 週間）し、慢性毒性試験が実施された。被験動物数は、対照群及び 5.0 %混餌投与群では雌雄各 25 匹、0.02～2.0 %混餌投与群は雌雄各 10 匹と設定された。

試験期間中に投与に起因する死亡はなく、臨床所見、体重及び飲水量において投与に起因する影響は認められなかった。

摂餌量は、雌雄ともに用量相関的に増加した。

剖検では、投与に起因する変化が認められなかった。

病理組織学的検査において、観察された変化の発生率はすべて F344 系ラットにおける自然発生率の範囲内であり、投与に関連した変化は見られなかった。

血液学的及び血液生化学的検査は実施されなかった。(参照 31、32)

7．生殖発生毒性試験

ラクトフェリンを用いた生殖発生毒性試験は行われていないが、ラクトフェリンを含む MBP を用いた発生毒性試験は、以下のとおり報告されている。

（1）発生毒性試験（ラット）　＜参考データ＞

妊娠ラット（SD 系、11 週齢、20 匹/群）の妊娠 7～17 日に MBP を強制経口投与（0 及び 2,000 mg/kg 体重/日）し、妊娠 20 日に帝王切開して母動物及び胎児が検査された。

その結果、母動物の臨床所見、体重、体重増加量、摂餌量、黄体数及び着床数に投与に関連した変化は見られなかった。生存及び死亡胎児数、吸収胚数、胎児生存率、性比、胎盤重量及び胎児体重に対照群と投与群の間で有意な差は見られなかった。投与に関連した外表、内臓、骨格の奇形及び変異の発現は認められなかった。(参照 23)

8．一般薬理試験

（1）一般行動への影響（マウス、腹腔内投与）

マウス（ICR 系、雌雄各 3 匹/群）にラクトフェリン（溶媒：生理食塩液）を単回腹腔内投与（0、300、1,000 及び 3,000 mg/kg 体重）し、投与 5、15、30、60 分、3、6 及び 24 時間後のケージ内外のオープンフィールドにおける一般行動が Irwin 法に準じて観察された。

1,000 mg/kg 体重投与群において、投与 15 及び 30 分後に自発運動の低下が見られた。3,000 mg/kg 体重投与群では、投与 15 分後から自発運動の低下、腹臥状態、体幹緊張の低下、眼瞼下垂及び深大呼吸による呼吸数の減少が見られたが、投与 30 分後には回復傾向を示し、投与 3 時間後には全て回復していた。その後、一般行動には変化は見られなかった。（参照 33）

（2）一般状態への影響（ウサギ、静脈内投与）

ウサギ（日本白色種、雄 3 匹/群）にラクトフェリン（溶媒：生理食塩液）を単回静脈内投与（0、100、300 及び 1,000 mg/kg 体重）し、投与 5、15、30、60 分、3、6 及び 24 時間後の一般状態及び刺激反応が観察された。

300 mg/kg 体重投与群では、投与 15 分後から全例ともに軽度な自発運動の低下が見られた。しかしながら、投与 3 時間後には回復し、その後の一般状態には変化は観察されなかった。1,000 mg/kg 体重投与群では、投与後 5 分以内から全例とも明らかな自発運動の低下を示した。また、投与 30 分後には接触刺激に対する反応の低下も観察された。しかしながら、投与 6 時間後には回復した。（参照 33）

（3）心拍数、血圧及び呼吸数への影響（ウサギ、静脈内投与）

ウレタン麻酔下のウサギ（日本白色種、雄 3 匹）にラクトフェリン（溶媒：生理食塩水）を漸増法により静脈内投与（0、10、30、100 及び 300 mg/kg 体重）し、心拍数、呼吸数及び血圧が観察された。

血圧について、10 及び 30 mg/kg 体重の投与時では 2 例に、100 mg/kg 体重以上の投与時では全例に血圧下降が見られた。すなわち、各用量とも血圧波形は、多くが投与直後から徐々に下降し、その後 3～15 分後頃から徐々に上昇し、投与 15～30 分後で回復した。

心拍数について、明らかな変化は認められなかった。

呼吸数について、300 mg/kg 体重投与群では全例とも投与 3 分後から投与前と比べて軽度な増加が認められたが、投与 30 分後で投与前の呼吸数に概ね回復した。（参照 33）

（4）薬理作用について

① 抗菌作用

ラクトフェリンは強い鉄結合能を有し、鉄栄養要求性細菌の培地から鉄イオンを奪うことで、これらの菌の発育を阻止することが報告されている。また、ラクトフェリンは、大腸菌、ストレプトコッカス、クロストリジウムに対して抗菌作用を示すが、ヒトの腸内細菌叢のビフィズス菌に対する菌の増殖抑制効果はないことが報告されている。（参

照 34)

② 免疫作用

a. 乾乳期における乳腺免疫

健康な牛（ホルスタイン種）から採取した乳汁及び血清中の補体価を測定し、乾乳導入による乳汁中補体成分の含有率の変動について検討した。乾乳 0 日後の乳汁中補体価は検出限界以下であったが、7 日後には上昇し、28 日後には最高値に達した。補体価から換算した乳汁中補体成分の含有率は、乳汁中補体価の最高値と同様に乾乳 28 日後で最大 25.7 %となった。(参照 34)

b. 補体活性化作用

ラクトフェリンに耐性を示す *Staphylococcus aureus* 株 ATCC25923 を用いて、菌体表面上への補体成分沈着量を調べた。予めラクトフェリンに暴露した *S. aureus* は、補体存在下で補体成分の沈着量を有意に増加した。ラクトフェリンは、0.25 mg/mL 以上の濃度で、古典経路及びレクチン経路を途中でブロックすることが示唆されている。したがって、ラクトフェリンの投与後における乾乳期乳汁中の高濃度のラクトフェリンは、第二経路だけを活性化し、菌体に補体沈着を促進させると考えられた。(参照 34)

c. 補体及び食細胞の活性化作用

乾乳期の健康な牛の乳房由来乳汁中の体細胞（以下「乳汁中体細胞」という。）の特徴を検討した。乾乳早期の牛の末梢血中の好中球は末梢血白血球全体の 1/3 程度であるが、乳汁中体細胞は、好中球を末梢血よりも多く含むことが確認された。また、乳汁中体細胞には、表面抗原の種類から、食菌に関与すると考えられる CD11b 陽性細胞、FcγR 陽性細胞、LFR 陽性細胞が発現していた。

乳汁中体細胞とラクトフェリンに対して耐性を示す *S. aureus* を共培養したところ、ラクトフェリンの濃度に依存して、培地中の細菌数は有意に減少した。また、ラクトフェリン非存在下において細菌と細胞を共培養した場合でも、予めラクトフェリンに細胞を 30 分間暴露をすると、細菌数は有意に減少した。(参照 34)

乾乳早期の健康な乳腺にラクトフェリンを投与後、乳汁中総体細胞数について検討したところ、投与 1 日後には総体細胞数の顕著な増加が認められた。増加する各種細胞を解析した結果、食細胞の機能を示す細胞（CD11b 陽性細胞、G1 陽性細胞及び LFR 陽性細胞）の数が増加していた。(参照 34)

d. 免疫グロブリン増加作用

ラクトフェリンには、粘液中の免疫グロブリン濃度を増加させる作用を有することが報告されている。(参照 34)

9. ヒトへの影響

（1）妊婦への影響（30 日間経口投与）

鉄欠乏症又は鉄欠乏性貧血に罹患している妊娠時期が異なる妊婦 259 名に硫酸鉄及び

ラクトフェリンを経口投与し、血清中 Hb 濃度及び血清総鉄濃度の測定が行われた。妊婦 98 名には硫酸鉄 520 mg（鉄含有：156 mg）を含む錠剤を 1 日 1 回（グループ 1）、妊婦 107 名にはラクトフェリン 100mg（30 %鉄含有：4.4 mg）を含むカプセルを 1 日 2 回（グループ 2）投与し、妊婦 54 名には無処置（対照群）とした。

投与 30 日後、妊娠時期にかかわらず、いずれのグループも血清 Hb 濃度及び血清総鉄濃度は有意に増加した（$p<0.01$）。対照群と比較して、両グループとも有意に増加しており、グループ 1 の平均血清 Hb 濃度及び血清総鉄濃度の増加量（それぞれ 0.9 g/dL 及び 8.0 μg/dL）は、グループ 2 の増加量（それぞれ 1.5 g/dL 及び 54.2 μg/dL）よりも低かった。このことから、硫酸鉄よりもラクトフェリンの方が腸管内の鉄供給が高いと考えられた。

副作用については、グループ 1 の 95 %に腹痛、痙攣及び便秘が、2 %に少なくとも一度の下痢が報告されたが、グループ 2 では報告はなかった（参照 35）。

（2）アレルゲン性について

① ラクトフェリン

牛乳中には食品アレルゲンとして知られている様々なタンパク質があり、β-ラクトグロブリン、α-ラクトアルブミン、カゼイン、牛免疫グロブリン及び牛血清アルブミンもそれらに含まれている。その他のラクトフェリンを含むマイナーな牛乳タンパク質に対する IgE が数例の患者で同定されている。

ラクトフェリンを含む牛乳タンパク質に対する特異的 IgE を交差放射同位元素標識免疫電気泳動法（CRIE）により分析したところ、牛乳アレルギーを有する子供の血清試料中において、複数の牛乳タンパク質に対する特異的 IgE 抗体の上昇が見られ、牛血清アルブミンに対する抗体が高頻度に、IgG、α-ラクトアルブミン及びラクトフェリンに対する抗体が低頻度に認められた。牛乳を用いた負荷試験の結果、IgE 介在性牛乳アレルギーを有する子供において、12 ヶ月齢時のラクトフェリンに対する特異 IgE 抗体の頻度は、0/35 例（臍帯血及び 6 ヶ月齢）から 5/20 例に増加した。

スキムミルク中の抗原に対する牛乳タンパク質抗体反応を調べるため、様々な濃度のスキムミルクを腹腔内投与した BN 系ラットの血清からは、IgG 及びラクトフェリンに対するレアギン抗原特異反応が見られた。ラクトフェリンに対するレアギン反応は、α-カゼインに対するものと類似しており、牛血清アルブミン、ラクトグロブリン、β-又はκ-カゼインに対してよりも高かった。

BN 系ラットを用いてラクトフェリンのアレルゲン性を調べたところ、非経口の感作療法では、レアギン反応を誘導しない最高用量は、ラクトフェリンで 0.01 μg、卵白アルブミンで 0.1 μg 及び牛血清アルブミンで 1 μg であった。これらのタンパク質のアレルゲン性を比較すると、高いものからラクトフェリン、卵白アルブミン、牛血清アルブミンの順であった。スキムミルクは、感作の誘導に必要な総抗原量が卵白アルブミンの 20 倍であったことから、スキムミルクのアレルゲン性は卵白アルブミンよりも低かった。

0 及び 7 日に 500 μg のスキムミルクを非経口的に感作した BN 系ラットでは、ラクトフェリンを含む牛乳タンパク質に対するレアギン IgE 反応に発展した。これらの状況下では、ラクトフェリンは BN 系ラットにおいて、カゼイン及びβ-ラクトグロブリンと同

様のアレルゲンであると考えられた。

ラクトフェリンを 4 週間混餌投与したマウスの腸液及び血清中に抗ラクトフェリン IgA 及び IgG を検出した。腸液中の総免疫グロブリンもまた、対照群よりも投与群において高かった。ラクトフェリンは粘膜の免疫系上の免疫刺激因子として作用し、粘膜免疫系の活性化はラクトフェリンの腸粘膜結合能力に依存していることが示唆された。(参照 6)

ラクトフェリンを pH 2.5 の酸性条件下で 37 ℃、最大 4 時間処理して、ラクトフェリンのペプシン消化性が調べられた。分解反応は 30 分以内に完了し、加水分解物中の多くのペプチドの分子量は 6,000 未満であった。ラクトフェリンは酸性条件下でペプシンにより速やかに加水分解された。(参照 13、36)

② MBP　<参考データ>

MBP のアレルゲン性について検討するため、MBP 構成タンパク質（シスタチン C、キニノーゲンフラグメント 1·2、高移動度群様タンパク質及びラクトペルオキシダーゼ）のペプシン安定性が調べられている。

キニノーゲンフラグメント 1·2 以外のタンパク質はペプシンにより比較的早く消化された。キニノーゲンフラグメント 1·2 は中程度にペプシンに安定であった。多くの主要な食品アレルゲンはペプシンに安定であり、この安定性は胃腸管を介したアレルゲン感受性に関するリスク因子になると考えられている。キニノーゲンフラグメント 1·2 を除く MBP 構成タンパク質は比較的早くペプシンに消化されることから暴露量はかなり少ないと考えられた。また、キニノーゲンフラグメント 1·2 は中程度にペプシンに安定であったが、キニノーゲンフラグメント 1·2 及び高移動度群様タンパク質は MBP 中の構成タンパク質の 2 %程度であり、他の大部分のペプシン安定性の食品アレルゲンに比べるとその摂取量は少量になると考えられた。なお、本文献では、既に行われた広範囲な試験において MBP の構成成分であるラクトフェリンのアレルゲン性を示すものはなく、キニノーゲンフラグメント 1·2 を除く MBP 構成タンパク質のペプシン消化が早いこと及びキニノーゲンフラグメント 1·2 への暴露量が少ないと考えられることから、MBP は新たな食品アレルギーを引き起こしにくいと考えられたとしている。(参照 37)

Ⅲ. 食品健康影響評価

1．薬物動態試験及び残留試験について

乾乳期の乳牛におけるラクトフェリンの単回乳房内投与による薬物動態試験では、血清中のラクトフェリンは被験物質投与の有無にかかわらず検出された。血清中ラクトフェリン濃度には個体差が認められたが、投与前と投与後の各時点との間に有意差は認められなかった。

乾乳期の乳牛にラクトフェリン製剤を分娩予定 46 日前（乾乳 7 日後）に単回乳房内投与した残留試験において、乳汁中のラクトフェリンは被験物質投与の有無にかかわらず検出された。乳汁中ラクトフェリン濃度は、各時点における被験物質投与分房と非投与分房の間に有意差は認められなかった。

2．毒性学的影響について

（1）遺伝毒性試験

ラクトフェリンを用いた *in vitro* の復帰突然変異試験が実施され結果は陰性であった。本剤を用いた *in vivo* の遺伝毒性試験は実施されていない。参考として、ラクトフェリンを含むMBPの *in vitro* の復帰突然変異試験の結果は陰性であった。

（2）亜急性毒性試験

亜急性毒性試験については、ラットを用いた4週間及び13週間亜急性毒性試験が実施されている。

いずれの試験もラクトフェリンの投与による毒性影響は認められなかったことから、両試験におけるNOAELは最高用量である2,000 mg/kg体重/日であった。

（3）慢性毒性試験

評価可能な慢性毒性試験はないが、参考としてラットを用いた40週間及び60週間慢性毒性試験が実施されている。

40週間慢性毒性試験では、投与群にAST、ALT、ALP、BUN及びTGの有意な減少並びに肝臓比重量の有意な増加が認められた。60週間慢性毒性試験では、設定された投与量においては投与に起因する変化は認められなかった。

（4）発がん性試験

発がん性試験は、実施されていない。

（5）生殖発生毒性試験

生殖発生毒性試験については、ラクトフェリンを用いた試験は実施されていない。参考として、ラクトフェリンを含むMBPの投与によるラットを用いた発生毒性試験が実施されている。その結果、2,000 mg/kg体重/日の用量で母動物及び胎児に投与に関連した影響は認められなかった。

（6）アレルゲン性について

ラクトフェリンのアレルゲン性について、ヒト及びBN系ラットにおける知見が報告されている。ヒトに対する牛乳中の主要アレルゲンとしてβ-ラクトグロブリン、α-ラクトアルブミン、カゼイン等が知られているが、ラクトフェリンに対するIgEが数例の患者で同定されていると報告されている。また、牛乳を用いた負荷試験の結果、IgE介在性牛乳アレルギーを有する子供において、12ヶ月齢時のラクトフェリンに対する特異IgE抗体の頻度は、0/35例（臍帯血及び6ヶ月齢時）から5/20例に増加したと報告されている。

ラクトフェリンは酸性条件下において、ペプシンにより速やかに加水分解されることが報告されている。

MBPのアレルゲン性について検討するため、MBP構成タンパク質（シスタチンC、キニノーゲンフラグメント1･2、高移動度群様タンパク質及びラクトペルオキシダーゼ）

のペプシン安定性が調べられている。多くの主要な食品アレルゲンはペプシンに安定であり、この安定性は胃腸管を介したアレルゲン感受性に関するリスク因子になると考えられている。この報告では既に行われた広範囲な試験においてMBPの構成成分であるラクトフェリンのアレルゲン性を示すものはなく、キニノーゲンフラグメント1-2を除くMBP構成タンパク質のペプシン消化が早いこと及びキニノーゲンフラグメント1-2への暴露量が少ないと考えられることから、MBPは新たな食品アレルギーを引き起こしにくいと考えられたとしている。

3．FDAにおける評価

FDAでは、2001年にラクトフェリンを、GRASとして牛の未調理肉の微生物汚染を防ぐためのスプレー剤に対し2％までの使用を認めている。また、スポーツ用食品及び機能性食品（sport and functional foods）の成分に対し100 mg/製品の使用を認めている。（参照7、8、38）

4．食品健康影響評価について

ラクトフェリンは、ヒト、牛等の哺乳動物において主に乳汁中に存在する糖タンパク質である。

ラクトフェリンは遺伝毒性試験の*in vivo*試験が実施されていないが、*in vitro*の復帰突然変異試験では陰性の結果が得られている。

各種動物における毒性試験の結果から得られたNOAELは、ラットを用いた4週間及び13週間亜急性毒性試験における最高用量の2,000 mg/kg体重/日であった。

ラクトフェリンは、牛乳中アレルゲンとして主要なものとは考えられないものの、ヒトにおけるラクトフェリンに対するIgEの同定及び牛乳アレルギーを有する子供における特異IgE抗体の頻度の増加が報告されている。しかし、酸性条件下でペプシンにより加水分解されることから、ヒトが経口摂取した場合のアレルゲン性は比較的高いものではないと考えられる。

また、乾乳期の乳牛にラクトフェリン製剤を乳房内投与した薬物動態試験及び残留試験において、血清及び乳汁中のラクトフェリンは、被験物質投与の有無にかかわらず検出された。血清中ラクトフェリン濃度は、投与前と投与後の各時点との間に有意差は認められなかった。また、乳汁中ラクトフェリン濃度は、各時点における被験物質投与分房と非投与分房の間に有意差は認められなかった。これらのことから、ラクトフェリンが動物用医薬品として投与された牛に由来する乳や肉等の畜産食品中に、通常含まれる以上のラクトフェリンが含有される可能性は低いと考えられる。

さらに、ラクトフェリンについては、ラクトフェリン濃縮物が食品添加物（既存添加物）として使用されているほか、乳製品等の食品にも含有され、また、食品に使用され、ヒトが日常的に摂取してきているものである。

したがって、動物用医薬品として適切に使用されたラクトフェリンが、アレルギーを含む畜産食品のリスクを増加させることはないものと考えられた。

以上のことから、ラクトフェリンは動物用医薬品として適切に使用される限りにおいては、食品を通じてヒトの健康に影響を与える可能性は無視できるものと考えられる。

〈別紙：検査値等略称〉

略称	名称
ALP	アルカリホスファターゼ
ALT	アラニンアミノトランスフェラーゼ [=グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ（GPT)]
AST	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ [=グルタミン酸オキサロ酢酸トランスアミナーゼ（GOT)]
BUN	血中尿素窒素
CRIE	交差放射同位元素標識免疫電気泳動法
DELFIA 法	時間分解蛍光法
ELISA 法	酵素免疫測定法
FDA	米国食品医薬品庁
Hb	ヘモグロビン
Ig	免疫グロブリン
MBP	Milk Basic Protein
NOAEL	無毒性量
SELDI アフィニティー質量分析法	表面増強レーザー脱離イオン化アフィニティー質量分析法
TG	トリグリセリド

〈参照〉

1. 共立製薬株式会社. 動物用医薬品製造承認申請書マストラック（非公表）
2. 共立製薬株式会社. 動物用医薬品製造承認申請書マストラック 添付資料: 資料番号 2 2.1 ラクトフェリンの化学構造（非公表）
3. ダルトン. 後藤稠編者代表、最新医学大辞典、第 2 版、医歯薬出版株式会社、東京、1996 年
4. 共立製薬株式会社. 動物用医薬品製造承認申請書マストラック 添付資料: 資料番号 1 1.1 開発の経緯（非公表）
5. ラクトフェリン. 今堀和友、山川民夫監修、生化学辞典（第 3 版）、株式会社東京化学同人、東京、1998 年
6. Farmland National Beef Packaging Company, L.P.: Generally Recognized as Safe (GRAS) Notification for Bovine Lactoferrin as a Component of a Spray to Prevent Microbial Contamination of Beef Products, 2001 http://www.accessdata.fda.gov/scripts/fcn/gras_notices/204568A.PDF
7. 共立製薬株式会社. 動物用医薬品製造承認申請書マストラック 添付資料: 資料番号 13 13.3 Generally Recognized as Safe, 13.3.4: FDA: Agency Response Letter GRAS Notice No. GRN000067, CFSAN/Office of Food Additive Safety, October 23, 2001
8. 共立製薬株式会社. 動物用医薬品製造承認申請書マストラック 添付資料: 資料番号 13 13.3 Generally Recognaized as safe, 13.3.5: FDA: Agency Response Letter GRAS Notice No. GRN000077, CFSAN/Office of Food Additive Safety, August 14, 2001
9. 「既存添加物名簿」（平成 8 年 4 月 16 日付け、厚生省告示第 120 号）
10. Fischer R, Debbabi H, Blais A, Dubarry M, Rautureau M, Boyaka PN et al.: Uptake of ingested bovine lactoferrin and its accumulation in adult mouse tissues Preliminary report. International Immunopharmacology, 2007; 7(10): 1387-1393
11. 共立製薬株式会社. 動物用医薬品製造承認申請書マストラック 添付資料: 資料番号 10 10.3 成熟マウスにおける摂取ラクトフェリンの消化管での残存（非公表）
12. 共立製薬株式会社. 動物用医薬品製造承認申請書マストラック 添付資料: 参考資料 10. 3: Kuwata H, Yip TT, Yamauchi K, Teraguchi S, Hayasawa H, Tomita N et al.: The survival of ingested lactoferrin in the gastrointestinal tract of adult mice. The Biochemical Journal, 1998; 334: 321-323
13. 共立製薬株式会社. 動物用医薬品製造承認申請書マストラック 添付資料: 資料番号 2 2.2 ラクトフェリンの物理的、化学的性質（非公表）
14. 共立製薬株式会社. 動物用医薬品製造承認申請書マストラック 添付資料: 資料番号 10 10.2 成熟ラットに経口投与されたラクトフェリンの消化（非公表）
15. 共立製薬株式会社. 動物用医薬品製造承認申請書マストラック 添付資料: 参考資料 10. 2: Kuwata H, Ushida Y, Shimokawa U, Toida T, Yamauchi K, Teraguchi S et al:

Digestion of orally administered lactoferrin in adult rats. Lactoferrin: structure, function and applications. Proceedings of the 4th International Conference on Lactoferrin: Structure, Function and Applications, held in Sapporo, Japan, 18-22 May 1999, 2000, pp. 311-317

16. 共立製薬株式会社. 動物用医薬品製造承認申請書マストラック 添付資料: 資料番号 10 10.1 ラクトフェリン製剤S-C-59-LFの乾乳牛における吸収試験（非公表）
17. 共立製薬株式会社. 動物用医薬品製造承認申請書マストラック 添付資料: 参考資料 8. 2-2):
Kutila T, Pyörälä S, Kaartinen L, Vahtola K, Myllykoski L, Saloniemi H: Disposition kinetics of lactoferrin in milk after intramammary administration. Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics, 2002; 25: 129-133
18. 共立製薬株式会社. 動物用医薬品製造承認申請書マストラック 添付資料: 資料番号 13 13.1 ラクトフェリン製剤S-C-59-LFの乾乳牛における乳汁中残留試験（I）(非公表)
19. 小峯優美子、小峯健一、貝健三、板垣昌志、植松正巳、木舩厚恭ら. 初乳形成に向けた乾乳期乳腺免疫機構の変動とラクトフェリンの関与. 日本畜産学会報、75(2)、205～212、2004年
20. 共立製薬株式会社. 動物用医薬品製造承認申請書マストラック 添付資料: 資料番号 13 13.2 ラクトフェリン製剤S-C-59-LFの乾乳牛における乳汁中残留試験（II）(非公表)
21. 共立製薬株式会社. 動物用医薬品製造承認申請書マストラック 添付資料: 資料番号 6 6.1 ウシラクトフェリンの復帰突然変異試験（非公表）
22. 共立製薬株式会社. 動物用医薬品製造承認申請書マストラック 添付資料: 参考資料 6. 1:
Yamauchi K, Toida T, Kawai A, Nishimura S, Teraguchi S, Hayasawa H: Mutagenicity of Bovine Lactation in Reverse Mutation Test. The Journal of Toxicological Sciences, 2000; 25 (2): 63-66
23. Kruger CL, Murano KM, Morita Y, Takada Y, Kawakami H, Kobayashi T, et al.: Safety evaluation of a milk basic protein fraction. Food and Chemical Toxicology, 2007; 45: 1301-1307
24. Snow Brand Milk Products Co, Ltd.: GRAS EXEMPTION CLAIM FOR MILK BASIC PROTEIN (MBP®), 2006
25. FDA: Agency Response Letter GRAS Notice No. GRN000196, CFSAN/Office of Food Additive Safety, September 1, 2006
26. 共立製薬株式会社. 動物用医薬品製造承認申請書マストラック 添付資料: 資料番号 4 4.1 MONL-01ラット及びMONL-02ラットを用いた経口投与による単回投与毒性試験（非公表）
27. 共立製薬株式会社: 動物用医薬品製造承認申請書マストラック 添付資料: 資料番号 5 5.1 MONL-01ラットを用いた4週間反復経口投与毒性試験（非公表）
28. 共立製薬株式会社. 動物用医薬品製造承認申請書マストラック 添付資料: 資料番号

5　5.2 ラットにおけるウシラクトフェリン 13 週間反復経口投与毒性試験（非公表）
29. 共立製薬株式会社. 動物用医薬品製造承認申請書マストラック 添付資料: 参考資料 5.2:
Yamauchi K, Toida T, Nishimura S, Nagano E, Kusuoka O, Teraguchi S et al.: 13-Week Oral Repeated Administration Toxicity Study of Bovine Lactoferrin in Rats. Food and Chemical Toxicology, 2000; 38: 503-512
30. Imaoka M, Satoh H, Fruhama K: Age- and Sex-Related Differences in Spontaneous Hemorrhage and Fibrosis of the Pancreatic Isles in Sprague-Dawley Rats. Toxicologic Pathology, 2007; 35: 388-394
31. Tamano S, Sekine K, Takase M, Yamauchi K, Iigo M, Tsuda H: Lack of Chronic Oral Toxicity of Chemopreventive Bovine Lactoferrin in F344/DuCrj Rats, Asian Pacific Journal of Cancer Prevention, 2008; 9: 313-316
32. Goodman DG, Ward JM, Squire RA, Chu KC, Linhart MS: Neoplastic and Nonneoplastic Lesions in Aging F344 Rats, Toxicology and Applied Pharmacology, 1979; 48: 237-248
33. 共立製薬株式会社. 動物用医薬品製造承認申請書マストラック 添付資料: 資料番号 9　9.1 最終報告 ラクトフェリンの一般薬理試験（非公表）
34. 共立製薬株式会社. 動物用医薬品製造承認申請書マストラック 添付資料: 概要（非公表）
35. Paesano R, Torcia F, Berlutti F, Pacifici E, Ebano V, Moscarini M et al.: Oral administration of lactoferrin increases hemoglobin and total serum iron in pregnant women, Biochemistry and Cell Biology, 2006; 84: 377-380
36. Tomita M, Bellamy W, Takase M, Yamauchi K, Wakabayashi H, Kawase K: Potent antibacterial peptides generated by pepsin digestion of bovine lactoferrin. Journal of Dairy Science. 1991; Dec; 74(12): 4137-4142
37. Goodman RE, Taylor SL, Yamada J, Kobayashi T, Kawakami H, Kruger CL et al.: Assessment of the potential allergenicity of a Milk Basic Protein fraction, Food and Chemical Toxicology, 2007; 45: 1787-1794
38. 共立製薬株式会社. 動物用医薬品製造承認申請書マストラック 添付資料: 資料番号 13　13.3.6:
FDA: Agency Response Letter GRAS Notice No. GRN000130, CFSAN/Office of Food Additive Safety, August 21, 2003