

抗菌性物質投与における実験動物の盲腸所見の取扱いについて（案）

ここに示した取扱いは、これまでの動物用医薬品、飼料添加物等の評価における、ラット等の実験動物に抗菌性物質を投与した場合にみられる盲腸腫大等の盲腸所見の取扱いをまとめたものであり、今後の動物用医薬品、飼料添加物等の抗菌性物質の評価にあたり、盲腸所見を毒性影響と判断するか否かの参考になるものと考えられる。

ただし、動物用医薬品や飼料添加物の安全性評価は、固定的な判断基準に基づいて行われるべきものではなく、試験データを詳細に検証し、それぞれの物質の特性に応じて柔軟になされるべきものであり、ここに示した取扱いを機械的に適用すべきではない。

また、動物用医薬品や飼料添加物の評価方法は、科学の進歩を踏まえ、最新の情報により常に更新されるべきものである。

1. 実験動物

ここで検討される実験動物は、盲腸が発達しているげっ歯目（マウス、ラット等）及び重歯目（ウサギ）に限る。

2. 盲腸所見

盲腸所見とは、肉眼的にみられる以下の（１）～（３）のように表現されうち、病理組織学的変化を伴わないものを言う。これらの所見は盲腸重量の増加により確認される場合もある。[修文]（吉田委員）

- （１）盲腸拡張（caecal dilatation）
- （２）盲腸膨満（caecal distention）
- （３）盲腸腫大（caecal enlargement、caecal swelling）

3. 対象物質

動物用医薬品又は飼料添加物として使用される抗菌性物質（antimicrobials）で、抗生物質（antibiotics）及び合成抗菌剤（synthetic antimicrobials）を含む。

4. 国際機関での取扱い

（１）JECFA（参照 1～10）

JECFA で報告されている抗菌性物質のうち、盲腸所見について記載があった 8 物質*1 及び下痢・軟便について記載があった 2 物質*2 について記載を確認したところ、NOEL の記載がなかったり、記載されていても NOEL の根拠が不明であったり、盲腸所見を毒性影響と判断するか否かの説明がされていない等、不明確なものが多かったが、盲腸所見を毒性影響と判断している場合と毒性影響と判断していない場合があり、盲腸所見について統一的な取扱いはされていないと考えられた。また、盲腸所見と下痢・軟便の記載が併記されていた物質はなかったため、盲腸所見に付随して起こると考えられる下痢・軟便の取扱いについては、確認できなかった。

- *1 エンロフロキサシン、サラフロキサシン、セフトオフル、セフロキシム、
ダノフロキサシン、チアンフェニコール、チルミコシン、リンコマイシン
- *2 タイロシン、ピルリマイシン

(2) EMEA (参照 11~16)

EMEA で報告されている抗菌性物質のうち、盲腸所見の記載があった 6 物質*3 について記載を確認したところ、2 物質 (サラフロキサシン、セフォペラゾン) については、ラットの盲腸所見を毒性所見と判断していたが、盲腸所見に付随して起こると考えられる下痢・軟便の取扱いについては確認できなかった。残りの 4 物質については、NOEL の記載がなかったり、記載されていても NOEL の根拠が不明であったり、盲腸所見を毒性影響と判断するか否かの説明がされていない等の理由により、盲腸所見を毒性影響と判断しているのか不明であった。

- *3 エンロフロキサシン、サラフロキサシン、スピラマイシン、セフォペラゾン、
ダノフロキサシン、チアンフェニコール

5. 食品安全委員会での取扱い

(1) 動物用医薬品専門調査会 (参照 17~25)

これまでに動物用医薬品専門調査会で審議された抗菌性物質のうち、盲腸所見がみられた 9 物質*4 について評価内容を確認したところ、セフォペラゾンを除く 8 物質については、盲腸所見は抗菌性物質投与による二次的影響であり、毒性影響とは考えられないとしていた。セフォペラゾンについては、盲腸所見が見られた投与量で他の毒性所見が観察されたため NOAEL が求められておらず、盲腸所見を毒性影響と判断しているのか不明であった。

また、盲腸所見がみられた 9 物質のうち下痢又は軟便について記載ある物質は、硫酸コリスチン及びミロサマイシンを除く 7 物質であった。この 7 物質のうちエンロフロキサシンの亜急性毒性試験 (イヌ) では、散発的な嘔吐・下痢が見られた最低用量で NOAEL を設定していることから、下痢を毒性影響とみていないことが確認できた。そのほかのエンロフロキサシンの毒性試験及び 6 物質では、軟便や下痢が見られた投与量で他の毒性所見が観察されたため、軟便や下痢を毒性影響と判断しているのか不明であった。

- *4 エンロフロキサシン、オフロキサシン、硫酸コリスチン、セフォペラゾン、
セフキノム、チアンフェニコール、フロルフェニコール、マルボフロキサシン、
ミロサマイシン

[御意見] (高木委員)

下痢・軟便の所見があれば前述の JECFA と EMEA にあわせて記載した方が良い。

「盲腸所見は抗菌性物質投与による二次的影響であり、毒性影響とは考えられないとしていた。」の文について、二次的な影響ならば毒性影響としないでよいという考えかたにも疑問の余地がある。例えば、生体の一部に炎症があり、二次的に、消化管からの鉄吸収が抑制され、貧血が起こった場合でも貧血自体は毒性影響といえる。大事なものは、二次的か否かより、認められた所見の有害度の強さである。

(2) 他の専門調査会 (参照 26~29)

農薬専門調査会で審議された抗菌性物質のうち、盲腸所見のみられた ~~23~~物質*5 について評価内容を確認したところ、盲腸所見を毒性影響と判断している場合と毒性影響と判断していない場合があり、取扱いは統一されていなかった。

肥料・飼料等専門調査会で審議された抗菌性物質については、1物質（ノシヘプタイト）に盲腸所見がみられており、毒性的意義は乏しいとされ、NOAEL から毒性影響とは判断していないことが確認された。

*5 ~~プロモブチド (除草剤)~~、シフルフェナミド（殺菌剤）、
プロチオコナゾール（殺菌剤）

また、下痢又は軟便が見られた4物質*6について評価内容を確認したところ、プロチオコナゾール及びフルジオキシニルにおいては、下痢を毒性影響とみていることが確認できた。残りの3物質については、軟便や下痢が見られた投与量で他の毒性所見が観察されたため、軟便や下痢を毒性影響と判断しているのか不明であった。

*6 シフルフェナミド（殺菌剤）、プロチオコナゾール（殺菌剤）、
ナタマイシン（抗生物質）、フルジオキシニル（殺菌剤）

[御意見]（高木委員）

同じく、下痢・軟便の取り扱いについても前述の JECFA と EMEA に合わせて記載した方が良い。

6. 取扱いを検討する上でのポイント

(1) 実験動物の特異性（参照 11～16、30、31）

ウサギ、モルモット、ラットなどの実験動物の盲腸、結腸には、多くの種類かつ膨大な数の細菌、原生動物が常在し、微生物発酵作用によるセルロースの分解が行われている。そのため、抗菌性物質の投与により腸内細菌の変化を受けやすく、下痢などを起こしやすいことが考えられる。また、食糞行動をもつ実験動物では、抗菌性物質の投与によりビタミン欠乏を起こすことも考えられる。

[御意見]（高木委員）

「そのため、抗菌性物質の投与により腸内細菌の変化を受けやすく、下痢などを起こしやすいことが考えられる」。

この文については根拠となる文献等が示されるべきである。この点について確認するため、提出されたホスホマイシンのデータを比較したところ、イヌ 182 日間試験で 280mg/kg/day で盲腸腫大が見られ、ラット 182 日間試験では 175mg/kg/day で盲腸腫大が見られており、感受性について少なくともイヌとラットで顕著な差はないように思われる。

EMEA の評価では、盲腸所見は高用量の抗菌性物質の投与で見られる ~~ラット~~又はげっ歯類に共通の所見である旨を記載している。[修文] 桑形委員

また、「食品添加物の安全性評価の原則」¹（林 裕造監訳、薬事日報社）では、「盲腸の

¹ “ENVIRONMENTAL HEALTH CRITERIA 70, PRINCIPLES FOR THE SAFETY ASSESSMENT OF FOOD ADDITIVES AND CONTAMINANTS IN FOOD”（JECFA）を監訳したもの。

腫大はげっ歯類の実験においてしばしば見られる所見であるが、無菌状態で標準飼料により飼育されたげっ歯類における正常像である。この変化は非栄養成分（例えばある種の許可済み食用色素、サッカリン）や、ある種の栄養成分（例えば、化工でん粉、植物性樹脂、ラクトース、各種ポリオール）を高濃度に添加した飼料で飼育したげっ歯類、特にラットでみられる共通の反応である」と記載している。(5.1.2)

(2) 腸毒性のメカニズム (参照 32)

「毒性学—生体・環境・生態系—」(朝倉書店)によると、腸毒性のメカニズムとして以下の5つが挙げられており、盲腸所見はこのうち⑤によって生じると考えられているが、他の要素との複合的な作用により生じる可能性があることも考慮する必要がある。 [修文] (吉田委員)

- ① 腸の粘膜上皮の障害
- ② 分泌障害
- ③ 腸管運動に対する影響
- ④ 養分吸収の障害
- ⑤ 大腸の腸内細菌に対する影響

(3) 盲腸腫大 (caecal enlargement) による影響のメカニズム (JECFA) (参照 31)

「食品添加物の安全性評価の原則」において、げっ歯類における正常像としながらも、「下部腸管内で基質量が増加すると盲腸内の浸透圧が上昇を~~するがし~~ (別の修文案：盲腸内の浸透圧が上昇するが)、これ~~は~~が盲腸の腫大として検出される(5.1.2項)。盲腸腫大は、次の3つの異常の指標となり得るため、腫大の原因をよく検討して、その障害の意義を評価しなければならない。 [修文] (吉田委員) (桑形委員)

- ① 浸透圧バランスの異常の結果、盲腸内におけるミネラルの透過性が変化し、腎石灰化症をひきおこす場合がある。
 - ② 栄養物が細菌によって代謝され毒性のある代謝物の産生や窒素バランスの異常をもたらす場合がある。
 - ③ 食品添加物が細菌によって代謝され毒性のある物質を生成する場合がある。」
- としている。(5.2.4.2項)

「毒性試験を解析し、無影響量を設定する場合には、全体的に正常な生理的過程もしくは生体の恒常性を維持する機構に起因する可逆的変化と、毒物反応それ自身に起因する可逆的変化との間を区別しなければならない。(中略)しかしながら、これらの変化を解釈する際には注意が必要であり、それらを毒性の観点からは意味のないものとして自動的に退けてしまってはならない」としている。(5.5.3項)

(4) 微生物学的 ADI について (参照 33)

抗菌性物質は、ヒトが摂取した後、結腸に到達し、微生物学的活性が残っている場合には、ヒト腸内細菌叢に影響を及ぼすことが考えられる。

したがって、抗菌性物質の食品健康影響評価に当たっては、通常の毒性学的 ADI に加えて、ヒトの腸内細菌などの生育を阻止する濃度を測定した試験データから、ヒトの腸内細

菌叢への影響が認められないと推定される1日当たりの摂取量として微生物学的 ADI の設定を行うこととしている。

7. 今後の取扱い

抗菌性物質を投与した実験動物において、抗菌性物質の抗菌活性により腸内細菌の変動の結果として、しばしば盲腸所見がみられるが、一般に、実験動物の盲腸には多くの種類かつ膨大な数の細菌が常在しており、抗菌性物質の影響を受けやすく盲腸所見を生じやすいものと考えられるため、実験動物の盲腸所見を、直ちにヒトの腸内細菌叢に対する影響に外挿することは適当でないと考えられる。[修文] (今井委員)

[御意見] (高木委員)

提出されたホスホマイシンのデータを基に、ラットとヒトの下痢発生の用量を比較すると、ヒトの臨床用量（静注）は成人で1日当たり2-4g力価であり、下痢が0.1-5%の頻度で、また腸内細菌への抗菌作用により生じる偽膜性大腸炎が0.1%未満の頻度で生じることが添付文書に記載されている。ヒトの体重を50kgとすると、4g摂取では80mg力価/kg体重と計算出来る。一方、ラットでの下痢は35日試験で175mg力価/kg体重、182日試験で87.5mg力価/kg体重で認められている。投与経路、投与期間等の違いがある（ヒトに経口投与で長期投与すればさらに低用量で下痢が起こる可能性がある）ものの、下痢の発現用量に顕著な種差が存在する様には思えず、むしろラットでの下痢を含む盲腸所見はヒトの腸内細菌叢に対する影響を質的及び量的に推測するのに良い指標である可能性があると思われた。

抗菌性物質の食品健康影響評価に当たっては、ヒトの腸内細菌叢への影響について評価する必要があると考えられるが、当該影響については、微生物学的 ADI を設定することにより別途適切に評価されることから、実験動物の腸内細菌叢の変化に伴う盲腸所見（それに付随した所見と考えられる下痢、軟便、血液・生化学的变化で示される電解質の異常や脱水及び盲腸重量の増加を含む。）については、毒性影響とみなさないとする動物用医薬品専門調査会における従前からの取扱いとする。ここでいう血液・生化学的变化については他の要因（摂餌量の減少に伴う飲水量の減少や腎毒性など）によっても生じる可能性があるので、盲腸所見に伴う一連の変化であるかどうかについて十分注意し評価を行う。[修文]

(吉田委員)

[御意見] (高木委員)

過去の取り扱いについては整合性の見地からも尊重されるべきであるが、微生物学的 ADI を別途評価することが、盲腸所見と下痢を毒性とみなさなくて良いことの理由にはならない。微生物学的 ADI を別途評価するならば、盲腸所見と下痢を毒性とみなしても不都合は無いはずである。また、盲腸所見を2.で定義しておきながらここで下痢、軟便、盲腸重量の増加を付随した所見という理由で加えているのも問題が有る。少なくとも、下痢それ自体はラットであれ、ヒトであれ腸管の正常機能が障害されている状態なので毒性ととらえるべきである。

しかしながら、これらの盲腸所見との関連性が不明な所見がみられた範囲を超えた場合（腸の糜爛・潰瘍、炎症等の病理学的変化やそれによる粘液便や出血便など）腸毒性とされる分泌障害、腸管運動に対する影響及び養分吸収の障害等については、必ずしも抗菌性物質の投与による腸内細菌叢の変化の結果とは考えられないことから、その都度確認の上、毒性影響とみなすかどうかを判断することとする。[修文]（吉田委員）（今井委員）

評価書の記載については、従来どおり、所見として盲腸所見を記載した上で、「抗菌性物質の投与による腸内細菌叢の変動に伴う変化であり、げっ歯類等に特異的な反応であることから、毒性影響の指標としては適当でないと判断された」等の記載を行い、毒性影響とは判断しないこととする。

[御意見]（高木委員）

これまでの考察をまとめた私見としては「検討した例数は少ないながら盲腸所見はげっ歯類等に特異的な反応であるとは結論されず、また、ヒトの腸内細菌叢への影響を *in vivo* で推定する指標として有用である可能性があるため、毒性影響の指標として無視することは適当でないと判断された」ということとなります。

したがって、盲腸所見について毒性影響の指標としての適否を、現時点でどちらか一方に確定することは現在の科学的知見に照らして時期早生であると判断されますので、食品安全委員会としては注意深くもっと多くのデータを吟味し、また、国際動向も参考にしつつ（日本だけが一方的に不利にならないよう）、成文化は慎重にすべきであるというのが私のコメントです。

	実験動物（盲腸が発達しているげっ歯目・重歯目）	左記以外の実験動物
盲腸所見	軟便・下痢を伴った場合でも原則毒性所見とはみなさない。盲腸重量の増加についても同様とする。 〈前提〉 ・別途、微生物学的 ADI が検討されること。 ・腸内細菌叢の変化に伴う軟便・下痢の <u>範囲を超えとの関連が不明な所見を伴わないこと。</u> <u>[修文]（今井委員）</u> 〈対応〉 ・所見としての記載は行い、毒性影響と判断しなかった旨を明記する。	特段の理由がない限り、毒性所見と考える。

[御意見]（吉田委員）

盲腸所見：

1)盲腸膨満→2)下痢・軟便→3)電解質異常や脱水（血液濃縮＝赤血球数や蛋白の増加あるいは尿比重の増加）までは一連の変化とし、それ以上の変化、4)腸の糜爛・潰瘍や炎症、粘膜の萎縮・変性、それによる粘液便や出血便、さらにこれらによる全身性の影響（血液

中の炎症細胞の増加や他臓器への炎症の波及)などは通常みられないので毒性 (adverse effect) として扱ってはどうかと思いました。

〈参照〉

1. JECFA. WHO Food Additives Series 34, Enrofloxacin, nos 822.
2. JECFA. WHO Food Additives Series 41, Sarafloxacin, nos 919.
3. JECFA. WHO Food Additives Series 36, Ceftiofur, nos 857.
4. JECFA. WHO Food Additives Series 49, Cefuroxime, nos 1048.
5. JECFA. WHO Food Additives Series 39, Donofloxacin, nos 887.
6. JECFA. WHO Food Additives Series 43, Antimicrobial agent: Thiamphenicol, nos 959.
7. JECFA. WHO Food Additives Series 38, Tilimicosin, nos 878.
8. JECFA. WHO Food Additives Series 45, Lincomycin, nos 988
9. JECFA. WHO Food Additives Series 29, Tylosin, nos 738.
10. JECFA. WHO Food Additives Series 53, Pirlimycin, nos 1115.
11. EMEA. Committee for Veterinary Medicinal Products, ENROFLOXACIN, Summary Report (1)-(5)
12. EMEA. Committee for Veterinary Medicinal Products, SARAFLOXACIN, Summary Report (1), (2)
13. EMEA. Committee for Veterinary Medicinal Products, SPIRAMYCIN, Summary Report (1)-(3)
14. EMEA. Committee for Veterinary Medicinal Products, CEFOPERAZONE, Summary Report (1), (2)
15. EMEA. Committee for Veterinary Medicinal Products, DANOFLOXACIN, Summary Report (1)-(2), (1) (Pigs)-(2) (Pigs), (Milk), (6) (All Food producing species)
16. EMEA. Committee for Veterinary Medicinal Products, THIAMPHENICOL, Summary Report (1)-(6)
17. 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 5 月 18 日付 府食第 401 号) 別添 動物用医薬品評価書 (別添) エンロフロキサシンの食品健康影響評価について, 2006 年
18. 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 17 年 11 月 24 日付 府食第 1141 号) 別紙 動物用医薬品評価書 (別添) オフロキサシンの食品健康影響評価について, 2005 年
19. 食品安全委員会. 「食品健康影響評価の結果の通知」(平成 20 年 1 月 24 日付 府食第 81 号) 別添 動物用医薬品・飼料添加物評価書コリスチン, 2008 年
20. 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 19 年 12 月 20 日付 府食第 1242 号) 別添 動物用医薬品評価書セフォペラゾン, 2007 年
21. 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 20 年 12 月 18 日付 府食第 1361 号) 別添 動物用医薬品評価書セフキノム, 2008 年
22. 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 19 年 10 月 4 日付 府食第 973 号) 別紙 動物用医薬品評価書チアンフェニコールに係る食品健康影響評価について, 2007 年
23. 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 19 年 8 月 30 日付 府食第 822 号) 別紙 動物用医薬品評価書フロルフェニコールの食品健康影響評価について, 2007 年
24. 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 19 年 8 月 9 日付 府食第 767 号) 別紙 動物用医薬品評価書マルボフロキサシンに係る食品健康影響評価について, 2007 年

25. 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 20 年 8 月 7 日付 府食第 862 号) 別添 動物用医薬品評価書ミロサマイシン, 2008 年
26. 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 21 年 6 月 25 日付 府食第 615 号) 別添 飼料添加物評価書ノシヘプタイト, 2009 年
27. 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 20 年 1 月 10 日付 府食第 30 号) 別添 農薬評価書プロモブチド, 2008 年
28. 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 21 年 4 月 16 日付 府食第 383 号) 別添 農薬評価書シフルフェナミド, 2009 年
29. 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 21 年 7 月 23 日付 府食第 700 号) 別添 農薬評価書プロチオコナゾール, 2009 年
30. 笠井憲雪、吉川泰弘、安居院高志編. 「現代実験動物学」株式会社朝倉書店. 2009 年初版.
31. 林裕造監訳. 「食品添加物の安全性評価の原則」薬事日報社. 1989 年
32. 藤田正一編. 「毒性学—生体・環境・生態系—」株式会社朝倉書店. 1999 年初版.
33. 動物用医薬品関係事務の取扱いについて(平成 12 年 3 月 31 日付 12-33 農林水産省畜産局衛生課 薬事室長通知)