

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

平成 21 年 11 月 20 日 肥料・飼料等専門調査会決定

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及びそれに付随して起こると考えられる下痢・軟便等の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、盲腸所見等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、病理組織学的変化等、腸内細菌叢の変動との関連性が不明な所見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。

- （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 で評価・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・軟便の記載があった 2 物質*2 について確認したところ、NOEL の記載がない、記載されていても NOEL の根拠が不明、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 で評価・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 の記載がない、記載されていても NOEL の根拠が不明、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評価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明確でなかった。

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¹。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明確でなかった。

*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

(2) 肥料・飼料等専門調査会 (参照 26)

肥料・飼料等専門調査会で評価された抗菌性物質については、1 物質 (ノシヘプタイド) に盲腸所見がみられており、毒性的意義は乏しいとされ、毒性影響とは判断していなかった。下痢・軟便の所見はみられなかったため、毒性影響と判断しているのか確認

¹ イヌで見られたこの嘔吐・下痢は、散発的であったことから毒性影響とみていないと考えられた。

できなかった。

(3) その他の専門調査会 (参照 27～30)

抗菌性物質又は抗菌性物質ではないが殺菌作用をもつ物質で盲腸所見が観察された物質における盲腸所見及び下痢・軟便の取扱いは以下のとおりであった。

農薬専門調査会において評価された 2 物質*5 について確認したところ、盲腸所見を毒性影響と判断していた。

また、農薬専門調査会又は添加物専門調査会において審議された下痢又は軟便が見られた 4 物質*6 について確認したところ、プロチオコナゾール及びフルジオキシニルについては、下痢を毒性影響と判断していた。残りの 2 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。

*5 シフルフェナミド (農薬：殺菌剤)、プロチオコナゾール (農薬：殺菌剤)

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

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、31～35)

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ほか、一部の実験動物では、蛋白およびビタミン類の再吸収のため食糞行動を示すことが知られている。(参照 31) また、実験動物の盲腸は、ウサギのような草食動物が持つ大きく解剖学的に複雑な盲腸とイヌのような肉食動物が持つ小さな盲腸の中間の大きさである。(参照 32)

毒性実験、特にげっ歯類を用いた毒性試験において、大量の抗菌性物質を連続投与すると、しばしば下痢あるいは軟便、腸内容物の増加を伴った盲腸の腫大が生じることが知られている。その原因として、抗菌性物質投与による腸内細菌叢、特に水分吸収あるいは粘液代謝に関与する細菌の減少に起因した盲腸内の水分あるいは電解質の変化が考えられている。(参照 33)

大きく機能的に活性化している盲腸を持つ動物は、痕跡程度の盲腸を持つ種 (イヌやヒトを含む) と著しく異なった化学物質の透過率 (compound passage rate) を示され、これを踏まえてトキシキネティクス及び薬物代謝のデータを解釈する必要がある。(参照 34)

盲腸腫大は、げっ歯類において様々な化合物や食品添加物に対する反応として観察される。これらには、抗菌性物質、化工でん粉、多価アルコール (ソルビトールやマンニトール)、線維性物質、及びラクトースが含まれる。生のジャガイモでん粉を給餌したラットにおいては盲腸腫大に関連して死亡率が増加することも知られている。げっ歯類の盲腸の腫大は、毒性とも適応反応とも解釈される。(参照 34)

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げっ歯類に共通の所見である旨を記載している。

また、「食品添加物の安全性評価の原則」²（林裕造監訳、薬事日報社）では、「盲腸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（注1）。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（注2）」と記載している。（5.1.2 項）

注1：腸内細菌叢が盲腸内の浸透圧調整に関与しているため。

注2：吸収不良や浸透圧上昇の影響と考えられる。

（2）腸毒性のメカニズム（参照 36）

「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。

- 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（JECFA）（参照 35）

「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、「下部腸管内で基質質量が増加すると盲腸内の浸透圧が上昇し、これ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。

- 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变化と、毒物反応それ自身に起因する可逆的变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）

² “ENVIRONMENTAL HEALTH CRITERIA 70, PRINCIPLES FOR THE SAFETY ASSESSMENT OF FOOD ADDITIVES AND CONTAMINANTS IN FOOD”（JECFA）を監訳したもの。

(4) 微生物学的 ADI について (参照 37)

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る腸内細菌叢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、実験動物の盲腸はヒトの盲腸に比べて大きく、多くの種類かつ膨大な数の細菌が常在しており、腸内細菌叢もヒトのものとは異なっていることから、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。

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、実験動物の腸内細菌叢の変動に伴うと考えられる盲腸所見については、原則としてヒトへの毒性影響と判断し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。

一方、下痢、軟便、さらには、血液・生化学的変化で示される電解質の異常や脱水等の所見については、盲腸所見に付随して起こる所見と考えられる場合もあるが、ヒトにおいても腸内細菌叢が変動した結果として下痢や軟便が見られることがあること、また、他の要因によっても生じる可能性があることから、これらの所見が盲腸所見に伴う一連の変化であるかどうかについて、その都度確認の上、十分注意して評価を行い、毒性影響とみなすかどうか判断することとする。

評価書の記載については、従来どおり、毒性影響と判断しなかった所見についても本文に明記した上で、「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、げっ歯類等の盲腸の特異性を考慮すると、毒性学的意義に乏しい変化と判断された」等の記載を行う。

なお、本取扱いは、微生物学的 ADI を設定することによりヒトの腸内細菌叢への影響について、別途評価が行われることを前提とする。

表 1 今後の取扱い

	実験動物（盲腸が発達しているげっ歯目・重歯目）	左記以外の動物
盲腸所見	盲腸所見については、原則ヒトへの毒性影響と判断しない。 〈前提〉 ・別途、微生物学的 ADI が検討されること。 〈評価書への記載方法〉 ・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。
下痢、軟便等の盲腸所見に付随して起こると考えられる所見	盲腸所見に伴う一連の変化であるかどうかについて、その都度確認の上、十分注意して評価を行い、毒性影響とみなすかどうかを判断する。 〈毒性影響と判断しない場合の前提〉 ・別途、微生物学的 ADI が検討されること。 〈毒性影響と判断しない場合の対応〉 ・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。	

〈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, Tilmicosin, 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 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
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 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
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 17 年 5 月 6 日付府食第 460 号) 別添 ナタマイシンを添加物として定めることに係る食品健康影響評価に関する審議結果, 2005 年
30. 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 16 日付府食第 682 号) 別添 農薬・添加物評価書フルジオキシニル, 2009 年
31. 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.
32. Peter Greaves. Histopathology of Preclinical Toxicity Studies. Third edition. Academic Press. 2007
33. 前川昭彦、林祐造編集. 「毒性試験講座 5 毒性病理学」地人書館. 1991 年
34. T. A. Bertram. Handbook of Toxicologic Pathology. Second edition. Vol.2. Edited by Wanda M. Haschek, Colin G. Rousseaux, Matthew A. Wallig. Academic Press. 2002
35. 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
36. 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.
37. 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)