

ナイシンに関する論点整理及び追加資料

1. 幼若マウスを用いた亜慢性毒性試験（引用文献 5-10）における生存率について整理をした上で、ADI の設定について検討することとする。

（1）引用文献 5-10（以下、文献 a）及びその関連論文（第 7 回調査会配布資料 1-3「追加関連論文」の 4 及び 5：以下、文献 b 及び c）の生存率及びこれらについての国際機関等における評価状況 別紙 1 参照

（2）文献 a に対する Letter to Editor（第 7 回調査会配布資料 1-3「追加関連論文」の 3：以下、文献 d）における記載事項

文献 b には、「英国およびソビエトで製造されたナイシン製剤の動物に対する毒性の比較検討により、実験室マウスに対する作用に本質的な違いはなかった。」との記載がある。文献 b は、文献 a と同じソ連医科学アカデミー食品研究所から 1 年前の 1969 年に報告され、離乳マウスを使用していることから、文献 a の結論と矛盾する。

多くの試験で対照群の死亡率が非常に高いことに対する説明がされていない。

Table 3 において、対照群の雄の生存率が、8 ヶ月時点（生存率 72.5%）よりも 2.5 ヶ月の時点（生存率 60%）の方が低いことに対する説明がされていない。

372 ページのマウスの 2 ヶ月試験で「生存率と摂餌量において、投与群と対照群で有意な差はなかった」と記載されている*が、Table 3 において、2.5 ヶ月時の 4 mg/kg ナイシン投与群の生存率は、雄、雌それぞれ 12 及び 32%と対照群（雄、雌それぞれ 60、62%）に比べ低く、説明とデータの間に矛盾がある。

（*事務局注：本記載は、食餌制限前と後のどちらについての記述か不明である。）

（3）文献 a に対する要請者の見解

対照群の死亡率

対照群の 2.5 ヶ月時点（10 週時）の死亡率が 40%と異常に高い。日本クレアの資料（別紙 2：要請者提出補足資料）では、比較的寿命が短いマウス（雌）でも、死亡率が 20%程度となる週齢は 25 週齢程度（BALB/cAJcl マウス）、40%となるのは 55 週齢（C3H/HeNJcl-MTV+マウス）である。従って、使用したマウスの飼育環境が極端に劣悪であると推察される。

ナイシン投与離乳マウスの死亡率

2.5 ヶ月時の 4 mg/kg ナイシン投与群の生存率は、雄、雌それぞれ 12 及び 32%と対照群（雄、雌それぞれ 60、62%）に比べ低い値となっている。1 群 50 匹の試験であり、生存率の差の検定は可能だが、有意差検定はされていない。

マウスの死因

対照群、ナisin投与群の死亡率が高いにもかかわらず死因に関する記述がなされていない。

以上の理由から、文献 a の報告は、試験自体が非常に粗雑であり、データの信頼性が低いため、ナisin毒性の評価資料として不適であると考えられる。

(4) 関連論文の検索

上記以外に同様の影響をみた論文は見当たらなかった。(別紙3：要請者提出補足資料)

2.2 年間慢性毒性試験(引用文献 5-1)*については、飼育環境が劣悪な可能性があることを考慮した方が良い。*JECFA 及び米国で ADI の設定根拠としている文献

3. 摂取量の推定について、欧米における推定摂取量のデータがあると良い。

別紙4(要請者提出補足資料)参照。

4. 遺伝毒性及び交差耐性については問題ない。ただし、耐性菌についてはモニタリングが必要。

(別紙 1)

ナイシン：幼若マウスを用いた反復投与試験における生存率

文献	試験期間	投与量	系統	初期体重	生存率
文献 a (1970)	2 ヶ月 (2 ヶ月 後 から 50% 食 餌制限)	0、0.4、4.0、400 mg/kg 体重/日	K18・ブレ ット 白色	8-10g 15-20g	投与群と対照群に著明な差はみ られなかった。 5 日間食餌制限後の生存率(%) 0 mg/kg (対照群) 57 0.4 mg/kg 投与群 65.5 4.0 mg/kg 投与群 51.6 400 mg/kg 投与群 30
	3 ヶ月	0、4.0 mg/kg 体重/日		8-10g	2.5 ヶ月時点の生存率 (%) 雄 雌 対照群 60 62 投与群 12 32
	17 ヶ月	0、2 mg/kg 体重/日		10-20g	(ナイシン単独投与群の生存率 に関する記載なし)
文献 b (1969)	9 ヶ月	イギリス製： 4 mg/kg (1,000 RU/mg) ソビエト製： 80 mg/kg (50 RU/mg)	不明	11-12g	イギリス製とソビエト製の比較 の結果、マウスへの影響には本質 的な差異はみられなかった。 雌の死亡率 対照群 0% イギリス製 40% ソビエト製 50%
文献 c (1965)	8 ~ 18 ヶ月 3 ヶ月	0、0.4、4.0、400 mg/kg 体重/日	アルビノ	各種 体重 (8-25g ?)	ナイシンを投与したマウス (の 雄 ?) の生存率が低下。

国際機関等における評価

	文献 a (1970)	文献 b (1969)	文献 c (1965)
JECFA (1968) [2-4]	引用なし	引用なし	引用なし
米国 FDA (1984) [2-11]	引用あるが、特段のコメントなし	引用あるが、入手不 可能とされている。	引用なし
EU (SCF) (1990) の 引用 文 献 (1982) [2-13-a]	2 ヶ月及び 3 ヶ月間反復投与試験 について「No adverse effects were observed.」としている。	引用なし	引用なし

近交系間交配マウス(1)

SPF/VAF Crj: BDF1マウス

C57BL/6NCrj (♀) × DBA/2NCrj (♂)

特長・用途

- C57BL/6、またはDBA/2からの皮膚・癌細胞等が移植可
- 制癌剤スクリーニングに好適
- 丈夫で飼いやすい
- 体重などのバラツキが少ない
- 発生工学分野でよく使用される



Crj: BDF1

毛色

Black (aaBbCC)

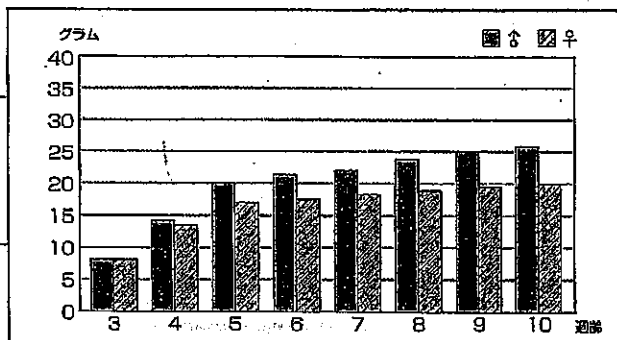
H-2ハプロタイプ

(主要組織適合性遺伝子複合体)

H-2 b/d

体重グラフ

(ご発注時の目やすにご利用ください)



SPF/VAF Crj: CDF1マウス

BALB/cAnNCrj (♀) × DBA/2NCrj (♂)

特長・用途

- BALB/cまたはDBA/2からの皮膚・癌細胞等が移植可
- 制癌剤スクリーニングに好適
- 丈夫で飼いやすい
- 体重などのバラツキが少ない



Crj: CDF1

毛色

Cinnamon (AabbCc)

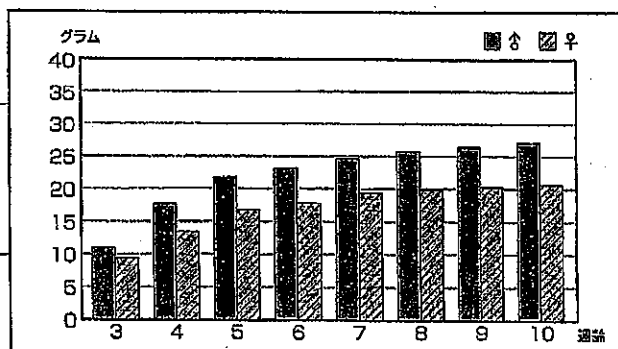
H-2ハプロタイプ

(主要組織適合性遺伝子複合体)

H-2 d/d

体重グラフ

(ご発注時の目やすにご利用ください)



近交系間交配マウス(2)

SPF/VAF Crj : B6C3F1 マウス C57BL/6NCrj (♀) × C3H/HeNCrj (♂)

特長・用途

- 丈夫で飼いやすい
- 体重などのバラツキが少ない
- 寿命が長い
- 悪性固型腫瘍の自然発症率が低い
- 長期毒性、特に発癌性試験に適している
- C57BL/6、またはC3H/Heからの皮膚・癌細胞等が移植可
- 発生工学分野でよく使用される



Crj: B6C3F1

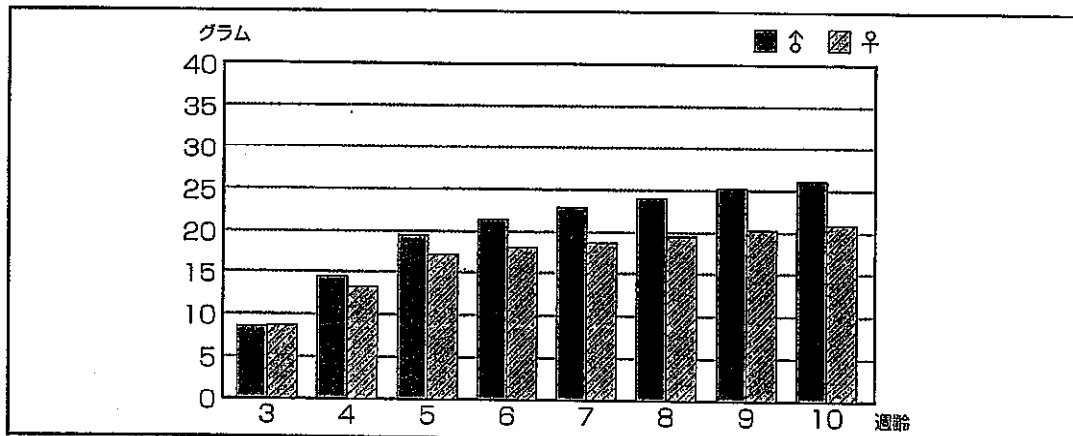
毛色

Agouti (AaBBCC)

H-2ハプロタイプ (主要組織適合性遺伝子複合体)

H-2 b/k

体重グラフ (ご発注時の目やすにご利用ください)



- a) 雄の略記号
b) 雌の略記号
c) primary drug evaluation test
d) acute toxicity test

e) secondary sexual character: 生殖腺(器)以外で性の判別に役立つ形質

19 実験動物の選択 一性と年齢一

ある実験に♂^{a)}の動物を使うべきか♀^{b)}の動物を使うべきか迷うことがある。♂でなければならない実験、♀でなければならない実験、あるいは♂と♀の両性で比較を行う実験もあるが、一般にはそのような理由がないことも多い。一次薬効検定^{c)}や急性毒性試験^{d)}などではマウスやラットが多く使われるが、いずれも♂が指定される。理由は♀動物には性周期に伴う生理変動が考えられ、その影響を嫌うためとされる。しかし、すべてについて必ずしも比較実験による裏付けデータがあつての話とは限らない。動物を有効に利用する立場からは、このような一般試験にも可能ならもっと♀を利用してほしいという声がないわけではない。

一般に動物反応の性差の多くは、基本的には内分泌性要因に関連している。生殖機能に関係する組織細胞や第二性徴^{e)}に関連する組織細胞の機能の多くは、性ホルモンの直接影響下にある。第二性徴の微妙な差、たとえば♂、♀の皮下脂肪含量の差が薬物の体内分布や血中濃度に違いを示す場合もある。また、性ホルモンとは一見無関係に見える肝細胞の機能にも微妙な影響が及んでいるらしく、肝臓の薬物代謝酵素の活性にも少なからず性差のあることが知られている(図 19-1)。行動にも性

差があるが、これにも性ホルモンが関係しているといわれる。よく知られている例であるが、成熟したオス犬は片足をあげて目的物に尿をし、その匂いによってなわばりを主張する。メス犬はこのような行動をとらない。オス犬でも未成熟な時期には片足をあげて尿をする行動はまだとらない。この仕組みを解析してみると、まず、生まれて間もない頃(脳が機能的発達を上げる時期)に、オス犬ではわずかながら雄性ホルモンが分泌されており、これが脳の機能的発達に影響を与える。この過程で将来成熟した時にオス犬の片足あげ行動が起こることが約束される。性成熟すると雄性ホルモンが多量に分泌され、これが方向づけられていた脳に作用すると片足あげ行動になるのだそうだ。もしも、メス犬に、生まれた時から雄性ホルモンを注射し続けると2カ月くらいでオスのような片足あげ行動をとるようになるし、オスでも生まれた時にすぐ去勢すると大きくなってもメスのような姿勢で尿を

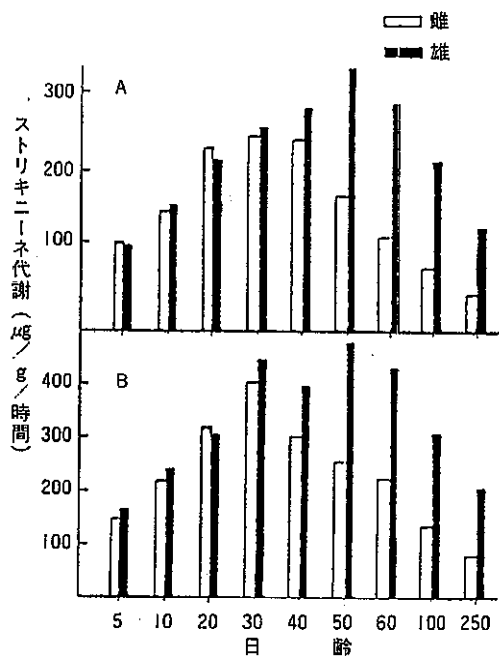


図 19-1 雌雄ラットにおける肝ミクロゾームのストリキニーネ代謝活性の発達性の性差 (Kato, R.ら 1962)¹⁾

A: 肝ミクロゾームによる代謝

B: 肝スライスによる代謝

するといわれている。母親動物の子育てに関する行動の多くも似たような機構によるのだろう。

以上のように、動物反応の性差には性ホルモンが直接、間接的に複雑なかかわりをもっている。しかも、個体の発生過程を通じ、細胞・組織・器官・系などの分化と密接な相互関係を保ちながら形づくられたものである。どのような実験においても性差は少なからず存在するという前提に立つことは賢明である。

他方、特別な理由がない場合、実験にどの程度の年齢の動物を用いたらよいか判断しかねる時がある。普通は、成体が使用されている。時には成体体重によって判断する場合もあるが、基本としては、日齢、週齢、月齢、年齢などで選択すべきである。体重にはかなりの個体差がみられるし、成長が変曲点¹⁾を過ぎると動物の体重はあまり増加しなくなるからである。通常は性成熟し安定期に入った動物〔成体初期〕が対象にされることが多い。たとえば、マウスでは6～10週齢くらい、ラットでは9～14週齢くらいがこれに当たる。動物種ごとに寿命が異なり、また生物学的ステージ²⁾も種特有である。これをよく理解しておくで年齢を指定する際に参考となる。もし、複数の動物種でその反応差を検討する場合は、できるだけ同一の生物学的ステージを選んで比較する必要がある。また、同一種の動物でも感受性に年齢差があるから、新薬の薬理効果や副作用の研究にあつては、成体のみならず幼若期や老齢期の動物についても検討を行うことを基本としたい。

f) 体のある部位の成長の早さが変わる時期をいう。体重増加曲線を例にとると、急勾配の成長期から緩やかな成長に移行する点をいう

g) 生物学的にみて一生のどの時期に相当するかという区分で、ヒトでは胎内期・哺乳期・幼弱期・青年期・成人期・老人期などに分ける考え方がある

1) 加藤隆一・鎌滝哲也(編著):薬物代謝の比較生化学, 清至書院(1983)

表 19-1 動物の生涯区分(幼若期～老齢期はおおよその目安)

区 分	マウス	ラット	モルモット	ウサギ	イヌ	サル*	ヒト
受 精	0(日)						
胎 着 床 前 期 内 重 要 期 間 形 成 期 胎 児 成 長	0～5(日)	0～7	0～8	0～5	0～17	0～9	0～8
	6～13(日)	8～15	9～25	6～15	18～30	10～28	9～60
	14～20(日)	16～22	26～65	16～32	31～63	29～164	61～267
誕 生	0(日)						
哺 乳 期	0～20(日)	0～22	0～28	0～55	0～63	0～164	0～267
幼 若 期	21～50(日)	23～70	29～90	56～175	64～330	163(日) ～5(年)	268(日) ～17(年)
成 体 期	[6～10週 齢]～1(年)	[9～14週 齢]～1.25	[12～16週 齢]～2	[6～9カ 月齢]～2	[10～18カ 月齢]～10	[4.5～5.5 年]～15	～50(?)
老 齢 期	～2.5(年)	～3	～3	～5	～13	～20(?)	～80(?)

幼若期・成体期・老齢期の区分方法は著者の試案による。離乳～性成熟までを幼若期、交配開始期～交配退役期までを一括して成体期とした。通常の実験では成体初期〔 〕がよく用いられている。モルモットは胎内期間が長く出生時は既に開眼、歯も生えており採食も行う。*Macaca 属の例

著者略歴

佐藤 徳光

- 1960年 東北大学理学部生物学科卒業
- 1960年 東北大学大学院理学研究科（元村融教授）
- 1961年 中外製薬株式会社総合研究所（薬理学）
- 1965年 群馬大学内分泌研究所（井上栄教授）Research fellow
- 1972年 アルバータ大学生化学部門（Director, Prof. J. S. Colter）留学
- 1977年 新潟大学助教授（医学部附属動物実験施設）

動物実験の基本

8,000 円

昭和 61 年 12 月 20 日 初版第 1 刷発行 © 1986

著 者 佐 藤 徳 光

発行人 西 村 正 徳

発行所 西 村 書 店

新潟・旭町通 1-754-39 〒 951

T E L 025-223-2388 F A X 025-224-7165

印刷 第一印刷所 製本 小林共文堂

本書の内容を無断で複写・複製・転載すると、著作権及び出版権の侵害となることがありますので、御注意下さい。

成書があるが、このうち、平岩ら、COOKの成書は、臓器、血管系、骨を扱った一般的な解剖書で、RUGHのそれは発生、GRÜNEBERGのそれは骨の専門書であるので、参考にされたい。

生理値は、測定時期、採血部位、測定方法によって異なるが、参考までにクローズドコロニーのICRの加齢に伴う血液性状値、血漿生化学値の変化を表1.1.6、1.1.7に示し、主な系統マウスの臓器重量値を表1.1.8、1.1.9に示す。

表 1.1.9 10 週齢雄マウスの臓器重量

系 統	C57BL/6NJcl	C3H/HeNJcl	BALB/cAJcl	DBA/2NJcl	Jcl:ICR
動物数	10	10	10	10	10
体 重 (g)	22.1±0.8	25.7±1.0	29.1±1.1	23.4±0.7	37.4±1.7
脳 mg	447.0±16.4	468.1±13.5	492.0±13.6	384.6±10.8	488.9±18.3
(%)	(2.03±0.07)	(1.83±0.07)	(1.69±0.07)	(1.65±0.06)	(1.31±0.04)
下垂体 mg	4.8±0.7	5.5±0.7	3.7±0.3	3.2±0.3	5.2±0.3
(%)	(0.22±0.03)	(0.22±0.02)	(0.13±0.01)	(0.14±0.01)	(0.14±0.01)
甲状腺 mg	6.7±1.3	8.3±1.6	6.1±0.9	5.4±0.6	6.8±0.6
(%)	(0.30±0.05)	(0.32±0.06)	(0.21±0.03)	(0.23±0.03)	(0.18±0.02)
副 腎 mg	7.8±1.0	9.1±1.1	6.4±0.5	5.2±0.3	8.0±1.8
(%)	(0.35±0.05)	(0.35±0.04)	(0.22±0.02)	(0.22±0.02)	(0.21±0.05)
肺 mg	146.4±7.7	158.0±1.69	168.9±7.0	137.0±14.3	230.2±28.1
(%)	(0.67±0.03)	(0.62±0.07)	(0.58±0.04)	(0.59±0.05)	(0.62±0.08)
心 臓 mg	120.6±7.6	124.0±7.7	165.2±8.2	137.4±10.7	183.1±11.3
(%)	(0.55±0.04)	(0.48±0.02)	(0.57±0.03)	(0.59±0.04)	(0.49±0.03)
肝 臓 mg	1327.2±80.5	1692.4±118.3	1982.1±106.3	1447.1±91.9	2234.0±171.7
(%)	(6.02±0.28)	(6.59±0.33)	(6.80±0.24)	(6.19±0.24)	(5.98±0.38)
腎 臓 mg	334.0±30.5	471.9±36.1	490.9±36.2	397.8±40.8	660.4±41.3
(%)	(1.51±0.11)	(1.84±0.10)	(1.69±0.13)	(1.70±0.14)	(1.78±0.13)
脾 臓 mg	65.9±6.3	90.4±19.5	89.9±5.5	73.6±7.2	121.0±19.8
(%)	(0.30±0.02)	(0.35±0.06)	(0.31±0.01)	(0.31±0.03)	(0.33±0.06)
精 巢 mg	185.3±6.1	162.1±4.4	212.7±6.2	201.6±10.1	271.7±22.4
(%)	(0.84±0.03)	(0.63±0.03)	(0.73±0.03)	(0.86±0.04)	(0.73±0.06)

各値は平均値±標準偏差を示す。

〔日本クレーマウスデータ集を改編〕

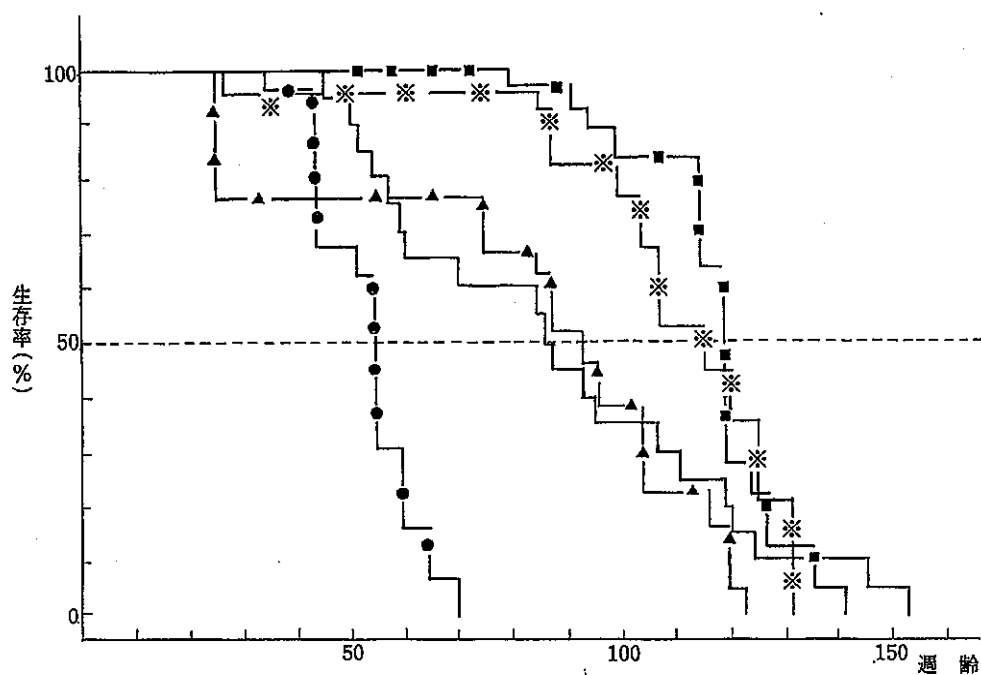
1.1.4 寿 命

マウスの寿命は、環境、飼料、飼料の与え方、系統によって異なるが、参考までに主な系統マウスの寿命を図1.1.6、1.1.7に示す。

乳癌を多発する C3H/HeNJcl-MTV⁺ を除くと、いずれの系統も雄より雌の方が長寿である。

クローズドコロニーの ICR 雌の寿命は、2 年 11 か月、雄の寿命は 2 年 4 か月である。近交系マウスでは、C57BL/6 が比較的長寿で、雌の寿命は 2 年 8 か月、雄のそれは 2 年 7 か月であり、寿命の短い BALB/c でも、雌の寿命は 2 年 5 か月、雄の寿命は 2 年 2 か月である。また、50%の生存率を示す年齢は、いずれの系統も雌雄とも 1 年 9 か月から 2 年 1 か月の範囲内である。

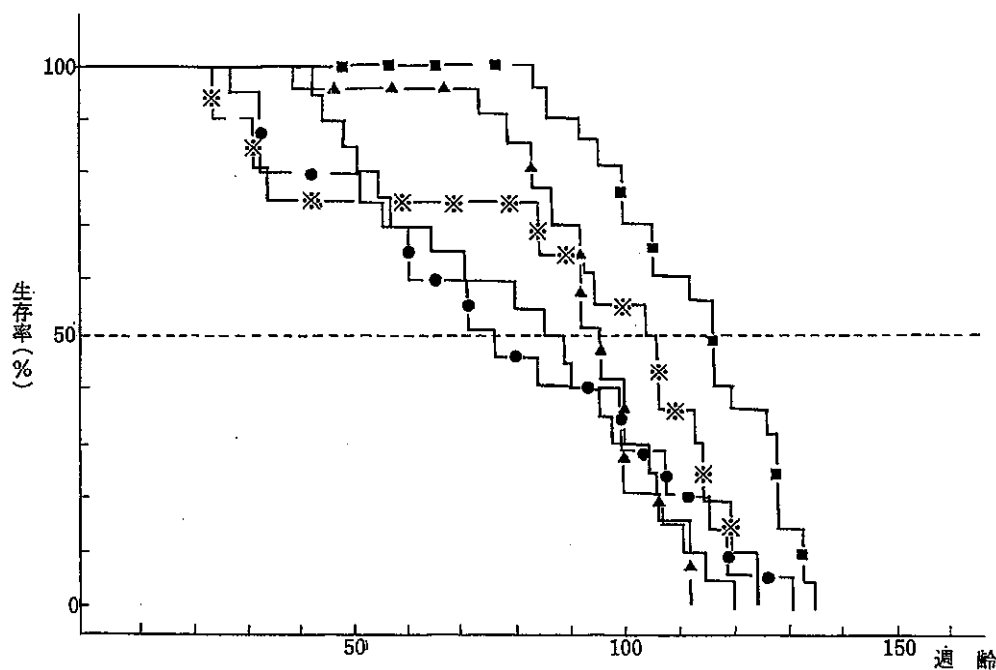
乳癌を多発する C3H では、雌の寿命は短く 1 年 4 か月であるが、雄の寿命は 2 年 6 か月で他の近交系マウスの寿命と変わらない。



— : Jcl : ICR(n=20) ●—● : C3H/HeNjcl-MTV+(n=20) ■—■ : C57BL/6Njcl(n=20)
 ▲—▲ : BALB/cAjcl(n=20) ※—※ : DBA/2Njcl(n=20)

環境 : SPF, 飼料 : CE-7 (日本クレア製), 高圧蒸気滅菌, 飲水 : 4~6ppm 塩素添加水道水.

図 1.1.6 主な系統マウスの寿命 (雌) (日本クレア : マウスデータ集を改編)



— : Jcl : ICR(n=20) ●—● : C3H/HeNjcl-MTV+(n=20) ■—■ : C57BL/6Njcl(n=20)
 ▲—▲ : BALB/cAjcl(n=20) ※—※ : DBA/2Njcl(n=20)

環境 : SPF, 飼料 : CE-7 (日本クレア製), 高圧蒸気滅菌, 飲水 : 4~6ppm 塩素添加水道水.

図 1.1.7 主な系統マウスの寿命 (雄) (日本クレア : マウスデータ集を改編)

毒性試験講座 ④

毒性試験に用いられる実験動物

Experimental Animals for Toxicity Tests

© 平成2年8月6日 初版発行

編集責任者 藤原公策
堀内茂友

発行者 中田威夫

発行所 畿地人書館
〒162 東京都新宿区中町15番地
☎ (03) 235-4422 ・ FAX (03) 235-8984
振替口座 東京6-1532番

印刷 昭文堂 製本 カナメブックス

Printed in Japan
ISBN4-8052-0323-4 C3047

(別紙 3)

マウスを用いたナイシンの亜慢性毒性試験 (参考資料 5-10) に関連する文献調査

2004 年 6 月 11 日

三栄源エフ・エフ・アイ(株)

学術部

A. PubMed を使用した検索

NLM (米国国立医学図書館) 作成のデータベース PubMed 使用し、以下の条件で検索した結果、23 件がヒットした。

Search	Most Recent Queries	Result
#1 Search mortality Field: All Fields		<u>434152</u>
#2 Search mouse Field: All Fields		<u>718874</u>
#3 Search sensitivity or susceptibility Field: Title/Abstract		<u>342486</u>
#4 Search aging/physiology Field: MeSH Terms		<u>54116</u>
#5 Search #1 AND #2 AND #3 AND #4		<u>23</u>

ヒットした 23 件のうち、ウイルス・細菌感染や炎症など免疫に関する報告が 13 報であり、その他が 8 件、レビューが 2 件であった。食品成分の投与と毒性に関する報告は # 22 の 1 報のみであった。

今回の回答と関連する報告を以下に示す。

6. Clin Diagn Lab Immunol. 2001 Sep;8(5):1003-11.

Effects of calorie restriction on polymicrobial peritonitis induced by cecum ligation and puncture in young C57BL/6 mice.

カロリー制限が細菌感染時の敗血症において、自由摂取よりも早く死亡した。しかし、パラコート (フリーラジカル誘導剤) 投与時の生存は逆で、カロリー制限群が有意に長く生きた。これらより、食餌制限は酸化ストレスへからは保護するが、マクロファージの機能成熟の遅延によって細菌感染については感受性を増加していると結論された。 s

7. J Biol Chem. 2001 Aug 3;276(31):29307-12. Epub 2001 May 29.

Age-associated differences in cardiovascular inflammatory gene induction during endotoxic stress.

老齢マウス (24-26 ヶ月齢) および若齢マウス (4 ヶ月齢) を使用して、エンドトキシン (LPS) 投与時の心臓組織において、特定の炎症性遺伝子誘導は加齢による影響を受けた。これが老齢動物の感受性増加に関連している可能性がある。

8. J Immunol. 1999 Sep 1;163(5):2777-82.

Role of IL-10 in a neonatal mouse listeriosis model.

リステリア症における IL-10 の発現は、新生児の方が成熟マウスよりも早く、これが 新生児のリステリア症に対する感受性増加の理由の一部である可能性がある。

12. Scand J Immunol. 1997 Nov;46(5):469-78.

Increased mortality and impaired clonal deletion after staphylococcal enterotoxin B injection in old mice: relation to cytokines and nitric oxide production.

若齢、老齢マウスにエンテロトキシン B を投与した時、老齢マウスの方が死亡率は高く、これは IFN- γ 産生が亢進していたこと、FAS リンガンドや TNF- α の発現抑制に関連する可能性がある。

13 . Exp Anim. 1997 Jul;46(3):211-8.

Age-related changes in susceptibility of mice to low-virulent mouse hepatitis virus (MHV-2-CC) infection.

伝染力の強いマウス肝炎ウイルスを 1 週齢、2 週齢、3 および 4 週齢のマウスに感染させたところ、それぞれ死亡率は 100、36、0% となった。

16. Mech Ageing Dev. 1994 Feb;73(2):145-55.

Differences between young and aged mice in susceptibility to Friend virus.

マウス白血病ウイルス (Friend Virus, FV) に感染させた系統、週齢の異なるマウスでは、週齢に関わらず、若齢マウスが成熟マウスに対して全てのパラメーターでウイルス発現が高かった。

18. J Infect Dis. 1993 Aug;168(2):352-7.

Recombinant vaccinia virus expressing the PR/8 influenza hemagglutinin gene overcomes the impaired immune response and increased susceptibility of old mice to influenza infection.

インフルエンザウイルスを鼻腔内投与した時、老齢 (18 ヶ月齢) マウスの方が、若齢 (2 ヶ月齢) マウスよりもより高い感受性を示した。これは、抗体産生とキラー T 細胞の産生機能の低下と関連がある。

22. J Nutr. 1987 Oct;117(10):1671-5.

Toxicity of palmitoyl glycerol to mice: hypothermia and reversal of the toxicity.

成熟および幼若マウスを低温環境に置いた場合、食餌中の rac-1(3)-palmitoyl glycerol の毒性に対する感受性が増加する。Palmitoyl glycerol を与えた 6 週齢未満のマウスで、特に体温低下が著しかったものにベニバナ油添加食を与えた時、低体温症を防止した。低体温症は成熟マウスの方が程度は緩和であった。一度体温が 28 未満となると、食餌をベニバナ油に代えたり室温を上げても palmitoyl glycerol による死亡率は回復しない。体温が 28 から 34 の場合は、これらの併用によって死亡率は低下した。よって、palmitoyl glycerol の毒性は死亡の直接の原因である。

23. J Immunol. 1987 Jun 15;138(12):4414-8.

Aging and immunity to tuberculosis: increased susceptibility of old mice reflects a decreased capacity to generate mediator T lymphocytes.

3 から 18 ヶ月齢のマウスに、ヒト結核菌を感染させ、T 細胞による細胞性免疫への加齢の影響を検討した。24 から 28 ヶ月齢の老齢マウスにおいて死亡率の高値がみられ、これらは細胞性免疫の感染への応答力の低下によるものであった。

B. DIALOG を使用した検索 (その 1)

世界最大のデータベース DIALOG の 7 ファイル (MEDLINE、EMBASE、ToxFile、BIOSIS PREVIEWS、FOODLINE、FSTA、JICST) で検索したところ、以下の結果となった。

Set	Items	Description
S1	2485957	MOUSE OR MICE → マウス
S2	1404035	SUSCEPTIBILITY OR SENSITIVITY → 感受性
S4	2843446	AGE OR AGING → 加齢
S5	944285	MORTALITY → 致死率
S6	423	S1 AND S2 AND S4 AND S5
S7	20	S6 AND ORAL → 経口
S8	15	RD S7 (unique items) → 重複除去

15 件のフルレコードを確認したところ、ウイルスと週齢に関する報告が 2 報 (#5、6)、オゾン曝露による細菌感染防御力低下に関する報告が 1 報 (#8) あったが、本調査に該当するものはなかった。

5 . Japanese journal of experimental medicine 1975, 45 (4) p285-92

Pathogenicity of mouse hepatitis virus for mice depending upon host age and route of infection.

日齢 (day-old) から 4 週齢のマウスに、異なる投与方法で肝炎ウイルスを接種した。腹腔内、静脈内、大脳内投与では、全てのマウスが死亡した。皮下、経口、鼻腔内投与では、日齢マウスは死亡したが、3 週齢以上のマウスは死亡しなかった。1、2 週齢では鼻腔内投与では全て死亡したが、経口投与では生存したものもいた。

6. Journal of Comparative Pathology (J. COMP. PATHOL. 2004, 130/1 (58-65)

Neurotropism of swine haemagglutinating encephalomyelitis virus (coronavirus) in mice depending upon host age and route of infection

1、4、8 週齢のマウスに、異なる方法 (大脳内、鼻腔内、腹腔内、皮下、静脈内、経口) で赤血球凝集性脳脊髄炎ウイルスを接種した。1 週齢のマウスでは、経口投与以外の方法では同様の死亡時間を示したが、経口投与では効力が弱いようであった。4 週齢のマウスでは経口投与以外の全てで速やかに死亡し、8 週齢では大脳内、鼻腔内、皮下投与で死亡した。

8. Experimental Lung Research (EXP. LUNG RES.) (United States) 1993, 19/3 (299-314)

Factors that influence the suppression of pulmonary antibacterial defenses in mice exposed to ozone

オゾン曝露が細菌感染の感受性を上げることが知られており、そのメカニズム検討のため、マウスにオゾン曝露して細菌(*Streptococcus zooepidemicus*)感染性への抵抗性を検討した。5、9 週齢のマウスに 0.4、0.8 ppm のオゾン曝露後に感染させた時、より若いマウスでより高濃度のオゾン曝露群で最も影響が大きく、20 日間の死亡率と相関が見られた。オゾン曝露で肺胞マクロファージの貪食能が低下し、肺胞マクロファージの機能を抑制する PGE₂ 産生が気管支洗浄液中で増加していた。

C. DIALOG を使用した検索（その 2）

上記と使用するファイルは変えずに検索条件を変え、抗菌性物質（biopreservatives）または抗生物質（antibiotics）を致死率（mortality）のかわりに入れて検索したところ、9 件がヒットした。これらのうち、参考資料 5-10 と同一のソ連医科学アカデミー食品研究所の報告で、成熟マウスよりも若齢マウスで抗生物質に対して感受性（毒性）が高いという報告（#4）があった。

Set	Items	Description
S1	2487511	MOUSE OR MICE
S2	1405370	SUSCEPTIBILITY OR SENSITIVITY
S3	2845837	AGE OR AGING
S4	620112	BIOPRESERVATIVE? OR ANTIBIOTIC?
S5	59	S1 AND S2 AND S3 AND S4
S6	42	RD S5 (unique items) → 重複除去
S7	9	S6 AND ORAL

関連する報告 2 報の概要を以下に示す。

3. Infection and immunity (UNITED STATES) Jan 1982, 35 (1) p222-8,

Effects of compromising agents on candidosis in mice with persistent infections initiated in infancy.

Candida albicans をマウスに強制経口投与した時、4、6 日齢であれば致死効果に対して最も感受性が高く、10 から 11 日齢までに耐性が増加し、若齢マウスでは耐性を持つ。

4. Antibiotiki (USSR) Oct 1976, 21 (10) p904-10 = #9

[Dependence of the toxicity of the antineoplastic antibiotics rubomycin and carminomycin, on the age and sex of white mice and rats] → ロシア語（ソ連医科学アカデミー食品研究所）

Karminomycin をマウスに経口または静脈内投与した時、成熟マウスよりも 2-6 週齢に対してより毒性が強い。ラットでは、5-6 週齢は成熟ラットよりも Karminomycin を経口または静脈内投与した時、安定（stable）である。成熟マウスにおいて、Karminomycin を静脈内投与した時、経口投与に対して 2 倍の毒性を示し、成熟ラットでは 23 倍であった。Karminomycin および Rubomycin を静脈内投与した時の LD₅₀ 値は、雌の方が雄よりも低かった。

NISINの推定一日摂取量(EDI)**米国**

食品群	EDI (mg/ヒト/日)	引用
プロセスチーズスプレッド、低温殺菌プロセスチーズスプレッド	1	1
非標準的 (non-standardised) サラダドレッシングおよびソース、液状卵	0.55	2
フランクフルト	0.6	3
調理済み肉および家禽類製品		
合計	2.15	

体重60 kgとして
0.036 mg/kg体重/日

EU

食品群	EDI ^{*1} (mg/kg体重/日)	引用
EUでナイシンの使用が認められている食品群 ^{*2}	0.008	4

*1 EDI TMDI (推定最大一日摂取量: Theoretical Mazimum Daily Intakes)

*2 ナイシンの使用が認められている食品は下記の通り(資料概要p.5)⁵

- ・セモリナプディング、タピオカプディング及びその同類食品
- ・熟成チーズ、プロセスチーズ
- ・クロテッドクリーム
- ・マスカルポーネ

引用資料

1. Federal Register: 53 FR 11247, Apr. 6, 1988, Food and Drug Administration, HHS.
(= ナイシンに関する資料2-2)
2. DANISCO CONFIDENTIAL NISIN Feb 2003 【非公開資料】
3. Agency Response Letter GRAS Notice No.GRN 000065 (= ナイシンに関する資料2-9)
4. Danisco社からのEメール 【非公開資料】
5. Official Journal of the European Communities 1995 L Volume (ナイシンに関する資料2-12)