

飼料添加物評価書

ノシヘプタイド

2009年6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
○食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会専門委員名簿	3
○要約	4
I. 評価対象飼料添加物の概要	5
1. 用途	5
2. 有効成分の一般名等	5
3. 化学名	5
4. 分子式	5
5. 分子量	5
6. 構造式	5
7. 開発の経緯及び使用状況等	6
II. 安全性に係る知見の概要	6
1. 吸収・分布・代謝・排泄試験	6
(1) 投与試験 (ラット)	6
(2) 投与試験 (鶏)	7
(3) 投与試験 (豚)	7
(4) 残留試験 (鶏)	7
(5) 残留試験 (豚)	8
2. 急性毒性試験 (マウス、ラット及び鶏)	9
3. 亜急性毒性試験	10
(1) 12週間亜急性毒性試験 (ラット)	10
(2) 13週間亜急性毒性試験 (マウス)	10
(3) 13週間亜急性毒性試験 (ラット)	10
(4) 6ヶ月間亜急性毒性試験 (イヌ)	11
4. 慢性毒性試験及び発がん性試験	11
5. 生殖発生毒性試験	12
(1) 発生毒性試験 (マウス)	12
(2) 発生毒性試験 (ラット)	12
(3) 発生毒性試験 (ウサギ)	13
6. 遺伝毒性試験	14
7. その他の試験	14

(1) 飼養試験 (鶏) .....	14
(2) 飼養試験 (豚) .....	15
8. その他の知見 .....	16
(1) 皮膚等に対する刺激性について .....	16
(2) 皮膚感作性について .....	17
9. 微生物学的影響に関する試験 .....	17
(1) 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
・ 別紙 1 .....	20
・ 参照 .....	21

〈審議の経緯〉

- 2005年 11月 29日 暫定基準告示（参照1）  
2008年 9月 12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（厚生労働省発第0912008号）  
2008年 9月 16日 関係書類の接受  
2008年 9月 25日 第255回食品安全委員会（要請事項説明）  
2008年 11月 14日 第28回肥料・飼料等専門調査会  
2009年 2月 19日 第274回食品安全委員会（報告）  
2009年 2月 19日 より2009年3月20日 国民からの御意見・情報の募集  
2009年 6月 23日 肥料・飼料等専門調査会座長より食品安全委員会委員長へ報告  
2009年 6月 25日 第291回食品安全委員会（報告）  
（同日付で厚生労働大臣に通知）

〈食品安全委員会委員名簿〉

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

〈食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会専門委員名簿〉

唐木 英明（座長）  
酒井 健夫（座長代理）  
秋葉 征夫 西澤 直子  
池 康嘉 深見 元弘  
小野 信一 細川 正清  
下位 香代子 三浦 克洋  
高木 篤也 元井 葭子  
津田 修治 米山 忠克  
戸塚 恭一

## 要 約

ポリペプチド系抗生物質である飼料添加物ノシヘプタイド (CAS No. 56377-79-8) について、評価要請資料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は、吸収・分布・代謝・排泄試験 (ラット、鶏及び豚)、急性毒性試験 (マウス、ラット及び鶏)、亜急性毒性試験 (マウス、ラット及びイヌ)、発生毒性試験 (マウス、ラット及びウサギ)、遺伝毒性試験、飼養試験、皮膚感作性試験、微生物学的影響に関する試験等である。

慢性毒性及び発がん性試験は実施されていないが、ノシヘプタイドは生体にとって特段問題となる遺伝毒性を示さないと考えられることから、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。

各毒性試験において得られた無毒性量の最小値は、ウサギを用いた発生毒性試験の 23.1 mg/kg 体重/日であった。毒性学的 ADI については、無毒性量 23.1 mg/kg 体重/日に安全係数 1,000 (種差 10、個体差 10、慢性毒性試験及び発がん性試験を欠いていることによる追加の 10) を適用することが適切と考えられ、0.023 mg/kg 体重/日と設定された。

一方、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 算出式に基づいて 0.18 µg/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、毒性学的安全性を担保していると考えられる。

以上より、ノシヘプタイドの食品健康影響評価については、ADI として 0.18 µg/kg 体重/日を設定した。

# 1. 評価対象飼料添加物の概要

## 1. 用途

抗菌剤

## 2. 有効成分の一般名等

和名：ノシヘプタイト

英名：Nosiheptide

## 3. 化学名

CAS (56377-79-8)

英名：N-[1-(Aminocarbonyl)ethenyl]-2-[14-ethylidene-9,10,11,12,13,14,19,20,21,22,23,24,26,33,35,36-hexadecahydro-3,23-dihydroxy-11-(1-hydroxyethyl)-31-methyl-9,12,19,24,33,43-hexaoxo-30,32-imino-8,5:18,15:40,37-trinitrilo-21,36-([2,4]-endo-thiazolomethanimino)-5H,15H,37H-pyrido[3,2-w][2,11,21,27,31,7,14,17]benzoxatetrathiazacyclohexatriacontin-2-yl]-4-thiazole-carboxamide

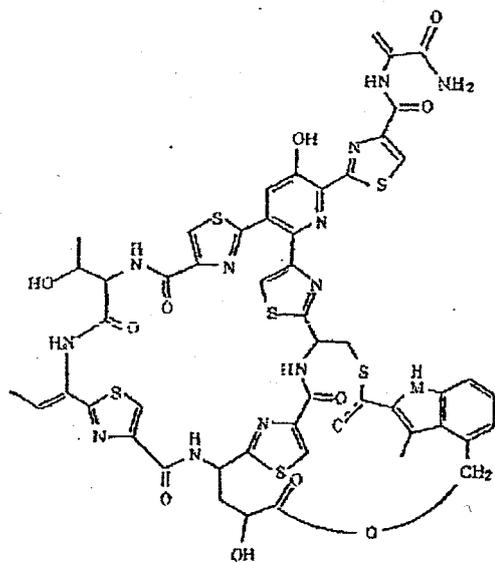
## 4. 分子式

$C_{51}H_{43}O_{12}N_{13}S_6$

## 5. 分子量

1222.37

## 6. 構造式



## 7. 開発の経緯及び使用状況等

ノシヘプタイドは放線菌 *Streptomyces actuosus* が産生する抗生物質で、1961年にフランスのローヌ・プーラン社がアルゼンチンのコリエンテス地方で採取した土壌より単離したものである。ノシヘプタイドは、1個のL-スレオニン、1個のヒドロキシピリジン、5個のチアゾール環及び1個のインドール環を有するポリペプチド系抗生物質で、各種細菌、特にグラム陽性細菌に対する優れた抗菌活性を持つほか、動物体内への吸収・移行が少ないという特徴を持っている。

日本では、ノシヘプタイドは昭和62年に飼料の安全性の確保及び品質の改善に関する法律（昭和28年法律第35号）に基づき飼料添加物として指定されており、飼料に連続的に添加することにより、飼料効率が改善される等の効果が認められている。飼料及び飼料添加物の成分規格等に関する省令（昭和51年農林省令第35号）において、ノシヘプタイドは、鶏（ブロイラーを除く。）用（幼すう用<sup>1</sup>、中すう用<sup>2</sup>）飼料及びブロイラー用（前期用<sup>3</sup>、後期用<sup>4</sup>）飼料に2.5～10g（力価）/t、豚用（ほ乳期用<sup>5</sup>、子豚期用<sup>6</sup>）飼料に2.5～20g（力価）/tを添加して使用することと定められているが、産卵中の鶏並びに食用を目的としてと殺する前7日間の豚及び鶏に使用してはならないとされている。また、動物用医薬品及びヒト用医薬品としての承認はされていない。

外国においても、ノシヘプタイドは飼料添加物として使用されている。

なお、ポジティブリスト制度導入に伴う残留基準値<sup>7</sup>が設定されている。

## II. 安全性に係る知見の概要

本評価書は、飼料添加物ノシヘプタイドの指定時の試験成績等の抄録（抜粋）をもとに毒性に関する主な知見を整理したものである。（参照2）

### 1. 吸収・分布・代謝・排泄試験

#### (1) 投与試験（ラット）

ラット（雌雄）を用いた<sup>14</sup>C標識精製級ノシヘプタイド（力価不明）の単回経口投与（1.8、8.4 mg/kg 体重）試験が実施された。

投与後7日間における糞、尿及び呼気中の放射能を測定した結果、大部分（78.8～97.4%）の放射能は糞中に排泄され、尿中への排泄はごく少量（0.5～1.3%）であった。投与7日後、肝臓、腎臓、心臓、肺、脾臓、脳、筋肉（背、脚）、脂肪、腸管、毛、皮膚及びと体の放射能を測定した。全体の回収率は79.31～98.11%であった。各組織のノシヘプタイド残留は、8.4 mg/kg 体重投与群の雄ラットの

<sup>1</sup> ふ化後おおむね4週間以内の鶏用飼料

<sup>2</sup> ふ化後おおむね4週間を超え10週間以内の鶏用飼料

<sup>3</sup> ふ化後おおむね3週間以内のブロイラー用飼料

<sup>4</sup> ふ化後おおむね3週間を超え食用としてと殺する前7日までのブロイラー用飼料

<sup>5</sup> 体重がおおむね30kg以内の豚用飼料

<sup>6</sup> 体重がおおむね30kgを超え70kg以内の豚（種豚育成中のものを除く。）用飼料

<sup>7</sup> 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

腎臓中に 0.1 ppm 検出された以外、どの組織からも有意な放射能は検出されなかった。

## (2) 投与試験 (鶏)

鶏 (4羽) を用いた  $^{14}\text{C}$  標識精製級ノシヘプタイド (823 mg (力価) /g) の 6 日間連続経口投与 (0.127 mg (力価) /日/羽) 試験が実施された。

排泄物中の放射能を 24 時間ごとに測定した結果、6 日間での全体の回収率は 103.2~104.9%であった。最終投与 6 時間後に肝臓、腎臓、筋肉 (胸、脚) 及び皮膚のノシヘプタイドを測定したところ、全組織とも検出限界未満であったことから、ノシヘプタイドは鶏の消化管からほとんど吸収されないものと考えられた。

## (3) 投与試験 (豚)

豚 (雄 2 頭、体重約 12 kg) を用い、精製級ノシヘプタイド (823mg (力価) /g) 添加飼料を 9 日間給与後、 $^{14}\text{C}$  標識精製級ノシヘプタイドの経口投与 (約 0.7 mg (力価) /kg 体重) 試験が実施され、投与 24 時間後における放射能を測定した。

主要な排泄経路は糞であるが、少なくとも投与量の 50%が投与 24 時間後に腸管内に認められた。また、投与量の 0.6%が尿中に排泄された。

低レベルの  $^{14}\text{C}$  が組織中にみられたが、測定不可能であり、全組織中の  $^{14}\text{C}$  の残留は 0.1 ppm 以下であった。

## (4) 残留試験 (鶏)

鶏を用いた精製級ノシヘプタイド投与による残留試験が実施された (表 1)。

表 1 鶏を用いた残留試験の概要

添加期間・種類	飼料添加量 (mg (力価) /kg 飼料)	試料採取部位	試験成績概要
10 日間 採卵鶏中雛 (60 日齢)	0、約 12,000	筋胃、肝臓、 腎臓、心臓、 血液、脂肪、 胸筋、胆汁、 脾臓、皮膚、 腸管、腸内 内容物	最終投与直後、血液を除く全ての試料で検出され、特に濃度が高かったのは、筋胃の 6.4 ppm、腸管の 18.25 ppm、腸内容物の 2,800 ppm であった。最終投与 1 日後に検出されたのは筋胃、胆汁、皮膚、腸管、腸内容物で、最終投与 3 及び 5 日後に検出されたのは筋胃 (0.15 及び 0.05 ppm)、皮膚 (0.25 及び <0.025 ppm)、腸内容物 (0.38 及び 0.06

			ppm) であった。
7週間 ブロイラー (1週齢)	0、2.5 (2.3~2.6)、 20 (18.0~17.6)、 125(113.0~127.5)、 250(220.0~240.0) ※ () 内は実測値	胸筋、肝臓、 腎臓、心臓、 脂肪、血液、 筋胃	250 mg (力価) /kg 飼料添加群 において、中間と殺時 (4週齢) の筋胃に 0.068ppm、最終投与 直後の脂肪に 0.029 ppmが検出 された以外、全て検出限界 (0.025 ppm) 未満であった。
7週間 ブロイラー	0、100、200	肝臓、腎臓、 筋肉、脂肪 付皮膚	最終投与直後の 200 mg (力価) /kg 飼料添加群において、肝臓 に 0.044 ppm、皮膚に 0.06 ppm、筋肉に 0.028 ppmが検出 され、100 mg (力価) /kg 飼料 添加群において、腎臓及び皮膚 に 0.029 ppmが検出された。
8週間 ブロイラー (0週齢)	0、2.5、20、125、 250	胸筋、肝臓、 腎臓、心臓、 脾臓、皮膚、 脂肪、血液、 筋胃、小腸、 大腸	中間と殺時 (4週齢)、最終投与 直後及び最終投与 1日後の小腸 及び大腸を除いて、全て検出限 界 (0.025 ppm) 未満であった。 腸における残留は、内容物の粘 膜への付着が原因と考えられ た。

### (5) 残留試験 (豚)

豚を用いた精製級ノシヘプタイド投与による残留試験が実施された (表 2)。

表 2 豚を用いた残留試験の概要

添加期間・ 種類	飼料添加量 (mg (力 価) /kg 飼料)	試料採取 部位	試験成績概要
1週間 36日齢	0、約 11,000	筋肉、肝臓、 腎臓、脾臓、 心臓、脂肪、 皮膚、血液、 小腸	最終投与直後では、小腸で 0.048 ppm、脂肪で 0.180 ppm、 皮膚で 0.368 ppmが検出された 以外、全て検出限界 (0.025 ppm) 未満であった。最終投与 1日後では、皮膚で 0.109 ppm、 脂肪で 0.038 ppmであった。 皮膚については、何らかの原因 で体表に付着したノシヘプタイ ドが検出されたものと考えられ

			た。 小腸については、ノシヘプタイドと直接、接触する部位であり、採取時に十分洗浄したにもかかわらず、なおも残存し、検出されたものと考えられた。
6週間 36日齢	0、10、500	筋肉、肝臓、腎臓、脾臓、心臓、脂肪、皮膚、血液、小腸	中間と殺時（投与4週目及び6週目）の500 mg（力価）/kg 飼料添加群で、小腸で0.025～0.027 ppmが検出された以外、全て検出限界（0.025 ppm）未満であった。
90日間 8週齢	0、10、50、250	筋肉、肝臓、腎臓、小腸、脾臓、脂肪、血清	中間と殺時（投与45日後）及び最終投与直後の250 mg（力価）/kg 飼料添加群において、小腸で低濃度の残留（0.038～0.301 ppm）が見られたが、最終投与1日後では検出限界（0.025 ppm）未満となった。
112～113日間 平均55日齢	0、47.3、194	皮膚、脂肪、腿筋、腰肉、肝臓、腎臓	最終投与直後の全添加群において、全て検出限界（0.025 ppm、雄の皮膚のみ0.05 ppm）未満であった。

## 2. 急性毒性試験（マウス、ラット及び鶏）

マウス、ラット及び鶏を用いたノシヘプタイド（飼料級及び精製級）の急性毒性試験が実施された（表3）。ラット（雄）の皮下投与においてのみ死亡例が認められた（1/10例）以外に、死亡例は認められなかった。

表3 急性毒性試験の概要

動物種	投与方法	LD <sub>50</sub> (mg/kg)	検体の純度
マウス	経口	雄及び雌 >10,000	95.7 mg（力価）/g
	皮下	雄及び雌 >5,000	95.7 mg（力価）/g
	経口	雄及び雌 >10,000	980 mg（力価）/g
	皮下	雄 >2,500	1,086 mg（力価）/g
	腹腔内	雄 >2,500	1,086 mg（力価）/g
ラット	経口	雄及び雌 >14,000	95.7 mg（力価）/g

	皮下	雄及び雌 >5,000	95.7 mg (力価) /g
	経口	雄及び雌 >10,000	908 mg (力価) /g
	経口	雄及び雌 >13,060	1,015 mg (力価) /g
	腹腔内	雄及び雌 >4,610	1,015 mg (力価) /g
鶏	経口	雄及び雌 >4,000	933 mg (力価) /g

### 3. 亜急性毒性試験

#### (1) 12週間亜急性毒性試験 (ラット)

ラット (雌雄各 15 匹/群) を用いた精製級ノシヘプタイド (980 mg (力価) /g) の 12 週間混餌投与 (0、200、1,000、5,000 ppm 添加) による亜急性毒性試験が実施された。

試験期間中に死亡例は認められず、各投与群とも健康状態は良好であった。

5,000 ppm 投与群の雄にごくわずかな体重減少、1,000 ppm 投与群の雌にごくわずかな体重増加が認められた。病理学的検査では、1,000 ppm 投与群の雌に肝臓重量の減少が認められたが、飼養試験成績、臨床検査所見及び病理学的所見では、5,000 ppm 以下の添加量において、ノシヘプタイドに起因すると考えられる異常は認められなかった。

#### (2) 13週間亜急性毒性試験 (マウス)

マウス (Crj : CD-1 (ICR) 系、雌雄各 12 匹/群) を用いた飼料級ノシヘプタイド (89.2 mg (力価) /g) の 13 週間混餌投与 (0、2,000、10,000、50,000 ppm 添加) による亜急性毒性試験が実施された。

各投与群の一般状態に異常はなく、死亡例も認められなかった。

2,000 ppm 以上投与群の雌及び 50,000 ppm 投与群の雄に飲水量の増加が認められたが、体重及び摂餌量に対する影響は認められなかった。飲水量の増加については、その程度が軽度であるとともに、血液学的検査及び血液生化学的検査でも異常は認められなかったことから、マウスに対してのどの渴きを引き起こすような飼料級ノシヘプタイドの特異臭によるものと考えられた。

また、飲水量の増加が認められた投与群を含めて、尿検査、血液学的検査、血液生化学的検査、剖検、臓器重量、病理組織学的検査の結果、ノシヘプタイドの投与に起因する影響は認められなかった。

#### (3) 13週間亜急性毒性試験 (ラット)

ラット (Crj : CD (SD) 系、雌雄各 10 匹/群) を用いた飼料級ノシヘプタイド (89.2 mg (力価) /g) の 13 週間混餌投与 (0、2,000、10,000、50,000 ppm 添加) による亜急性毒性試験が実施された。

各投与群の一般状態に異常はなく、投与に起因する死亡例も認められなかった。

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

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

剖検や器官重量においては、投与に起因する変化は認められなかった。

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

#### (4) 6ヶ月間亜急性毒性試験(イヌ)

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

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

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

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

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

#### 4. 慢性毒性試験及び発がん性試験

慢性毒性試験及び発がん性試験は実施されていない。

## 5. 生殖発生毒性試験

### (1) 発生毒性試験 (マウス)

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

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

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

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

### (2) 発生毒性試験 (ラット)

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

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

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

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

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

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

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

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

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

### (3) 発生毒性試験 (ウサギ)

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

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

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

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

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

## 6. 遺伝毒性試験

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

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

表 4 遺伝毒性試験の概要

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

## 7. その他の試験

### (1) 飼養試験 (鶏)

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

## (2) 飼養試験 (豚)

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

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

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

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

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

投与期間における一般状態の異常は認められなかった。

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

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

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

## 8. その他の知見

### (1) 皮膚等に対する刺激性について

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

に認められた。

- ② ウサギの背部皮膚に対する精製級ノシヘプタイド投与による局所毒性を検討したところ、皮膚に黄色の着色が認められた以外、異常は観察されなかったことから、ノシヘプタイドはウサギに対し皮膚刺激性がないものと考えられた。
- ③ 雄ウサギの結膜及び性器粘膜に対する精製級ノシヘプタイドの皮膚刺激性を検討したところ、その刺激性は小さかった。
- ④ 雄ウサギ（日本白色種、非洗眼群 6 匹、洗眼群 3 匹）を用いた飼料級ノシヘプタイド投与による眼一次刺激性を検討した。両群ともに、結膜の発赤や浮腫等の症状が認められたが、投与 48 時間後には消失した。両群を比較して症状の程度に明らかな差は見られず、洗眼の有効性は認められなかった。  
また、一般状態及び体重については、飼料級ノシヘプタイドの投与による変化は認められなかった。  
以上のことから、飼料級ノシヘプタイド投与はウサギの眼に一過性の眼刺激反応を示すと考えられた。

## (2) 皮膚感作性について

- ① モルモット（Hartley 系、30 匹）を用いた飼料級ノシヘプタイドの皮膚感作性試験を実施した。投与群及び対照群において、投与部位に皮膚の陽性反応は認められず、飼料級ノシヘプタイドは皮膚感作性を示さないと考えられた。
- ② モルモットを用いた耳-脇腹法による精製級ノシヘプタイドの皮膚感作性試験を実施したところ、精製級ノシヘプタイドは極めて弱い感作性を示すと考えられた。

## 9. 微生物学的影響に関する試験

### (1) 臨床分離菌に対する最小発育阻止濃度（MIC）（参照 3）

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

表 5 ノシヘプタイドの MIC

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

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

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

### III. 食品健康影響評価

#### 1. 毒性学的 ADI について

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

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

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

#### 2. 微生物学的 ADI について

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

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

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

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

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

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

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

\*2: 結腸内容物

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

### 3. ADI の設定について

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

### 4. 食品健康影響評価

以上より、ノシヘプタイドの食品健康影響評価については、ADI として次の値を採用することが適当と考えられる。

ノシヘプタイド 0.18 µg/kg 体重/日

暴露量については、当評価結果を踏まえ暫定基準値の見直しを行う際に確認することとする。

<別紙1 検査値等略称>

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

<参照>

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