

(案)

動物用医薬品評価書

ラクトフェリン

2012年2月

食品安全委員会動物用医薬品専門調査会

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）

〈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）

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

（2011年10月1日から）

三森 国敏（座長）
山手 丈至（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
寺本 昭二 山口 成夫
天間 恭介 山崎 浩史
頭金 正博 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、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 kDa² (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 ロープ及び C ロープ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)

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及び機能性食品の成分としての使用を認めている。(参照 5~7) 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、8)

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 本評価書案において、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、 $N=6.02 \times 10^{23}$ (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。

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 8)

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9）

(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10、11）

(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、¹²⁵I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（pH3.0）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12）

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 13、14)

(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 13)

(5) 薬物動態試験 (牛：吸収、乳房内投与)

乾乳期 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乳房に単回乳房内投与 (1 乳房当たり 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 ($\mu\text{g/mL}$)

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 15)

(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乳房当たり1g）し、経時的に乳汁中濃度が時間分解蛍光法（DELFLIA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 16）

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200mg（常用量）及び400mg（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（ $\mu\text{g/mL}$ ）

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 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)

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 : $7.8 \text{ ng}/\text{mL}$

- 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 $1,000 \mu\text{g}/\text{mL}$ と報告されている (参照 18)。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 $1,000 \mu\text{g}/\text{mL}$ 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 17)

(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（ $\mu\text{g/mL}$ ）

個体番号	乳房	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 18) 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 19)

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 20、21)

また、表 8 には MBP⁵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 22、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 22~24)

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 20、21)	<i>Salmonella typhimurium</i> TA100、TA1535、TA98、 TA1537、 <i>Escherichia coli</i> WP2 <i>uvrA</i>	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, benzol[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 22)	<i>S. typhimurium</i> 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 25)

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 26)

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、脾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、脾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 27～29）

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 22）

（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 22)

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 30)

(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 30、31)

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 22)

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 32)

(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 32)

(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 32)

(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 33)

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 33）

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 33）

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菌と細胞を共培養した場合でも、予めラクトフェリンに 30 分間暴露をすると、細菌数は有意に減少した。（参照 33）

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 33）

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 33）

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 μ g/dL) は、グループ 2 の増加量 (それぞれ 1.5 g/dL 及び 54.2 μ g/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 34)。

(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 μ g、卵白アルブミンで 0.1 μ g 及び牛血清アルブミンで 1 μ g 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 μ g 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 5)

ラクトフェリンを pH 2.5 の酸性条件下で 37 °C、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 12、35)

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 36)

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ではなく、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 6、7、37)

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、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
ADI	一日摂取許容量
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
DELFLA 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
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. 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)
4. 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
5. 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
6. 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
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, 13.3.5:
FDA: Agency Response Letter GRAS Notice No. GRN000077, CFSAN/Office of Food Additive Safety, August 14, 2001
8. 「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)
9. 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
10. 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)
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: 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
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: 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)
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 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)
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: 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
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: 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)
 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: 参考資料 8. 2-2):
Kuttila 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
 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: 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)
 18. 小峯優美子、小峯健一、貝健三、板垣昌志、植松正巳、木船厚恭ら. 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
 19. 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)
 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 6 6.1 ウシラクトフェリンの復帰突然変異試験 (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: 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
 22. 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
 23. Snow Brand Milk Products Co, Ltd.: GRAS EXEMPTION CLAIM FOR MILK BASIC PROTEIN (MBP®), 2006
 24. FDA: Agency Response Letter GRAS Notice No. GRN000196, CFSAN/Office of Food Additive Safety, September 1, 2006
 25. 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)
 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 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)
 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 5.2 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)
 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: 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
29. 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
30. 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
31. 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
32. 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)
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: 概要 (非
公表)
34. Paesano R, Torcia F, Berlutti F, Pacifici E, Ebanov 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
35. 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
36. 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
37. 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