

府 食 第 6 5 2 号
令 和 5 年 10 月 18 日

農林水産大臣
宮下 一郎 殿

食品安全委員会
委員長 山本 茂貴

食品健康影響評価の結果の通知について

令和5年3月7日付け4消安第6796号をもって農林水産大臣から食品安全委員会に意見を求められた3-ニトロオキシプロパノールを有効成分とする飼料添加物に係る食品健康影響評価の結果は下記のとおりですので、食品安全基本法（平成15年法律第48号）第23条第2項の規定に基づき通知します。

なお、食品健康影響評価の詳細は別添1のとおりです。

また、本件に関して行った国民からの意見・情報の募集において、貴省に関連する意見・情報が別添2のとおり寄せられましたので、お伝えします。

記

3-ニトロオキシプロパノールを有効成分とする飼料添加物は、飼料添加物として適切に使用される限りにおいては、食品を通じて人の健康に影響を与える可能性は無視できる程度と考えられる。

飼料添加物評価書

3-ニトロオキシプロパノールを
有効成分とする飼料添加物

令和5年（2023年）10月

食品安全委員会

目 次

	頁
○審議の経緯	2
○食品安全委員会委員名簿	2
○食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会専門委員名簿	2
○要 約	3
 I. 評価対象飼料添加物の概要	4
1. 有効成分の情報	4
(1) 有効成分に関する情報	4
(2) 有効成分の製造方法	4
(3) 有効成分の純度に関する情報	4
2. 製剤の情報	4
(1) 製造方法	4
(2) 賦形物質等	4
3. 用途	5
4. 対象飼料及び添加量	5
5. 開発の経緯及び使用状況	5
 II. 安全性に係る知見の概要	5
1. 有効成分及び賦形物質等に関する知見	5
(1) 有効成分	5
(2) 賦形物質等	5
2. 残留試験	6
(1) 残留試験（牛①、56 日間混餌投与）	6
(2) 残留試験（牛②、90 日間混餌投与）	7
3. 対象動物における安全性試験	8
(1) 安全性試験	8
(2) 飼養試験	9
 III. 食品健康影響評価	11
・ 別紙 1：代謝物の名称及び推定構造	12
・ 別紙 2：検査値等略称	13
・ 参照	14

<別添> 飼料添加物評価書「3-ニトロオキシプロパノール」

〈審議の経緯〉

2023 年 3 月 7 日 農林水産大臣から飼料添加物の指定並びに飼料添加物の基準及び規格の設定に係る食品健康影響評価について要請（4 消安第 6796 号）、関係資料の接受

2023 年 3 月 14 日 第 893 回食品安全委員会（要請事項説明）

2023 年 8 月 7 日 第 190 回肥料・飼料等専門調査会

2023 年 8 月 29 日 第 910 回食品安全委員会（報告）

2023 年 8 月 30 日 から 9 月 28 日まで 国民からの意見・情報の募集

2023 年 10 月 11 日 肥料・飼料等専門調査会座長から食品安全委員会委員長へ報告

2023 年 10 月 17 日 第 917 回食品安全委員会（報告）

10 月 18 日付けで農林水産大臣に通知

〈食品安全委員会委員名簿〉

山本茂貴（委員長）

浅野 哲（委員長代理 第一順位）

川西 徹（委員長代理 第二順位）

脇 昌子（委員長代理 第三順位）

香西 みどり

松永 和紀

吉田 充

〈食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会専門委員名簿〉

(2022 年 4 月 1 日から)	(2023 年 10 月 1 日から)
森田 健（座長*）	森田 健（座長*）
川本 恵子（座長代理*）	川本 恵子（座長代理*）
吉田 敏則（座長代理*）	吉田 敏則（座長代理*）
赤沼 三恵 植田 富貴子	赤沼 三恵 佐々木 一昭
新井 鐘蔵 小林 健一	新井 鐘蔵 高橋 研
荒川 宜親 佐々木 一昭	井上 薫 平田 暁大
井上 薫 高橋 研	今井 俊夫 山田 雅巳
今田 千秋 中山 裕之	植田 富貴子 山中 典子
* : 2022 年 4 月 25 日から	* : 2022 年 4 月 25 日から

〈第 190 回肥料・飼料等専門調査会専門参考人名簿〉

今井 俊夫（元国立研究開発法人 国立がん研究センター研究所 動物実験施設長）

山田 雅巳（防衛大学校 応用科学群 応用化学科教授）

山中 典子（国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究部門 疾病対策部 病性鑑定室）

要 約

3-ニトロオキシプロパノール (3-NOP) を有効成分とする飼料添加物について、飼料添加物指定審査用資料等を用いて、食品健康影響評価を実施した。

3-NOP を有効成分とする飼料添加物は、牛の第一胃内でのメタンの生成を抑制することで、牛の暖気中のメタンを削減することを目的として、飼料に添加して使用される。その推奨添加量は乳用牛飼料には 3-NOP として 60～100 mg/kg 乾物飼料、肉用牛飼料には 3-NOP として 100～150 mg/kg 乾物飼料とされている。

食品安全委員会では、本飼料添加物の有効成分である 3-NOP について、飼料添加物として評価を行い、ADI を 1 mg/kg 体重/日と設定している。

本飼料添加物に含まれている賦形物質等は、その使用状況及び既存の評価並びに本飼料添加物の用法・用量を考慮すると、本飼料添加物の含有成分として摂取した場合の人への健康影響は無視できる程度と考えた。

残留試験では、本飼料添加物を牛に混餌投与した結果、組織中においては、代謝物である M2 (NOPA) は定量限界未満であったが、乳においては、投与 2 日後以降で M2 が検出され、その濃度は用量依存的及び経時的に増加する傾向がみられた。

牛（乳用牛及び肉用牛）の安全性試験及び飼養試験の結果から、本飼料添加物の牛への推奨添加量での添加について、牛に対する安全性に問題はないと考えた。

以上のことから、食品安全委員会は、本飼料添加物が、飼料添加物として適切に使用される限りにおいては、食品を通じて人の健康に影響を与える可能性は無視できる程度と考えた。

I. 評価対象飼料添加物の概要

1. 有効成分の情報

(1) 有効成分に関する情報

①一般名

和名：3-ニトロオキシプロパノール

英名：3-nitrooxypropanol

②化学名

IUPAC：3-hydroxypropyl nitrate

CAS No.：100502-66-7

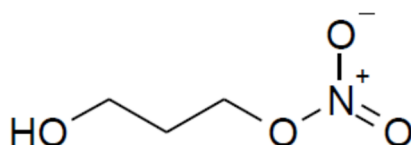
③分子式

$C_3H_7NO_4$

④分子量

121.09

⑤構造式



(参照1、2)

(2) 有効成分の製造方法

硝酸と1,3-プロパンジオールを反応させた後、抽出・精製工程を経て、有効成分を得る。

(参照1)

(3) 有効成分の純度に関する情報

有効成分の純度は、98.0%以上とされている。(参照1、3)

2. 製剤の情報

(1) 製造方法

本飼料添加物は、有効成分をプロピレングリコールに溶解後、無水ケイ酸に噴霧し、乾燥させることで製造される粉末製剤である。(参照1)

(2) 賦形物質等

本飼料添加物は、安定剤としてプロピレングリコール、賦形剤として無水ケイ酸を含む

¹。(参照 1)

3. 用途

飼料の栄養成分その他の有効成分の補給（牛の暖気²中のメタンの削減）（参照 1）

4. 対象飼料及び添加量

本飼料添加物の飼料への推奨添加量は、乳用牛飼料には 3-ニトロオキシプロパノール(3-NOP) として 60～100 mg/kg 乾物飼料、肉用牛飼料には 3-NOP として 100～150 mg/kg 乾物飼料とされている。（参照 1）

5. 開発の経緯及び使用状況

3-NOP は、牛の第一胃（ルーメン）内で生成されるメタンを削減する目的で開発された 1,3-プロパンジオールの硝酸エステルである。反芻動物の飼料に添加して使用する。

国内では 3-NOP を含有する動物用医薬品は承認されておらず、人用医薬品としての使用もない。

欧州では EFSA における安全性評価が 2021 年に終了し、2022 年に反芻動物への飼料添加物として使用が認められている。また、ブラジル及びチリでは 2021 年に反芻動物への飼料添加物として使用が認められている。（参照 1）

今般、農林水産省より、3-NOP について、飼料の安全性の確保及び品質の改善に関する法律第 2 条第 3 項の規定に基づく飼料添加物の指定並びに同法第 3 条第 1 項の規定に基づく飼料添加物の基準及び規格の設定に関する食品健康影響評価の要請がなされた。

II. 安全性に係る知見の概要

本評価書は、飼料添加物指定審査用資料等を基に、3-NOP の安全性に関する主な知見を整理した。

代謝物の名称及び推定構造は別紙 1 に、検査値等略称は別紙 2 に示した。

1. 有効成分及び賦形物質等に関する知見

（1）有効成分

3-NOP は、食品安全委員会において、ADI が 1 mg/kg 体重/日と設定されている。（参照：別添）

（2）賦形物質等

① プロピレングリコール

本飼料添加物の安定剤として含まれているプロピレングリコールは、国内では食品添

¹ 本飼料添加物の賦形物質等については、「食品安全委員会の公開について」（平成 15 年 7 月 1 日食品安全委員会決定）に基づき、「企業の知的財産等が公開され、特定の者に不当な利益若しくは不利益をもたらすおそれがある」ことから、本評価書には具体的な分量を記載していない。

² 「あいき」という。げっぷのこと。

加物（指定添加物）としても使用されている（参照4）。また、FDA では食品添加物として GRAS に指定されている（参照5）。JECFA 及び EFSA では食品添加物として評価され、ADI が 0～25 mg/kg 体重/日と設定されている（参照6、7）。

② 無水ケイ酸

本飼料添加物の賦形剤として含まれている無水ケイ酸（二酸化ケイ素）は、国内では食品添加物（指定添加物）や医薬品添加物としても使用されており、食品安全委員会は、飼料添加物の賦形物質及び希釈物質に使用される物質として、人の健康に影響を及ぼす悪影響の内容及び程度が明らかであると評価している（参照 4、8、9）。また JECFA では、食品添加物として「ADI を特定しない（Not Specified）」と評価されている（参照 10）。

以上のことから、本飼料添加物に含まれている賦形物質等は、その使用状況及び既存の評価並びに本飼料添加物の用法・用量を考慮すると、本飼料添加物の含有成分として摂取した場合の人への健康影響は無視できる程度と考えた。

2. 残留試験

（1）残留試験（牛①、56 日間混餌投与）

牛（ホルスタイン・フリーシアン種、2～7 歳齢、体重 480～792 kg、泌乳牛、20 頭/群）に本飼料添加物を 56 日間混餌投与（0、1.28、1.6、3.2 g/頭/日（3-NOP として 80、100、200 mg/kg 飼料相当 [乳用牛への最大推奨添加量のそれぞれ 0.8、1、2 倍]）し、組織（肝臓、腎臓、筋肉（腰部）、脂肪）中及び乳中の M2 残留量を LC-MS/MS 法を用いて測定した。

測定したいずれの組織においても、M2 は LOQ（5.0 ng/g）未満であった。

乳中 M2 濃度の結果を表 1 に示した。

乳では、投与 2 日後以降に LOQ を超える M2 濃度が認められ、用量依存的に増加する傾向がみられたが、概ね LOQ 又は LOQ 付近の濃度で推移した。乳用牛に対する最大推奨添加量の 100 mg/kg 飼料投与群では、投与 22 日に乳中 M2 濃度が 1.17 ng/mL と最大を示した。（参照 3、11、12）

表 1 牛における乳中 M2 濃度（ng/mL）

投与量 (mg/kg 飼料)	投与日（日）									
	投与前	2	8	15	22	29	36	43	50	56
0	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
80	<LOQ	1.04	<LOQ	<LOQ	<LOQ	1.02	1.12	<LOQ	<LOQ	1.04
100	<LOQ	1.00	<LOQ	1.13	1.17	1.06	1.12	1.06	1.10	1.10
200	<LOQ	1.23	1.05	1.32	1.54	1.27	1.41	1.45	1.54	1.23

LOQ : 1.0 ng/mL

(2) 残留試験 (牛②、90 日間混餌投与)

牛 (ホルスタイン・フリーシアン種、3～6 歳齢、体重 485～746 kg、泌乳牛、4 頭/群) に本飼料添加物を 90 日間混餌投与 (0、1.6、8.0、16 g/頭/日 (3-NOP として 100、500、1,000 mg/kg 飼料相当 [乳用牛への最大推奨添加量のそれぞれ 1、5、10 倍])) し、組織中 (肝臓、腎臓、筋肉 (腰部)、大網脂肪、腎周囲脂肪 : 0 及び 1,000 mg/kg 飼料群のみ) 及び乳中の M2 残留量を LC-MS/MS 法を用いて測定した。

投与終了後に採取した 1,000 mg/kg 飼料投与群のいずれの組織においても M2 は LOQ (5.0 ng/g) 未満であった。

乳中 M2 濃度の結果を表 2 に示した。

乳では、3-NOP 投与後に M2 の残留が認められ、個体による変動はあるものの、用量依存的及び経時的に増加する傾向がみられた。乳用牛に対する最大推奨添加量の 100 mg/kg 飼料投与群では、投与 30 日後の午後に乳中 M2 濃度が 10.2 ng/g と最大を示した。(参照 11、13)

表 2 牛における乳中 M2 濃度 (ng/g)

投与群 (mg/kg 飼料)	個 体 番 号	試料採取日									
		投与 7 日前		投与 2 日後		投与 8 日後		投与 30 日後		投与 90 日後	
		午前	午後	午前	午後	午前	午後	午前	午後	午前	午後
0	9	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	1.73	<LOQ	<LOQ
	11	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	1.75
	12	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	3.18	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
	20	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
100	8	<LOQ	<LOQ	<LOQ	1.82	<LOQ	2.40	<LOQ	6.57	<LOQ	3.06
	14	<LOQ	<LOQ	<LOQ	3.50	<LOQ	3.38	<LOQ	10.2	<LOQ	3.59
	16	<LOQ	<LOQ	<LOQ	2.07	<LOQ	3.48	<LOQ	5.78	1.21	8.58
	18	<LOQ	<LOQ	<LOQ	3.31	<LOQ	5.39	<LOQ	3.59	<LOQ	3.41
500	2	<LOQ	<LOQ	3.53	7.4	1.95	9.06	<LOQ	27.8	<LOQ	32.2
	3	<LOQ	<LOQ	1.45	1.76	<LOQ	14.3	<LOQ	4.26	3.73	15
	6	<LOQ	<LOQ	<LOQ	10.9	1.11	39.2	<LOQ	42.6	<LOQ	52.1
	15	<LOQ	<LOQ	4.43	27	<LOQ	<LOQ	NS	NS	NS	NS
1,000	1	<LOQ	<LOQ	8.43	<LOQ	7.83	78.7	NS	NS	NS	NS
	13	<LOQ	<LOQ	10.8	8.14	3.14	20.1	12.4	6.45	7.2	10.7
	17	<LOQ	<LOQ	6.11	3.15	<LOQ	55	3.94	88.1	4.99	83.8
	19	<LOQ	<LOQ	7.97	108	<LOQ	146	10.7	41	19.7	23.1

LOQ : 1.0 ng/g

NS : 試料採取できず

3. 対象動物における安全性試験

(1) 安全性試験

① 牛における安全性試験①

牛（ホルスタイン・フリーシアン種、2～7 歳齢、体重 480～792 kg、泌乳牛、20 頭/群）に本飼料添加物を 56 日間混餌投与（0、1.28、1.6、3.2 g/頭/日（3-NOP として 80、100、200 mg/kg 飼料相当〔乳用牛への最大推奨添加量のそれぞれ 0.8、1、2 倍〕）し、投与期間中の一般状態の観察、体重及び摂餌量の測定、血液及び血液生化学検査、尿検査、病理及び組織病理学的検査、乳成分検査等を実施した。

投与期間を通し、本飼料添加物投与群で一般状態等への異常はみられず、いずれの検査においても 3-NOP の推奨添加量の 2 倍量までの添加に関連する異常はみられなかった。

病理組織学的検査では、本飼料添加物投与群において肺及び腎臓の炎症、心臓における嚢胞性病変並びに卵巣の色素沈着がみられたが、用量依存性がみられず偶発的な発生で、関連する臨床所見がないため、本飼料添加物投与に関連した異常ではないと考えられた。（参照 12）

これらの結果から、食品安全委員会は、本飼料添加物の乳用牛への最大推奨添加量の 2 倍量までの添加について、牛に対する安全性に問題はないと考えた。

② 牛における安全性試験②

牛（ホルスタイン・フリーシアン種、3～6 歳齢、体重 485～746 kg、泌乳牛、4 頭/群）に本飼料添加物を 90 日間混餌投与（0、1.6、8.0、16 g/頭/日（3-NOP として 100、500、1,000 mg/kg 飼料相当〔乳用牛への最大推奨添加量のそれぞれ 1、5、10 倍〕）し、一般状態の観察、体重及び摂餌量の測定、血液及び血液生化学検査、尿検査、病理及び組織病理学的検査、乳成分検査等を実施した。

8.0 g/頭/日投与群の 1 頭で、試験開始時より摂餌量の低下と試験開始 7 日後以降に乳量の低下がみられた。また、16 g/頭/日投与群の 1 頭で、摂餌量の低下と健康状態の悪化がみられ、血中カルシウム濃度の低下とリン、アルブミン、カリウム、好中球濃度の上昇がみられたことから低カルシウム血症を呈した可能性があった。このため、当該 2 頭は試験から除外された。これらの個体以外には、投与による一般状態等への異常はみられなかった。

16 g/頭/日投与群では、摂餌量の減少が試験開始直後にみられ、その後徐々に回復したが、乳用牛への推奨添加量の 10 倍量の添加は摂餌量に影響を与える可能性が示された。本事象は 3-NOP 投与による第一胃内の水素が増大したことが影響した可能性が報告された。また、推奨添加量の 5 倍量までの添加では、体重は増加傾向にあることが示された。

剖検や病理組織学的検査では、試験から除外した個体のうち、8.0 g/頭/日投与群の 1 頭では、左腎盂の顕著な拡張、中等度の間質性腎炎による腎臓の線維化及びリンパ球浸潤がみられるとともに、癒着した脾臓の腸間膜脂肪の嚢胞性病変と一致する化膿性炎症と肝実質の微細な混合性炎症細胞浸潤があったが、本飼料添加物投与による毒性影響ではないと考えられた。16 g/頭/日投与群の 1 頭では、頸部皮下組織はゼラチン状で、肝臓

の硬化並びに腸間膜リンパ節、第二胃の漿膜層及び第四胃の粘膜層の暗赤色化が確認された。試験から除外した2頭以外の個体では、腸間膜リンパ節及び胸腺の細胞分布密度の低下、肺、心血管及び消化器における混合性炎症細胞浸潤等の所見が得られたが、被験動物の年齢及び系統で一般的に観察される性質の偶発的な所見であり、対照群でも発生しているものであったため、本飼料添加物投与に関連した異常ではないと考えられた。

また、尿検査、血液学的及び血液生化学的検査、乳成分検査等の結果について、いずれの投与量においても本飼料添加物投与に関連した異常はみられなかった。(参照 11、13)

これらの結果から、食品安全委員会は、本飼料添加物の乳用牛への最大推奨添加量の5倍量までの添加について、牛に対する安全性に問題はないと考えた。

③ 牛における安全性試験③

本飼料添加物の有効性を確認するため、牛（アングス種等の肉用牛）を用いて安全性試験が実施されている。

3-NOP を21～238日間の混餌投与（最大 300 mg/kg 飼料まで）した結果、一般状態等に本飼料添加物投与による異常はみられなかった。(参照 1、14、15)

このため、食品安全委員会は、本飼料添加物の肉用牛への推奨添加量の添加について、牛に対する安全性に問題はないと考えた。

(2) 飼養試験

① 牛における飼養試験①

牛（ホルスタイン・フリーシアン種、平均体重 644～646 kg、泌乳牛、32 頭/群）に本飼料添加物を 105 日間混餌投与（0、60 mg/kg 乾物飼料）し、一般状態の観察、体重及び摂餌量の測定、乳成分検査等を実施した。

試験期間中、対照群を含む投与に関連しない事故等による個体を除き、一般状態、体重、摂餌量及び乳生産量に本飼料添加物投与に関連した異常はみられなかった。

乳成分について、本飼料添加物投与群で乳タンパク及びカゼインの有意な高値がみられたが、品質に影響を及ぼすものではないと考えられた。(参照 1、16)

② 牛における飼養試験②

牛（ホルスタイン・フリーシアン種、体重 550～785 kg、泌乳牛、21 頭/群）に本飼料添加物を 105 日間混餌投与（0、60 mg/kg 乾物飼料）し、一般状態の観察、体重及び摂餌量の測定、乳成分検査等を実施した。

試験期間中、一般状態、体重、摂餌量及び乳生産量に本飼料添加物投与に関連した異常はみられなかった。

乳成分について、本飼料添加物投与群で尿素及び乳糖の有意な高値がみられたが、品質に影響を及ぼすものではないと考えられた。(参照 1、17)

③ 牛における飼養試験③

牛（ホルスタイン・フリーシアン種、体重 490～695 kg、泌乳牛、24 頭/群）に本飼料

添加物を 105 日間混餌投与（0、60 mg/kg 乾物飼料）し、一般状態の観察、体重及び摂餌量の測定、乳成分検査等を実施した。

試験期間中、一般状態、体重、摂餌量及び乳生産量に本飼料添加物投与に関連した異常はみられなかった。

乳成分について、本飼料添加物投与群で乳脂肪及び尿素の有意な高値がみられたが、品質に影響を及ぼすものではないと考えられた。（参照 1、18）

これらの結果から、食品安全委員会は、牛に本飼料添加物を 60 mg/kg 乾物飼料で使
用した場合、牛に対する安全性に問題はないと考えた。

Ⅲ. 食品健康影響評価

3-ニトロオキシプロパノール (3-NOP) を有効成分とする飼料添加物は、牛の第一胃内でのメタンの生成を抑制することで、牛の暖気中のメタンを削減することを目的として、飼料に添加して使用される。その推奨添加量は乳用牛飼料には 3-NOP として 60～100 mg/kg 乾物飼料、肉用牛飼料には 3-NOP として 100～150 mg/kg 乾物飼料とされている。

食品安全委員会では、本飼料添加物の有効成分である 3-NOP について、飼料添加物として評価を行い、ADI を 1 mg/kg 体重/日と設定している。

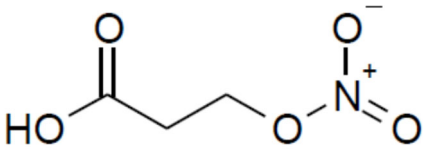
本飼料添加物に含まれている賦形物質等は、その使用状況及び既存の評価並びに本飼料添加物の用法・用量を考慮すると、本飼料添加物の含有成分として摂取した場合の人への健康影響は無視できる程度と考えた。

残留試験では、本飼料添加物を牛に混餌投与した結果、組織中においては、代謝物である M2 は定量限界未満であったが、乳においては、投与 2 日後以降で M2 が検出され、その濃度は用量依存的及び経時的に増加する傾向がみられた。

牛（乳用牛及び肉用牛）の安全性試験及び飼養試験の結果から、本飼料添加物の牛への推奨添加量での添加について、牛に対する安全性に問題はないと考えた。

以上のことから、食品安全委員会は、本飼料添加物が、飼料添加物として適切に使用される限りにおいては、食品を通じて人の健康に影響を与える可能性は無視できる程度と考えた。

<別紙 1：代謝物の名称及び推定構造>

略称	推定構造式	名称
M2	 <chem>[O-][N+](=O)OCC(=O)O</chem>	3-ニトロオキシプロピオン酸 (NOPA)

<別紙 2：検査値等略称>

略称等	名称
ADI	Average Daily Intake：一日摂取許容量
EFSA	European Food Safety Authority：欧州食品安全機関
FDA	Food and Drug Administration：米国食品医薬品局
GRAS	Generally Recognized as Safe：一般に安全と認められる (FDA の略語)
JECFA	Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives： FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議
LOQ	Limit of Quantitation：定量限界

＜参照＞

- 1 DSM 株式会社：飼料添加物指定審査用資料；3-ニトロオキシプロパノールについての試験成績等の抄録（概要・効果編）、2022＜非公表＞
- 2 Pubchem,
<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/3-Nitrooxypropanol>
- 3 DSM 株式会社：飼料添加物指定審査用資料 資料 1
- 4 厚生労働省：食品添加物等の規格基準（昭和 34 年厚生省告示第 370 号）指定添加物
- 5 FDA, Code of Federal Regulations Title 21
- 6 JECFA, Evaluation of certain food additives, 2002
- 7 EFSA, Re-evaluation of propane-1,2-diol (E 1520) as a food additive. 2018, 5235
- 8 厚生労働省：医薬品添加物規格 2018
- 9 食品安全委員会.「食品健康影響評価について（回答）」（平成 24 年 4 月 5 日付け府食第 342 号）
- 10 JECFA, silicon dioxide, amorphous, 2017
- 11 DSM 株式会社：飼料添加物指定審査用資料；3-ニトロオキシプロパノールについての試験成績等の抄録（安全性編）、2022＜非公表＞
- 12 DSM 株式会社：飼料添加物指定審査用資料 資料 11＜非公表＞
- 13 DSM 株式会社：飼料添加物指定審査用資料 資料 10＜非公表＞
- 14 DSM 株式会社：飼料添加物指定審査用資料 資料 8
- 15 DSM 株式会社：飼料添加物指定審査用資料 資料 9
- 16 DSM 株式会社：飼料添加物指定審査用資料 資料 5＜非公表＞
- 17 DSM 株式会社：飼料添加物指定審査用資料 資料 6＜非公表＞
- 18 DSM 株式会社：飼料添加物指定審査用資料 資料 7＜非公表＞

別添

飼料添加物評価書

3-ニトロオキシプロパノール

令和5年（2023年）10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.....	5
 I. 評価対象飼料添加物の概要	 6
1. 用途.....	6
2. 一般名	6
3. 化学名	6
4. 分子式	6
5. 分子量	6
6. 構造式	6
7. 開発の経緯及び使用状況	6
 II. 安全性に係る知見の概要	 7
1. 体内動態試験	7
(1) 体内動態試験（ラット①、単回強制経口投与）	7
(2) 体内動態試験（ラット②、単回強制経口投与）	8
(3) 体内動態試験（ラット③、単回強制経口投与）	9
(4) 体内動態試験（ラット④、単回及び5日間強制経口投与）	12
(5) 体内動態試験（ラット⑤、52週間強制経口投与）	15
(6) 体内動態試験（ラット⑥、52週間強制経口投与）	16
(7) 体内動態試験（ラット⑦、3-NOP、NOPA、HPA）	17
(8) 体内動態試験（マウス、強制経口投与）	19
(9) <i>in vitro</i> 培養試験（牛）	20
(10) 体内動態試験（牛）	20
2. 残留試験	23
(1) 残留試験（牛①、56日間混餌投与）	23
(2) 残留試験（牛②、90日間混餌投与）	23
3. 遺伝毒性試験	24
4. 急性毒性試験	26
5. 亜急性毒性試験	27
(1) 28日間亜急性毒性試験（マウス、強制経口投与）	27
(2) 90日間亜急性毒性試験（ラット、強制経口投与）	28
(3) 90日間亜急性毒性試験（イヌ、強制経口投与）	29
6. 慢性毒性及び発がん性試験	29
(1) 52週間慢性毒性試験（ラット、強制経口投与）	29
(2) 104週間慢性毒性及び発がん性試験（ラット、強制経口投与）	30

7. 生殖発生毒性試験.....	31
(1) 反復投与毒性試験と生殖発生毒性スクリーニング試験の併合試験（ラット、強制経口投与）	31
(2) 2世代繁殖毒性試験（ラット、強制経口投与）	32
(3) 発生毒性試験（ラット、強制経口投与）.....	33
(4) 発生毒性試験（ウサギ、強制経口投与）	33
(5) 精巢毒性試験（ラット、3-NOP、NOPA、HPA）	34
(6) 各動物種における NOPA の精巢毒性比較試験	34
8. その他の試験.....	35
(1) 皮膚腐食性/刺激性試験.....	35
(2) 眼刺激性試験	35
(3) 皮膚感作性試験.....	35
III. 国際機関等における評価	36
1. 欧州における評価.....	36
2. 英国における評価.....	36
IV. 食品健康影響評価	37
・ 別紙 1：代謝物の名称及び推定構造	42
・ 別紙 2：検査値等略称	43
・ 参照	45

〈審議の経緯〉

2023 年 3 月 9 日 厚生労働大臣より食品衛生法第 13 条第 1 項の規定に基づき、
飼料添加物の食品中の残留基準の設定に係る食品健康影響評価について要請（厚生労働省発生食 0308 第 11 号）、関係資料
の接受

2023 年 3 月 14 日 第 893 回食品安全委員会（要請事項説明）

2023 年 4 月 26 日 第 187 回肥料・飼料等専門調査会

2023 年 6 月 29 日 第 189 回肥料・飼料等専門調査会

2023 年 8 月 7 日 第 190 回肥料・飼料等専門調査会

2023 年 8 月 29 日 第 910 回食品安全委員会（報告）

2023 年 8 月 30 日 から 9 月 28 日まで 国民からの意見・情報の募集

2023 年 10 月 11 日 肥料・飼料等専門調査会座長から食品安全委員会委員長へ報告

2023 年 10 月 17 日 第 917 回食品安全委員会（報告）

10 月 18 日付けで厚生労働大臣に通知

〈食品安全委員会委員名簿〉

（2021 年 7 月 1 日から）

山本 茂貴（委員長）
浅野 哲（委員長代理 第一順位）
川西 徹（委員長代理 第二順位）
脇 昌子（委員長代理 第三順位）
香西 みどり
松永 和紀
吉田 充

〈食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会専門委員名簿〉

（2023 年 9 月 30 日まで）

森田 健（座長*）
川本 恵子（座長代理*）
吉田 敏則（座長代理*）
赤沼 三恵 植田 富貴子
新井 鐘蔵 小林 健一
荒川 宜親 佐々木 一昭
井上 薫 高橋 研
今田 千秋 中山 裕之

*：2022 年 4 月 25 日から

（2023 年 10 月 1 日から）

森田 健（座長*）
川本 恵子（座長代理*）
吉田 敏則（座長代理*）
赤沼 三恵 佐々木 一昭
新井 鐘蔵 高橋 研
井上 薫 平田 暁大
今井 俊夫 山田 雅巳
植田 富貴子 山中 典子

*：2022 年 4 月 25 日から

〈第 187 回肥料・飼料等専門調査会専門参考人名簿〉

今井 俊夫（元国立研究開発法人 国立がん研究センター研究所 動物実験施設長）
山中 典子（国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究部門）

疾病対策部 病性鑑定室)

〈第 189 回肥料・飼料等専門調査会専門参考人名簿〉

山中 典子 (国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究部門
疾病対策部 病性鑑定室)

〈第 190 回肥料・飼料等専門調査会専門参考人名簿〉

今井 俊夫 (元国立研究開発法人 国立がん研究センター研究所 動物実験施設長)

山田 雅巳 (防衛大学校 応用科学群 応用化学科教授)

山中 典子 (国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究部門 疾
病対策部 病性鑑定室)

要 約

牛の第一胃（ルーメン）内で生成されるメタンを削減する目的で開発された 1,3-プロパンジオールの硝酸エステルである「3-ニトロオキシプロパノール（3-NOP）」（CAS No. 100502-66-7）について、飼料添加物指定審査用資料等を用いて食品健康影響評価を実施した。

評価に用いた試験成績は、体内動態（マウス、ラット、牛）、残留（牛）、遺伝毒性、急性毒性（ラット）、亜急性毒性（マウス、ラット、イヌ）、慢性毒性及び発がん性（ラット）、生殖発生毒性（ラット、ウサギ）等である。

体内動態試験及び残留試験の結果から、3-NOP は動物体内に摂取されると、速やかに代謝され、約 1～2 時間後には未変化体は血漿中から検出されなくなる。反芻動物体内では M2 (NOPA)、M7 (HPA) 等が生成され、これらの代謝物はラットでも認められているものの、M2 は 3-NOP の残留を上回る傾向があることから、畜産物を介して人が摂取する可能性を考慮すべき物質は 3-NOP 及び M2 であると考えた。また、M7 等の代謝物は生体内に通常存在し、安全性に懸念のある化合物ではなかった。

遺伝毒性試験では、3-NOP は *in vitro* の小核試験の結果が陽性であったが、*in vivo* の小核試験を含むその他の全ての試験の結果がいずれも陰性であったことから、生体にとって問題となる遺伝毒性はないと判断した。また、代謝物である NOPA は *in vitro* の復帰突然変異試験の結果が陽性であったが、*in vivo* のトランスジェニックラットを用いた遺伝子突然変異試験を含むその他の全ての試験の結果がいずれも陰性であったことから、生体にとって問題となる遺伝毒性はないと判断した。

亜急性毒性試験では、雄の精巣及び精巣上体の絶対及び相対重量の減少並びに精子数の減少、並びに精子の運動性の低下がみられた。

発がん性試験において、十二指腸・空腸に良性間葉系腫瘍が認められたが、3-NOP は生体にとって問題となる遺伝毒性はないと判断されたことから、評価に当たり閾値を設定することは可能であると考えた。

2 世代繁殖毒性試験では、100 mg/kg 体重/日までの投与群の親動物及び児動物の一般状態、各種臨床所見及び繁殖能に被験物質投与に関連した毒性影響がみられなかった。また、発生毒性試験では、催奇形性は認められなかった。

ラットに 3-NOP を投与した際に観察された精巣毒性は、代謝物である NOPA で認められるが、HPA では認められないと考えた。また、3-NOP の体内動態試験の結果から、3-NOP は体内で速やかに代謝されるため、究極毒性物質は NOPA である可能性が考えられた。

3-NOP の各種毒性試験において、毒性影響が認められた試験の最小の NOAEL は、ラットを用いた 52 週間慢性毒性試験、104 週間慢性毒性及び発がん性試験並びに 2 世代繁殖毒性試験の 100 mg/kg 体重/日であったことから、これを根拠として、安全係数 100 で除した 1 mg/kg 体重/日を ADI として設定した。

I. 評価対象飼料添加物の概要

1. 用途

飼料の栄養成分その他の有効成分の補給（牛の曖気¹中のメタンの削減）

（参照1）

2. 一般名

和名：3-ニトロオキシプロパノール

英名：3-nitrooxypropanol

（参照 1）

3. 化学名

IUPAC：3-hydroxypropyl nitrate

CAS No.：100502-66-7

（参照 1、2）

4. 分子式

$C_3H_7NO_4$

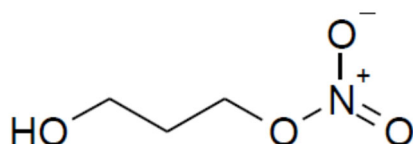
（参照 1、2）

5. 分子量

121.09

（参照 1、2）

6. 構造式



（参照 1）

7. 開発の経緯及び使用状況

3-ニトロオキシプロパノール（3-NOP）は、牛の第一胃（ルーメン）内で生成されるメタンを削減する目的で開発された 1,3-プロパンジオールの硝酸エステルである。

メタンは温室効果ガス²の一つで、その温室効果は二酸化炭素の 25 倍とされている。牛の曖気中にはメタンが含まれており、米国のメタン排泄量の 26%が牛の曖気によるものと言われている。（参照 1、3）

¹ 「あいき」という。げっぷのこと。

² 温室効果ガスは、二酸化炭素（76%）、メタン（16%）、一酸化二窒素（6%）及びフロンガス（2%）がその主体を占めている。

牛は飼料中の繊維成分を第一胃内で発酵させて、揮発性脂肪酸（VFA）及び水素を生成する。水素は第一胃内のメタン産生古細菌の成長に必要なエネルギー源として利用される。牛の嘔気中のメタンは、メタン産生古細菌によるメタン生成経路の最終段階において、メチル補酵素 M（ $\text{CH}_3\text{-S-CoM}$ ）が補酵素 B（ HS-CoB ）と反応することで生成される。この反応は、メチル補酵素 M 還元酵素（MCR：methyl-coenzyme M reductase）によって触媒される（図 1）。

3-NOP は、MCR の基質であるメチル補酵素 M に構造が類似していることから、MCR に結合し、MCR の活性を阻害することでメタンの生成を抑制する。（参照 1、4）

国内では 3-NOP を含有する動物用医薬品は承認されておらず、人用医薬品としての使用もない。（参照 1）

欧州では EFSA における安全性評価が 2021 年に終了し、2022 年に反芻動物への飼料添加物として使用が認められている。また、ブラジル及びチリでは 2021 年に反芻動物への飼料添加物として使用が認められている。（参照 1、5）

今般、3-NOP について、農林水産省は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）第 2 条第 3 項並びに第 3 条第 1 項及び第 2 項の規定に基づく飼料添加物としての指定並びに当該飼料添加物の基準及び規格を設定することとした。これに伴い、厚生労働省から食品中の残留基準値の設定に係る評価要請がなされた。

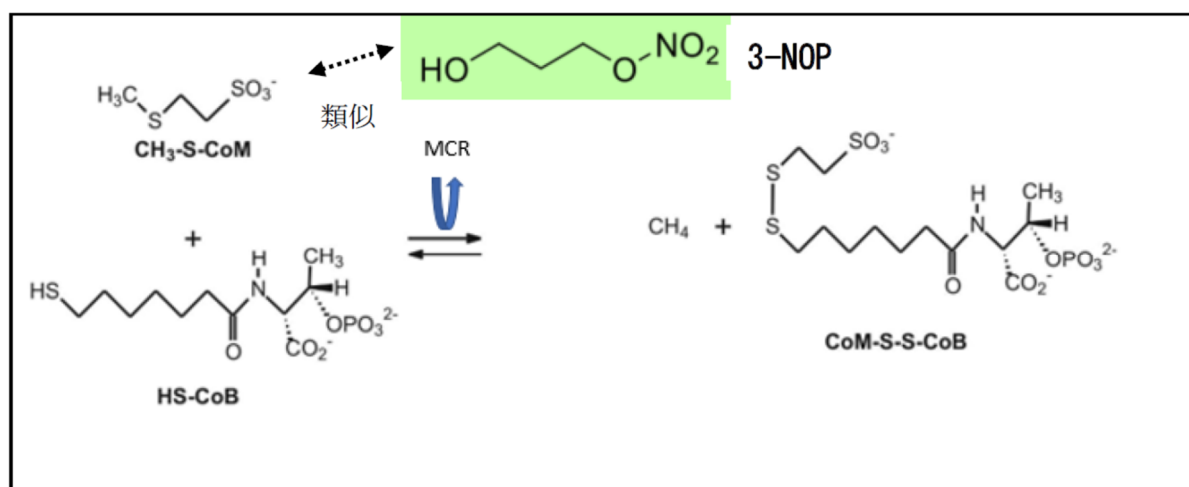


図 1 メタン産生古細菌によるメタン生成機序及び 3-NOP の作用点の概略図

II. 安全性に係る知見の概要

本評価書では、飼料添加物の指定審査申請資料等を基に、3-NOP の安全性に係る知見を整理した。

代謝物の名称及び推定構造は別紙 1 に、検査値等略称は別紙 2 に示した。

1. 体内動態試験

(1) 体内動態試験（ラット①、単回強制経口投与）

ラット（Wistar Han 系、8 週齢、平均体重 301 g、雄 4 匹）に、 $[3\text{-}^{14}\text{C}]$ 標識 3-NOP

を単回強制経口投与（505 mg/kg 体重）した。

投与 0.25～48 時間後に血液を、投与 24 時間前並びに投与 0～24 時間後及び投与 24～48 時間後に糞便及び尿を採取した。また、投与 48 時間後に剖検し、組織等を採取した。採取した試料中の放射活性を、放射性 HPLC、NMR 及び LC/MS を用いて分析、測定した。

体内動態パラメータの結果を表 1 に示した。

血漿中の総放射活性は、投与 1 時間後に 592 µg 3-NOP 当量/g と最大値を示し、投与 48 時間後には 27 µg 3-NOP 当量/g に減少した。

3-NOP 投与後の回収率の結果を表 4 に示した。（表 4 には試験 [1. (2) (3)] の結果も併記）

投与 0～24 時間後の間に尿中へ排泄された総放射活性は投与量の 17.6% で、投与 24～48 時間後の間では 0.3% であった。投与後 0～48 時間の間に糞便中へ排泄された総放射活性は投与量の 2.3% のみであった。その他、投与量の 5.5% の放射活性は、組織、臓器及びカーカス³から回収され、投与量の 0.2% は胃腸内容物に残存していた。各種試料から回収された総放射活性は 28% であった。この結果、3-NOP の多くは揮発性代謝物となることが示唆された。

投与 48 時間後の組織中の総放射活性を表 5 に示した。（表 5 には試験 [1. (2) (3)] の結果も併記）

肝臓が最も高値であり、続いて副腎、腎臓の順であった。筋肉、脳及び脂肪組織では低値であった。

尿中には未変化体（0.1%未満）及び 8 成分の代謝物がみられ、代謝物のうち 7 成分（M2～M8）が同定された。主要代謝物は M7 であり、尿中の総放射活性の 47.5% を占め、投与量の 7.2% であった。（参照 6、7）

表 1 ラットにおける ¹⁴C 標識 3-NOP 投与後の各種体内動態パラメータ

パラメータ（単位）	平均値（n=4）
AUC ₀₋₄₈ （µg 3-NOP 当量×h/g）	3,856
AUC _{inf} （µg 3-NOP 当量×h/g）	4,571
T _{max} （h）	1
C _{max} （µg 3-NOP 当量/g）	592
T _{1/2} （h）	21

（2）体内動態試験（ラット②、単回強制経口投与）

ラット（Wistar Han 系、7～8 週齢、体重 233～265 g、雄 2 匹）に、[3-¹⁴C]標識 3-NOP を単回強制経口投与（506 mg/kg 体重）した。

投与 0～24 時間後に糞便及び尿を、投与 0～8 時間後及び投与 8～24 時間後に呼気を採取した。また、投与 24 時間後に剖検し、組織等を採取した。採取した試料中の放射活性を、放射性 HPLC、LSC、NMR 及び LC/MS を用いて分析、測定した。

³ 組織・臓器を取り除いた残渣のことをカーカスという（以下同じ。）。

3-NOP 投与後の回収率の結果を表 4 に示した。(表 4 には試験 [1. (1) (3)] の結果も併記)

投与 24 時間後において、投与量の 88.8%に相当する放射活性が回収され、そのうち投与量の 77.4%に相当する放射活性が CO₂ として排泄された。放射活性を有する揮発性物質のほとんどは ¹⁴CO₂ であった。3-NOP の CO₂ への代謝は迅速で、投与 8 時間後までに 64.3%、投与 8~24 時間後では 13.0%が呼気として排出された。その他、尿及び糞便では各々 9.8%及び 1.2%、組織及びカーカスでは 7.7%、胃腸内容物では 0.5%が確認された。

組織中の総放射活性を表 5 に示した。(表 5 には試験 [1. (1) (3)] の結果も併記)
肝臓、副腎及び腎臓の順に高く、筋肉、脳及び脂肪では低かった。(参照 5、6、8)

(3) 体内動態試験 (ラット③、単回強制経口投与)

ラット (Wistar Han 系、6 週齢、平均体重 302 g、雄 3 匹) に、[3-¹⁴C]標識 3-NOP を単回強制経口投与 (505 mg/kg 体重) した。

投与 1、2、3 時間後に各 1 匹をと殺し、組織、末梢血を採取するとともに、と殺までの糞便及び尿を採取した。採取した試料中の放射活性を LSC、放射性 HPLC、NMR 及び LC/MS を用いて分析、測定した。

3-NOP 投与後の回収率の結果を表 4 に示した。(表 4 には試験 [1. (1) (2)] の結果も併記)

投与 1、2、3 時間後における回収された放射活性はそれぞれ 88、78 及び 58%であった。投与後の時間経過に伴う回収率の減少は、揮発性代謝物の生成によるものと報告された。

組織中の総放射活性を表 5 に示した。(表 5 には試験 [1. (1) (2)] の結果も併記)

脂肪及び前立腺を除く各種組織中の総放射活性及び血漿中の総放射活性は、投与後の時間経過とともに減少した。

各種代謝物の割合を表 2 及び表 3 に示した。

血漿中の主要な代謝物は M2 及び M7 であり、投与 1~3 時間後の間で、M2 は 61%から 10%に減少し、M7 は 31%から 53%に増加した。肝臓抽出物には未変化体は検出されなかった。投与後 0~2 時間における尿中の回収された放射活性は 13.7%で、主要な代謝物は M2、M3 及び M7 であり、それぞれ 20%、11%及び 58%であった。また、少量の M4、M5 及び M6 もみられた。

胃内容物中の主要な放射活性物質は未変化体であり、投与 1 及び 3 時間後でそれぞれ 84%及び 87%であった。小腸内容物中の主要代謝物は M3 及び M7 であり、未変化体は 4%未満であった。また、その他の代謝物として、M10、M11 及び M12 もみられた。盲腸及び結腸では M7、M8 及び M9 がみられたが、未変化体はみられなかった。(参照 5、6、9)

表2 ラットにおける 3-NOP 投与後の各種代謝物の割合
(検出されたピークに対する比率) (%)

代謝物		血漿中			肝臓中			糞便/尿
		1 時間後	2 時間後	3 時間後	1 時間後	2 時間後	3 時間後	0～2 時間
未変化体		1.2	-	-	-	-	-	1.89
M2		60.8	28.8	9.8	0.8	-	-	19.73
M3		1.4	-	-	3.5	-	-	11.05
M7		31.4	60.9	52.8	27.6	26.3	8.6	57.83
M8		2.9	2.5	5.2	1.7	7.7	2.6	3.01
M9		-	-	-	2.2	4.3	7.4	-
未同定 a	1	2.4	4.8	27.0	11.0	19.3	36.0	1.70
	2	-	2.9	5.2	15.9	16.5	13.2	-
	3				2.2	1.8	5.5	1.81
	4				19.8	13.6	14.8	2.98 ^b
	5				-	2.6	8.4	
	6				13.8	8.0	3.6	
	7				1.3	-	-	

a : 未同定画分は各組織において順不同

b : M4、M5 及び M6 の合計

表3 ラットにおける 3-NOP 投与後の消化管内容物中の各種代謝物の割合
(検出されたピークに対する比率) (%)

代謝物	胃内容物			小腸内容物			盲腸内容物			大腸内容物		
	1 時間後	2 時間後	3 時間後	1 時間後	2 時間後	3 時間後	1 時間後	2 時間後	3 時間後	1 時間後	2 時間後	3 時間後
未変化体	67.8	29.4	46.5	1.4	-	2.7	-	-	-	-	-	-
M2	1.3	3.1	-	10.0	1.7	-	-	-	-	2.0	-	-
M3	-	7.2	-	9.4	24.8	11.4	-	-	-	-	-	-
M7	3.0	7.5	4.9	33.2	39.2	34.0	20.3	24.2	16.7	20.5	14.6	14.6
M8	4.3	5.1	1.4	-	-	-	9.2	4.2	7.5	4.8	2.0	3.4
M9	-	26.6	-	0.3	2.2	-	38.0	40.0	23.6	19.1	17.8	23.8
M12	-	1.6	-	1.3	4.6	3.0	-	-	-	-	-	-
未同定	4.1	8.5	0.7	3.3	5.4	17.0	-	-	2.0	0.4	2.2	-

表4 ラットにおける 3-NOP 投与後の回収率（総投与量に対する比率）（%）

試験	(3) ラット試験③ (n=1)			(2) ラット試験② (n=2)	(1) ラット試験① (n=4)
測定時点	1 時間後	2 時間後	3 時間後	24 時間後	48 時間後
糞便/尿	1.76	17.51	7.50	11.38	20.62±2.93
呼気	ND	ND	ND	77.45	ND
組織/臓器・ カーカス	57.46	41.73	19.18	7.75	5.53±0.30
胃腸内容物	15.89	9.28	29.20	0.48	0.23±0.02
皮/毛	13.26	9.14	2.50	2.26	1.61±0.24
総回収率	88.37	77.66	58.38	99.31	27.99±2.71

平均値±標準偏差

ND：データなし

表5 ラットにおける 3-NOP 投与後の組織中の総放射活性（μg 3-NOP 当量/g）

試験	(3) ラット試験③ (n=1)			(2) ラット試験② (n=2)	(1) ラット試験① (n=4)
測定時点	1 時間後	2 時間後	3 時間後	24 時間後	48 時間後
全血	534	379	122	48.7	25.3±3.4
血漿	713	521	156	68.8	26.6±3.2
赤血球	435	292	68	39.9	26.8±3.2
肝臓	628	490	380	184.5	139.6±16.4
腎臓	827	666	577	118.4	71.6±2.8
副腎	667	323	146	159.3	113.9±28.2
脾臓	436	317	121	90.9	50.1±8.8
心臓	464	337	121	47.4	33.5±2.5
脳	371	304	74	24.8	31.2±3.1
肺	386	307	113	79.2	42.6±2.4
脾臓	350	300	246	71.6	36.4±11.3
胸腺	446	353	143	88.2	54.8±3.8
脂肪	81	70	164	58.9	23.5±8.3
筋肉	332	241	84	42.4	27.1±5.3
精巣	328	282	83	34.8	22.9±0.8
精巣上体	148	98	54	61.1	25.6±6.1
前立腺	347	213	316	79.0	63.0±4.1
胃	1,036	411	378	77.2	59.7±7.1
小腸	655	525	184	121.5	53.0±8.3
盲腸	398	330	152	73.7	44.3±4.9
結腸/直腸	406	416	247	67.4	40.9±6.5

カーカス	340	234	99	44.0	30.8±3.9
皮/毛	381	ND	ND	ND	ND

平均値±標準偏差

ND：データなし

（４）体内動態試験（ラット④、単回及び５日間強制経口投与）

ラット（Wister Han 系、11～12 週齢、体重 176～398 g、雌雄各 2 又は 4 匹/群）に[3-¹⁴C]標識 3-NOP を単回（50 又は 500 mg/kg 体重）又は 5 日間（50 mg/kg 体重）強制経口投与した。投与 1 又は 48 時間後の血液、糞便及び尿、呼気並びに各種組織及び臓器における総放射活性を測定した。

組織中の総放射活性を表 6 に、放射活性の回収率を表 7 に示した。

50 mg/kg 体重を単回投与した群において、投与 48 時間後の雄では、副腎における総放射活性が最も高く、続いて、骨髄、肝臓、腎臓、胸腺、脂肪（腎）、前立腺、脾臓、膵臓、肺であった。その他の組織では血漿中の総放射活性の数値付近又は未満であった。雌では、副腎における総放射活性が最も高く、続いて、骨髄、腎臓、肝臓、卵巣、脾臓、胸腺、肺、膵臓、子宮であった。その他の組織では血漿中の総放射活性の数値付近又は未満であった。投与 48 時間後までに雌雄それぞれ総投与量の 78.7 及び 80.1%が呼気へ、4.8 及び 6.3%が尿へ、1.5 及び 1.1%が糞便へ排泄され、カーカスでは雌雄それぞれ 3.1 及び 4.4%であった。総回収率は 91.1 及び 95.9%となった。大部分は投与 8 時間後までに排泄された。

また、500 mg/kg 体重を単回投与した群でも同様の動態を示し、各組織に分布した放射活性は用量依存性がみられた。

50 mg/kg 体重を 5 日間投与した群において、最終投与 48 時間後の雄では、副腎における総放射活性が最も高く、続いて、肝臓、腎臓、骨髄、胸腺、前立腺、脾臓、膵臓、肺、精巣上体であった。その他の組織では血漿中の総放射活性の数値付近又は未満であった。雌では、副腎における総放射活性が最も高く、続いて、卵巣、脂肪（腎）、肝臓、腎臓、胸腺、膵臓、骨髄、肺、脾臓であった。その他の組織では血漿中の総放射活性の数値付近又は未満であった。最終投与 48 時間後までに雌雄それぞれ総投与量の 68.3 及び 70.7%が呼気へ、6.4 及び 5.9%が尿へ、2.2 及び 1.5%が糞便へ排泄され、カーカスでは雌雄それぞれ 3.6 及び 3.5%であった。総回収率は 83.1 及び 84.6%となった。大部分は投与 8 時間後までに排泄された。

3-NOP の排泄に係る動態に、3-NOP の投与量及び投与回数の影響並びに雌雄差はみられなかった。

500 mg/kg 体重を単回投与した群の結果から、T_{max} は 45 分と算定された。（参照 6、10）

表6 ラットにおける 3-NOP 単回又は 5 日間投与後の放射活性
(μg 3-NOP 当量/g 組織又は内容物)

投与量 (mg/kg 体重/日)	50 (単回)		500 (単回)		50 (5 日間)		500 (単回)	
投与後	48 時間 (n=4)		48 時間 (n=4)		48 時間 (n=4)		1 時間 (n=2)	
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
副腎	19.45 ± 5.02	15.37 ± 3.23	128.47 ± 50.10	109.63 ± 26.21	51.23 ± 18.58	57.03 ± 16.53	398	357
骨髄	14.25 ± 2.25	10.01 ± 1.79	114.02 ± 34.54	81.09 ± 15.22	34.11 ± 7.53	21.32 ± 2.50	338	351
精巣上体	5.13 ± 2.61	ND	40.70 7.19	ND	18.20 ± 6.93	ND	151	ND
脂肪 (腎)	8.45 ± 9.95	2.01 ± 0.58	19.22 ± 5.81	17.94 ± 7.14	13.12 ± 6.70	34.09 ± 35.72	62	86
心臓	4.50 ± 0.72	3.30 ± 0.60	34.33 ± 2.01	28.44 ± 2.04	14.17 ± 4.19	12.71 ± 1.81	358	438
腎臓	10.87 ± 1.03	8.54 ± 1.84	94.21 ± 2.74	72.74 ± 5.27	34.80 ± 7.42	30.01 ± 2.45	636	865
肝臓	12.64 ± 3.16	8.52 ± 1.84	93.65 ± 3.29	64.44 ± 5.53	34.92 ± 9.34	32.29 ± 2.24	655	616
肺	7.23 ± 1.55	5.59 ± 1.24	53.67 ± 4.67	40.58 ± 4.31	18.70 ± 6.61	20.74 ± 5.14	494	500
筋肉	3.38 ± 1.05	2.52 ± 0.14	31.65 ± 5.50	24.12 ± 1.26	13.44 ± 1.12	10.24 ± 1.33	201	233
卵巣	ND	7.37 ± 1.02	ND	58.63 ± 11.03	ND	35.65 ± 15.54	ND	372
膵臓	7.60 ± 2.31	5.00 ± 0.89	58.21 ± 1.88	48.85 ± 5.21	20.03 ± 3.44	21.56 ± 6.90	471	480
前立腺	8.31 ± 5.04	ND	77.22 ± 15.00	ND	24.58 ± 2.38	ND	299	ND
脾臓	8.24 ± 1.17	6.71 ± 1.25	65.00 ± 4.21	52.72 ± 6.04	22.92 ± 3.84	20.12 ± 1.77	375	406
精巣	2.93 ± 0.52	ND	26.35 ± 0.49	ND	10.52 ± 1.69	ND	192	ND
胸腺	8.97 ± 0.83	6.59 ± 1.59	87.33 ± 4.16	63.84 ± 9.05	28.52 ± 5.38	27.72 ± 7.22	385	434
子宮	ND	4.64 ± 3.22	ND	44.29 ± 21.35	ND	13.54 ± 2.78	ND	488

胃	5.78 ±1.27	4.30 ±0.62	61.26 ±6.35	46.42 ±5.43	15.24 ±4.53	13.65 ±2.49	6,426	4,498
胃内容物	0.63 ±0.25	0.22 ±0.07	4.36 ±2.48	2.33 ±0.69	1.93 ±0.54	1.13 ±0.32	3,402	1,593
小腸	9.29 ±2.35	7.44 ±3.69	68.11 ±6.38	45.01 ±8.869	18.05 ±5.96	17.71 ±4.23	642	568
小腸内容物	5.15 ±0.66	3.54 ±1.28	48.50 ±9.20	29.45 ±5.61	14.45 ±5.26	11.16 ±1.45	599	597
盲腸	6.10 ±1.76	3.04 ±1.38	34.86 ±2.87	22.90 ±2.73	10.79 ±5.01	11.24 ±1.00	129	184
盲腸内容物	2.30 ±1.20	0.87 ±0.22	13.52 ±5.03	8.77 ±1.59	3.19 ±0.72	2.81 ±1.04	155	122
大腸	6.16 ±1.76	3.76 ±1.31	45.88 ±5.13	38.08 ±7.70	14.38 ±3.81	10.64 ±2.39	283	213
大腸内容物	2.24 ±1.15	0.86 ±0.28	12.82 ±5.10	7.90 ±2.02	2.36 ±0.49	2.68 ±0.75	107	48
血漿	7.03 ±0.45	4.22 ±0.95	51.92 ±3.19	34.47 ±4.84	14.42 ±4.02	11.68 ±1.62	467	583
全血	3.90 ±0.61	2.90 ±0.67	30.67 ±0.55	23.33 ±2.50	10.72 ±3.22	10.07 ±0.76	349	460

平均値±標準偏差

ND：データなし

表7 ラットにおける ^{14}C 標識 3-NOP 単回及び5日間投与後の回収率
(総投与量に対する比率) (%)

投与量 (mg/kg 体重/日)	50 (単回)		500 (単回)		50 (5日間)		500 (単回)	
投与後	48時間 (n=4)		48時間 (n=4)		48時間 (n=4)		1時間 (n=2)	
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
尿	6.3 (6.6)	4.8 (5.3)	11.3 (12.1)	13.1 (15.4)	5.9 (7.0)	6.4 (7.7)	ND	ND
糞便	1.1 (1.1)	1.5 (1.6)	1.3 (1.4)	3.2 (3.8)	1.5 (1.8)	2.2 (2.6)	ND	ND
呼気	80.1 (83.5)	78.7 (86.4)	73.5 (78.9)	61.7 (72.3)	70.7 (83.6)	68.3 (82.2)	ND	ND
ケージ	0.2 (0.2)	0.5 (0.5)	0.4 (0.4)	1.9 (2.2)	0.2 (0.2)	0.3 (0.4)	ND	ND
排泄物合計	87.7	85.5	86.5	79.9	78.3	77.2	ND	ND

	(91.4)	(93.9)	(92.8)	(93.7)	(92.6)	(92.9)		
組織/ 臓器合計	5.8 (6.0)	4.0 (4.4)	4.6 (4.9)	3.8 (4.5)	4.4 (5.2)	4.3 (5.2)	42.9 (61.1)	47.0 (68.0)
消化管内容 物	0.4 (0.4)	0.4 (0.4)	0.3 (0.4)	0.3 (0.4)	0.3 (0.4)	0.2 (0.2)	18.9 (26.9)	13.8 (20.0)
皮/毛	2.0 (2.1)	1.0 (1.1)	1.4 (1.5)	0.9 (1.1)	1.4 (1.7)	1.2 (1.4)	8.5 (12.1)	8.2 (11.9)
総計	95.9	91.1	93.2	85.3	84.6	83.1	70.2	69.1

() 内は総計に対する比率 (%)

ND : データなし

(5) 体内動態試験 (ラット⑤、52 週間強制経口投与)

ラット (Wistar Han 系、6 週齢、雌雄各 20 匹/群) に 3-NOP を 52 週間強制経口投与 (雄 : 0、25、50、100、300 mg/kg 体重/日、雌 : 0、50、100、600 mg/kg 体重/日) し、投与開始 1 日後並びに投与 26、29 及び 52 週後における被験物質投与 1 時間後の血中 M2 濃度を測定、比較した。なお、本試験は慢性毒性試験 (52 週間経口投与) と並行して実施された。

各測定時点における被験物質投与 1 時間後の血中 M2 濃度を表 8 に、投与 29 週後における体内動態パラメータを表 9 に示した。

被験物質投与後、速やかに血中 M2 濃度は上昇し、投与 0.25~1 時間後に C_{max} に達した。また、M2 は速やかに排泄され、半減期は雄では 0.198~0.563 時間、雌では 0.301~0.587 時間であった。 T_{last} は 2~3 時間の範囲であった。 C_{max} 及び AUC_{last} の値は投与量依存的に変化した。いずれの投与量群においても、投与 1 日後並びに投与 26、29 及び 52 週後時点における被験物質投与 1 時間後の血中 M2 濃度はほぼ同じであり、蓄積は生じないと考えられた。また、 C_{max} 及び AUC の値に雌雄差はみられなかった。(参照 6、11)

表 8 ラットにおける 3-NOP 投与後の血中 M2 濃度 (ng/mL)

投与量 (mg/kg 体重/日)	性別	測定時点			
		1 日後 (10 匹/ 群)	26 週後 (10 匹/ 群)	29 週後 (3 匹/ 群)	52 週後 (10 匹/ 群)
25	雄	78.0±37.8	59.5±31.5	93.6±57.2	41.7±24.6
50	雄	251±171	299±248	143±45.7	193±141
	雌	183±130	186±173	197±39.0	243±163
100	雄	1,000±505	2,110±3,720	840±519	1,930±2,980
	雌	615±353	680±320	615±363	583±254
300	雄	51,100±29,200	90,200±35,100	81,600±66,500	123,000±37,100
600	雌	146,000±57,900	178,000± 110,000	432,000± 191,000	195,000± 126,000

平均値±標準偏差

表9 ラットにおける 3-NOP 投与後の各種体内動態パラメータ (M2)

パラメータ (単位)	投与量 (mg/kg 体重/日)						
	25	50		100		300	600
	雄	雄	雌	雄	雌	雄	雌
T _{last} (h)	2~3	3	2~3	3	3	3	3
T _{max} (h)	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25~0.5	0.25~1
C _{max} (ng/mL)	2,870	12,100	17,200	58,600	42,200	168,000	498,000
C _{max} /D (kg-ng/mL/mg)	115	241	507	586	611	946	1,150
AUC _{last} (h-ng/mL)	913	3,040	4,790	19,700	13,500	140,000	611,000
AUC _{last} /D (h-kg-ng/mL/mg)	36.5	60.8	95.7	197	135	468	1,020
T _{1/2} (h)	0.295	0.487	0.436	0.494	n/c	0.262	n/a

/D : 1 mg/kg に標準化された値

n/a : データなし

n/c : 算定不可

(6) 体内動態試験 (ラット⑥、52 週間強制経口投与)

ラット (Wistar Han 系、7 週齢、雌雄各 5 匹/群) に 3-NOP を 52 週間強制経口投与 (雄 : 0、25、50、100 mg/kg 体重/日、雌 : 0、50、100、300 mg/kg 体重/日) し

、投与開始 1 日後並びに投与 13 及び 52 週後における被験物質投与 1 時間後の血中 M2 濃度を測定、比較した。なお、本試験は慢性毒性及び発がん性試験 (2 年間経口投与) と並行して実施された。

投与 13 週後における体内動態パラメータを表 10 に示した。

被験物質投与後、速やかに血中 M2 濃度は上昇し、投与 0.25~0.5 時間後に C_{max} に達した。また、M2 は速やかに排泄され、半減期は雌雄いずれも 0.2~0.8 時間、T_{last} は 3 時間であった。いずれの投与量群においても、投与 1 日後並びに投与 13 及び 52 週後時点における被験物質投与 1 時間後の血中 M2 濃度はほぼ同じであり、蓄積は生じないと考えられた。また、50 及び 100 mg/kg 体重/日投与群において、C_{max} 及び AUC の値に雌雄差はみられなかった。(参照 6、12)

表10 ラットへの 3-NOP 投与後の各種体内動態パラメータ (M2)

パラメータ (単位)	投与量 (mg/kg 体重/日)					
	25	50	50	100	100	300
	雄	雌	雄	雌	雄	雌
T _{last} (h)	3	3	1~3	3	3	3
T _{max} (h)	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25~0.5	0.25~0.5
C _{max} (ng/mL)	2,260	14,700	9,760	33,400	56,600	248,000

$C_{\max}/D$ (kg-ng/mL/mg)	90.5	294	195	334	566	827
AUC_{last} (h-ng/mL)	757	4,460	2,770	11,700	20,600	203,000
AUC_{last}/D (h-k-g-ng/mL/mg)	30.3	89.3	55.3	117	206	677
$T_{1/2}$ (h)	0.696	0.627	0.437	0.602	0.393	0.236

/D : 1 mg/kg に標準化された値

(7) 体内動態試験 (ラット⑦、3-NOP、NOPA、HPA)

ラット (Wistar Han 系、12~13 週齢、雄 5 匹/群) に 3-NOP を 10 日間経口投与 (0、800 mg/kg 体重/日、投与開始日のみ 1,000 mg/kg 体重/日) し、投与 10 日目に血清中の 3-NOP、M2 及び M7 濃度を測定した。

なお、本試験は 3-NOP の代謝物の毒性 (精巣への影響) を調べるために実施されたもので、M2 及び M7 をラットに非経口経路 (M2 は静脈内投与⁴ (425 mg/kg 体重/日)、M7 は皮下投与 (350 mg/kg 体重/日)) で投与し、同様に体内動態パラメータを測定する試験も実施した。

① 3-NOP 強制経口投与

結果を表 11 に示した。

3-NOP の血中濃度は投与後速やかに上昇し、0.083~0.25 時間で最大となり、最終測定時点は投与 1 時間後であった。 $T_{1/2}$ は全例を測定することができなかったが、1 例で 0.318 時間 (約 19 分) と算出された。また、3-NOP 投与後速やかに M2 が生成され、M2 の血中濃度は投与 1 時間後に最大となるとともに、投与 2 時間後には M7 の血中濃度が最大となった。 AUC_{last} は 3-NOP より M2 及び M7 で高く、M2 で 4 倍、M7 で 9 倍であった。(参照 6、13)

表 11 ラットにおける 3-NOP 投与後の各種体内動態パラメータ (3-NOP、M2、M7)

パラメータ (単位)	3-NOP 投与 (1,000/800 mg/kg 体重/日)		
	3-NOP	M2	M7
T_{last} (h)	1	24	24
T_{max} (h)	0.083~0.25	1	2
$C_{\max}$ (μmol/mL)	1,830	2,440	2,760
$C_{\max}/D$ (kg-μmol/mL/mg)	2.29	3.05	3.45
AUC_{last} (h-μmol/mL)	907	3,520	8,530
AUC_{last}/D (h-k-g-μmol/L/mg)	1.13	4.40	10.7
$T_{1/2}$ (h)	0.318 ^a	3.85	3.64

/D : 1 mg/kg に標準化された値

a : 正確に測定できた 1 匹のみのデータ

⁴ 5 匹中 1 匹は静脈内投与が不可能であったため皮下投与された。

② NOPA 静脈内投与 <参考資料⁵>

結果を表 12 に示した。

NOPA 静脈投与群の $T_{1/2}$ は 0.213 時間 (約 13 分間) であり、投与後速やかに血中から消失したが、 CL_{tot} は $0.0723 \text{ mg}/(\text{h}\cdot\mu\text{mol/L})/\text{kg}$ 、 Vd_{ss} は $0.0437 \text{ mg}/(\mu\text{mol/L})/\text{kg}$ であり、M2 は全身性には緩やかに除去され、高度に体内に分布すると報告された。(参照 6、13)

表 12 ラットにおける NOPA 投与後の体内動態パラメータ (M2、M7)

パラメータ (単位)	NOPA 投与 (425 mg/kg 体重/日)			
	M2		M7	
	静脈内投与	皮下投与	静脈内投与	皮下投与
T_{last} (h)	3~6	6	24	24
T_{max} (h)	n/a	0.5	1	2
C_0 ($\mu\text{mol/L}$)	7,430	n/a	n/a	n/a
C_{max} ($\mu\text{mol/mL}$)	n/a	2,820	2,780	2,660
C_{max}/D ($\text{kg}\cdot\mu\text{mol/mL}/\text{mg}$)	n/a	6.64	6.54	6.27
AUC_{last} ($\text{h}\cdot\mu\text{mol/mL}$)	5,950	4,140	6,060	5,300
AUC_{last}/D ($\text{h}\cdot\text{kg}\cdot\mu\text{mol/L}/\text{mg}$)	14.0	9.75	14.3	12.5
$T_{1/2}$ (h)	0.213	0.383	n/a	n/a
CL_{tot} ($\text{mg}/(\text{h}\cdot\mu\text{mol/L})/\text{kg}$)	0.0723	n/a	n/a	n/a
V_z ($\text{mg}/(\mu\text{mol/L})/\text{kg}$)	0.0230	n/a	n/a	n/a
Vd_{ss} ($\text{mg}/(\mu\text{mol/L})/\text{kg}$)	0.0437	n/a	n/a	n/a
MRT_{inf} (h)	0.603	n/a	n/a	n/a

/D : 1 mg/kg に標準化された値

n/a : データなし

皮下投与 : 静脈内投与が困難であった 1 例について実施

③ HPA 皮下投与 <参考資料⁶>

結果を表 13 に示した。

HPA 皮下投与後、血中濃度は速やかに上昇し、 T_{max} は 0.5 時間、 T_{last} は 24 時間であった。投与 6~24 時間後の M7 濃度は、内在性の値 (対照群 : $0.124\sim0.214 \mu\text{g/mL}$) に向かって減少した。(参照 6、13)

表 13 ラットにおける HPA 投与後の体内動態パラメータ (M7)

パラメータ (単位)	HPA 投与 (350 mg/kg 体重/日)
T_{last} (h)	24
T_{max} (h)	0.5

⁵ 投与経路が非経口であるため、参考資料とした。

⁶ 投与経路が非経口であるため、参考資料とした。

C _{max} (μmol/mL)	5,200
C _{max} /D (kg-μmol/mL/mg)	14.8
AUC _{last} (h-μmol/mL)	11,900
AUC _{last} /D (h-kg-μmol/L/mg)	34.0
T _{1/2} (h)	2.66

/D : 1 mg/kg に標準化された値

(8) 体内動態試験 (マウス、強制経口投与)

マウス (CByB6F1 Hybrid 系、7~8 週齢、雌雄、各 10 匹/群) に、3-NOP を 28 日間強制経口投与 (0、100、300、700 mg/kg 体重/日) し、代謝物である M2 の血中動態を測定した。なお、本試験は亜急性毒性試験 (28 日間経口投与) と並行して行われた。

結果を表 14 に示した。

700 mg/kg 体重/日までの投与群における体内動態パラメータは、T_{max} は 0.083~0.5 時間、T_{last} は 1~8 時間であり、C_{max} 及び AUC は用量依存的に増加した。半減期は 0.5~1.4 時間で M2 の排泄は速やかであった。これらの結果は、投与開始日と終了日で同様の傾向を示した。M2 の C_{max} 及び AUC は反復投与により顕著に変化することはなかった。M2 の動態に雌雄差はみられなかった。(参照14)

表 14 マウスにおける 3-NOP 経口投与後の各種体内動態パラメータ (M2)

試料 採取 時点	パラメータ (単位)	3-NOP 投与量 (mg/kg 体重/日)					
		100		300		700	
		雄	雌	雄	雌	雄	雌
投与 1 日	T _{last} (h)	4	1	4	8	8	8
	T _{max} (h)	0.0833	0.0833	0.0833	0.25	0.5	0.5
	C _{max} (ng/mL)	28,000	37,400	70,800	83,900	195,000	315,000
	C _{max} /D (kg-ng/mL/mg)	280	374	236	280	279	450
	AUC ₀₋₄ (h-ng/mL)	3,040	NR	21,400	35,100	152,000	200,000
	AUC ₀₋₄ /D (h-kg-ng/mL/mg)	30.4	NR	71.2	117	217	285
	AUC _{last} (h-ng/mL/L)	3,040	5,060	21,400	35,400	152,000	200,000
	AUC _{last} /D (h-kg-ng/mL/mg)	30.4	50.6	71.2	118	217	286
	AUC _{inf} (h-ng/mL)	3,040	NR	21,400	35,400	152,000	200,000
	AUC _{inf} /D (h-kg-ng/mL/mg)	30.4	NR	71.3	118	217	286
	T _{1/2} (h)	0.814	NR	0.466	0.852	0.637	0.672
投与 28 日	T _{last} (h)	1	4	8	8	8	8
	T _{max} (h)	0.0833	0.0833	0.0833	0.0833	0.25	0.25
	C _{max} (ng/mL)	30,700	46,100	57,800	79,000	151,000	274,000

$C_{\max}/D$ (kg-ng/mL/mg)	307	461	193	263	216	391
AUC_{0-4} (h-ng/mL)	NR	5,330	16,000	24,500	66,300	117,000
AUC_{0-4}/D (h-kg-ng/mL/mg)	NR	53.3	53.3	81.7	94.7	168
AUC_{last} (h-ng/mL/L)	3,610	5,330	16,100	24,600	66,400	118,000
AUC_{last}/D (h-kg-ng/mL/mg)	36.1	53.3	53.5	82.0	94.9	168
$T_{1/2}$ (h)	NR	0.754	1.37	1.19	NR	NR

/D : 1 mg/kg に標準化された値

NR : データなし

(9) *in vitro* 培養試験 (牛)

① 牛第一胃液との嫌気性培養試験

牛第一胃液に ^{14}C 標識 3-NOP (2.2 又は 23 mg/L) を添加し、38℃、pH6.2、嫌気性条件下で 24 時間培養した。

培養液を遠心分離し、得られた不溶性画分には少量の未変化体 (それぞれ 5.5% 以下又は 7%) が含まれていた。可溶性画分では培養開始時に 100% であった 3-NOP (未変化体) の総放射活性に占める割合は、6 時間後には 54%、12 時間後には 6% に減少し、24 時間後にはそれぞれ 0 又は 0.1% 未満であった。また、 ^{13}C -NMR 及び ^1H -NMR を用いた分析では、3-NOP の総放射活性の減少に付随して、代謝物である M8 の濃度は 24 時間で 0% から 97% 以上又は 98.5% に増加した。対照群における 3-NOP から M8 へ代謝された割合は 9.8% であった。(参照 5)

② 牛第一胃液との培養試験

牛 (ホルスタイン種、3 歳、体重 422 ± 29.1 kg、雌 4 頭) から採取した第一胃液に、 ^{14}C 標識 3-NOP (1 mg/L) を添加し、39℃、各種条件下で 16 時間培養し、総放射活性を放射性-HPLC を用いて分析、測定した。

嫌気性条件下では、培養後の 3-NOP 濃度は 1.0% となった。主要な代謝物は M8 及び M14 であり、総放射活性に占める割合は M8 で 82.8%、M14 で 16.2% であった。

なお、好気性条件下の培養においても、M8、M14 及び 3-NOP がみられたが、3-NOP の放射活性は嫌気性条件下に比べ高かった。また、オートクレーブ処理した第一胃液では 3-NOP の分解はみられなかった。(参照 5、6、15)

(10) 体内動態試験 (牛)

牛 (ブリティッシュ・フリーシアン種等、2 歳～2 歳 11 か月、体重 428～548 kg、泌乳牛、4 頭) に [^{14}C] 標識 3-NOP を 8 日間強制経口投与 (1.8 g/頭/日 (0.9 g/頭を 1 日 2 回、計 15 回)) した。

初回投与前並びに初回及び最終投与後と殺までの 5 分～12 時間後 (計 8 回) に血液を、1 日 2 回投与前及び投与後 12 時間毎に乳を、初回投与前及び投与後 24 時間毎に糞便及び

尿を、それぞれ採取するとともに、最終投与 3、8、12、24 時間後に各 1 頭をと殺して、組織を採取し、総放射活性を測定した。また、呼気中の放射性物質の検出確認のために 3 回目及び最終投与後 10 分間の呼気を採取した。

総投与量のうち回収された放射活性の割合について、結果を表 15 に示した。

尿では 4.00%、糞便では 2.65%、乳では 16.82%、組織では 6.21%で、総回収率は 29.72%であった。他の放射活性は主に揮発性代謝物である $^{14}\text{CO}_2$ として呼気を通じて排出された。

血漿中の代謝物について、各測定時点での濃度を表 16 に示した。初回投与 1 時間後には未変化体は検出されず、M2 が検出されたが、時間の経過とともに消失した。また、初回投与 1 及び 12 時間後並びに最終投与 1 時間後に採取した血漿中に主に 3 成分の極性物質が検出された。

尿中からは、若干の 3-NOP が 1 例から検出されたが、大部分は代謝され、排泄されていた。

乳は乳脂肪・乳たん白質と水相に分離するが、投与 2 日後及び 6 日後に採取した乳の水相中から総回収量の 72.4~80.6%の放射性物質が回収され、極性代謝物である M13 と同定された。

肝臓においては、未変化体及び M2 は検出されず、グルコースが主要な代謝物であった。またその他に、2 つの代謝物が少量 (0.6~1.4%) 検出された。腎臓、筋肉及び脂肪においては、主要な代謝物は極性物質であり、TLC を用いた分析によりグルコースと考えられた。

組織中の未変化体及び M2 は、LOQ (21 μg 3-NOP 当量/kg) 未満であった。(参照 5、6、16)

表 15 牛における ^{14}C 標識 3-NOP 投与後の放射活性の回収率及び組織含有量

	組織含有量 (%)	と殺時の組織含有量 (mg 3-NOP 当量/kg)
尿	4.00±0.24	ND
糞便	2.65±0.19	ND
乳	16.82±3.14	19.93
ケージ	0.04±0.05	ND
胆汁	0.00±0.00	ND
肝臓	1.05±0.23	18.38
腎臓	0.06±0.01	7.46
脂肪	0.36±0.11	0.78
筋肉	4.10±0.69	1.76
小腸	0.03±0.01	ND
血液	ND	ND
(血漿)	0.61±0.09	4.49
総回収率	29.72	

ND : データなし

表 16 牛における ^{14}C 標識 3-NOP 投与後の血漿中代謝物等濃度 (μg 3-NOP 当量/kg)

	初回投与 1 時 間後 (n=4)	初回投与 12 時間後 (n=4)	最終投与 1 時 間後 (n=4)	最終投与 3 時間後 (n=1)	最終投与 8 時間後 (n=1)
未変化体	-	-	-	-	-
M2	104	93	65	-	-
未同定	654	247	565	306	355

<体内動態についてのまとめ>

3-NOP は動物体内に摂取されると、速やかに代謝され、約 1～2 時間後には未変化体は血漿中から検出されなくなる。

げっ歯類では、3-NOP は代謝により M2、M7 等を経て、大部分は CO_2 として呼気を通じて排泄され、残りは主に尿中に排泄される。

牛では、第一胃内の微生物のはたらきにより M8 に代謝される経路と、動物体内の酸化的反応により M2 に代謝される経路が考えられ、いずれも M7 等を経て、大部分は CO_2 として呼気を通じて排泄される。また、一部は M13 等の極性物質として取り込まれると考えられる。(図 2) M2 及び M8 から生成される M7 は脂肪酸であり、生体内に通常存在する化合物で、内在性の代謝経路に組み込まれる。また、M2 から M7 への加水分解により硝酸塩又は亜硝酸塩が遊離するが、3-NOP の牛への投与により、血漿中亜硝酸濃度に上昇はみられず、硝酸塩と亜硝酸塩を合計した血漿中濃度もごく微量な上昇しかみられなかった。(参照 4)

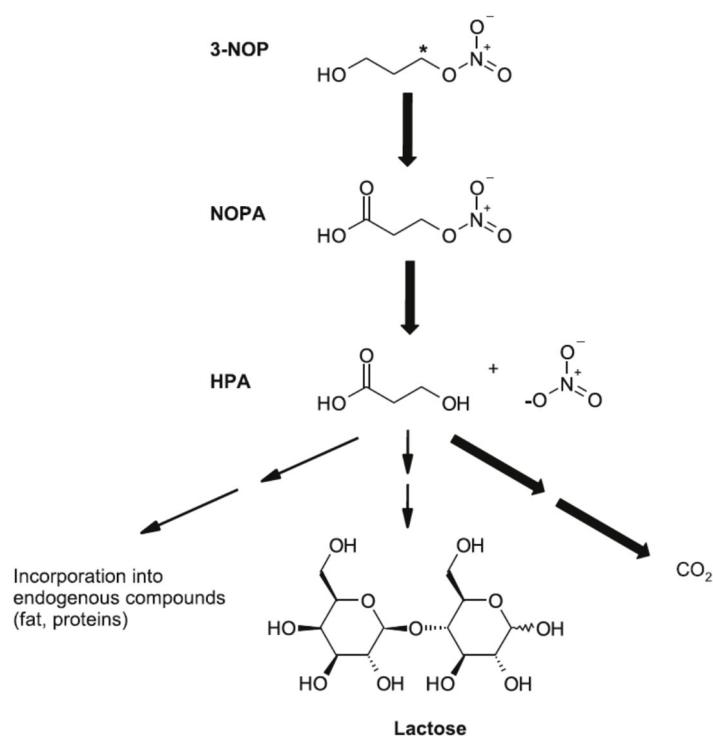


図 2 3-NOP の代謝経路 (参照 4)

2. 残留試験

(1) 残留試験（牛①、56 日間混餌投与）

牛（ホルスタイン・フリーシアン種、2～7 歳齢、体重 480～792 kg、泌乳牛、20 頭/群）に 3-NOP を 56 日間混餌投与（0、80、100、200 mg/kg 飼料）し、組織（肝臓、腎臓、筋肉（腰部）、脂肪）中及び乳中の M2 残留量を LC-MS/MS 法を用いて測定した。

測定したいずれの組織においても、M2 は LOQ（5.0 ng/g）未満であった。

乳中 M2 濃度の結果を表 17 に示した。

乳では、投与 2 日後以降に LOQ を超える M2 濃度が認められ、用量依存的に増加する傾向がみられたが、概ね LOQ 又は LOQ 付近の濃度で推移した。乳用牛に対する最大推奨添加量（予定）の 100 mg/kg 飼料投与群では、投与 22 日に乳中 M2 濃度が 1.17 ng/mL と最大を示した。（参照 5、6、17）

表 17 牛における乳中 M2 濃度（ng/mL）

投与量 (mg/kg 飼料)	投与日（日）									
	投与前	2	8	15	22	29	36	43	50	56
0	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
80	<LOQ	1.04	<LOQ	<LOQ	<LOQ	1.02	1.12	<LOQ	<LOQ	1.04
100	<LOQ	1.00	<LOQ	1.13	1.17	1.06	1.12	1.06	1.10	1.10
200	<LOQ	1.23	1.05	1.32	1.54	1.27	1.41	1.45	1.54	1.23

LOQ : 1.0 ng/mL

(2) 残留試験（牛②、90 日間混餌投与）

牛（ホルスタイン・フリーシアン種、3～6 歳齢、体重 485～746 kg、泌乳牛、4 頭/群）に 3-NOP を 90 日間混餌投与（0、100、500、1,000 mg/kg 飼料）し、組織中（肝臓、腎臓、筋肉（腰部）、大網脂肪、腎周囲脂肪：0 及び 1,000 mg/kg 飼料群のみ）及び乳中の M2 残留量を LC-MS/MS 法を用いて測定した。

投与終了後に採取した 1,000 mg/kg 飼料投与群のいずれの組織においても M2 は LOQ（5.0 ng/g）未満であった。

乳中 M2 濃度の結果を表 18 に示した。

乳では、3-NOP 投与後に M2 の残留が認められ、個体による変動はあるものの、用量依存的及び経時的に増加する傾向がみられた。乳用牛に対する最大推奨添加量（予定）の 100 mg/kg 飼料投与群では、投与 30 日後の午後に乳中 M2 濃度が 10.2 ng/g と最大を示した。（参照 6、18）

表 18 牛における乳中 M2 濃度 (ng/g)

投与群 (mg/kg 飼料)	個 体 番 号	試料採取日									
		投与 7 日前		投与 2 日後		投与 8 日後		投与 30 日後		投与 90 日後	
		午前	午後	午前	午後	午前	午後	午前	午後	午前	午後
0	9	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	1.73	<LOQ	<LOQ
	11	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	1.75
	12	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	3.18	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
	20	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
100	8	<LOQ	<LOQ	<LOQ	1.82	<LOQ	2.40	<LOQ	6.57	<LOQ	3.06
	14	<LOQ	<LOQ	<LOQ	3.50	<LOQ	3.38	<LOQ	10.2	<LOQ	3.59
	16	<LOQ	<LOQ	<LOQ	2.07	<LOQ	3.48	<LOQ	5.78	1.21	8.58
	18	<LOQ	<LOQ	<LOQ	3.31	<LOQ	5.39	<LOQ	3.59	<LOQ	3.41
500	2	<LOQ	<LOQ	3.53	7.4	1.95	9.06	<LOQ	27.8	<LOQ	32.2
	3	<LOQ	<LOQ	1.45	1.76	<LOQ	14.3	<LOQ	4.26	3.73	15
	6	<LOQ	<LOQ	<LOQ	10.9	1.11	39.2	<LOQ	42.6	<LOQ	52.1
	15	<LOQ	<LOQ	4.43	27	<LOQ	<LOQ	NS	NS	NS	NS
1,000	1	<LOQ	<LOQ	8.43	<LOQ	7.83	78.7	NS	NS	NS	NS
	13	<LOQ	<LOQ	10.8	8.14	3.14	20.1	12.4	6.45	7.2	10.7
	17	<LOQ	<LOQ	6.11	3.15	<LOQ	55	3.94	88.1	4.99	83.8
	19	<LOQ	<LOQ	7.97	108	<LOQ	146	10.7	41	19.7	23.1

LOQ : 1.0 ng/g

NS : 試料採取できず

3. 遺伝毒性試験

3-NOP の遺伝毒性試験結果を表 19 に示した。

また、3-NOP の代謝物である NOPA の遺伝毒性試験結果を表 20 に示した。

表 19 3-NOP の遺伝毒性試験結果

試験名	試験系	用量	結果	参照
<i>in vitro</i> 復帰突然 変異試験	<i>Salmonella typhimurium</i> TA98、TA100、 TA1535、TA1537、 <i>Escherichia coli</i> WP2uvrA	1.7、5.4、17、52、164、512、 1,600、5,000 µg/plate (±5% S9) ; TA100、WP2uvrA 52、164、512、1,600、5,000 µg/plate (±5% S9) ; TA1535、 TA1537、TA98 52、164、512、1,600、5,000 µg/plate (±10% S9) ; 全 5 菌株	陰性	5、19
	<i>S. typhimurium</i> TA98、TA100、 TA1535、TA1537、	1.7、5.4、17、52、164、512、 1,600、5,000 µg/plate (±5% S9) ;	陰性	20

		<i>E. coli</i> WP2 <i>uvrA</i>	TA100、WP2 <i>uvrA</i> 52、164、512、1,600、5,000 µg/plate (±5% S9) ; TA1535、 TA1537、TA98 492、878、1,568、2,800、5,000 µg/plate (±10% S9) ; 全 5 菌株		
		<i>S. typhimurium</i> TA98、TA100、 TA102、TA1535、 TA1537	1.6~500 µg/plate (±S9、 microsuspension 法 ^{a)})	陰性	5
	遺伝子突 然変異試 験	マウスリンパ腫細胞 (L5178Y TK ^{+/+})	0.55、1.7、5.4、17、52、164、 512、1,211 µg/mL : 3 時間処理 (± S9) 又は 24 時間処理 (-S9)	陰性	5、21
	形質転換 試験	シリアンハムスター 胎児細胞	500~2,500 µg/mL : 7 日間処理	陰性	5
	小核試験	ヒト末梢血リンパ球	164、512、1,211 µg/mL 3 時間処理、処理後 24 時間培養 (± S9)、 24 時間処理 (-S9)	陰性	5、22
		ヒトリンパ芽球細胞 (TK6)	1,220 µg/mL まで (-S9)、 1,000 µg/mL まで (+S9) ^b : 3 時間処理、処理後 27 時間培養 (± S9)、 27 時間処理、処理後 27 時間培養 (- S9)	陽性	5
		チャイニーズハムス ター細胞 (V79)	1,243 µg/mL まで (-S9) : 24 時間処 理 310 µg/mL まで (+S9) : 4 時間処理、 処理後 20 時間培養	陽性 (+S9)	5
		チャイニーズハムス ター細胞 (V79)	300~600 µg/mL (+S9) : 3 時間処 理、処理後 21 時間培養	陽性 ^c	5
<i>in vivo</i>	小核試験	NMRI マウス (骨髓 細胞)	250、500 mg/kg 体重、腹腔内投与 : 投与 24 時間後に試料採取 1,000 mg/kg 体重、腹腔内投与 : 投与 24、48 時間後に試料採取	陰性	5
		Wistar Han 雌雄ラッ ト (骨髓細胞)	375、750 mg/kg 体重 (強制経口投 与) : 投与 24 時間後に試料採取 1,500 mg/kg 体重 (強制経口投与) : 投与 24 及び 48 時間後に試料採取	陰性	5、23

±S9 : 代謝活性系存在下及び非存在下

a : 標準法では 16~5,000 µg/plate に相当

b : 54%細胞毒性

c : CREST 染色を実施し、540 µg/mL で 79%が染色体断片による小核であったことから構造異常を誘発することを確認

表 20 NOPA の遺伝毒性試験結果

試験名		試験系	用量	結果	参照
in vitro	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> TA98、TA100、TA1535、TA1537、 <i>E. coli</i> WP2uvrA	3、10、33、100、333、1,000、2,500、5,000 µg/plate (±S9)	陽性 (TA100 及び TA1535 (±S9))	5
	小核試験	ヒト末梢血リンパ球	229～1,321 µg/mL : 4 時間処理、処理後 20 時間培養 (±S9)、24 時間処理 (-S9)	陰性	5
in vivo	トランスジェニックげっ歯類遺伝子突然変異試験	Fischer 344 Big Blue® ラット雌雄 (肝臓及び十二指腸、 <i>cII</i> 遺伝子)	雄 : 150、300、600 mg/kg 体重/日 (28 日間強制経口投与) : 試験開始 56 日目に試料採取 雌 : 250、500、1,000 mg/kg 体重/日 (28 日間経口投与) : 試験開始 31 日目に試料採取	陰性	5
	小核試験	Fischer 344 Big Blue® ラット雌雄 (末梢血網状赤血球)	雌雄ともに上記動物を使用 : 試験開始 4 及び 29 日目に試料採取	陰性	5

±S9 : 代謝活性系存在下及び非存在下

3-NOP は、*in vitro* の復帰突然変異試験、マウスリンパ腫細胞を用いた遺伝子突然変異試験及びシリアンハムスター胎児細胞を用いた形質転換試験はいずれも陰性であり、ヒト末梢血リンパ球を用いた小核試験においても陰性であったが、ヒトリンパ芽球細胞及びチャイニーズハムスター細胞を用いた小核試験では陽性を示した。マウス及びラットを用いた *in vivo* の小核試験はいずれも陰性であった。

NOPA は、*in vitro* の復帰突然変異試験において、TA100 及び TA1535 株で陽性であったが、ヒト末梢血リンパ球を用いた小核試験は陰性であり、*in vivo* のトランスジェニックラットを用いた遺伝子突然変異試験及び小核試験はいずれも陰性であった。

これらのことから、食品安全委員会は、3-NOP は *in vitro* の小核試験の結果が陽性であったが、*in vivo* の小核試験を含むその他の全ての試験の結果がいずれも陰性であったことから、生体にとって問題となる遺伝毒性はないと判断した。また、代謝物である NOPA についても、*in vitro* の復帰突然変異試験の結果が陽性であったが、*in vivo* の遺伝子突然変異試験を含むその他の全ての試験の結果がいずれも陰性であったことから、生体にとって問題となる遺伝毒性はないと判断した。

4. 急性毒性試験

3-NOP の急性毒性試験結果を表 21 に示した。

表 21 3-NOP の急性毒性試験結果

動物種	性別	投与経路	LD ₅₀	参照
ラット (Wistar 系)	雌 6 匹/群	経口	300～2,000 mg/kg 体重	6、24

5. 亜急性毒性試験

(1) 28 日間亜急性毒性試験（マウス、強制経口投与）

マウス（CByB6F1 Hybrid 系、7～8 週齢、雌雄各 10 匹/群）に 3-NOP を 28 日間強制経口投与（0、100、300、700 mg/kg 体重/日）し、投与期間中の一般状態の観察、体重及び摂餌量の測定、血液学的及び血液生化学的検査並びに投与終了後に病理学的及び病理組織学的検査を行った。

毒性所見を表 22 に示した。

投与期間を通して死亡例はなかった。全ての投与群において体重及び体重増加量に投与による影響はなかった。700 mg/kg 体重/日投与群の雄では、対照群と比較して平均総摂餌量が 6%減少したが、これは主に投与 1 週目にみられた摂餌量の顕著な差に起因し、一時的な変化であったことから、毒性影響ではないと考えられた。300 mg/kg 体重/日投与群の雄及び 700 mg/kg 体重/日投与群の雌雄では投与後に一過性の異常摂餌、過剰な唾液分泌及びペダリングがみられ、これらの発現は毒性所見とはみなさないものの、投与の影響が考えられた。

血液学的検査では、700 mg/kg 体重/日投与群の雄で MCH の有意な高値、700 mg/kg 体重/日投与群の雌で RBC 及び Hb の有意な高値、並びに 300 及び 700 mg/kg 体重/日投与群の雄並びに全ての投与群の雌で MCV の有意な低値がみられたが、いずれの変化もごくわずかであることから、毒性所見としなかった。

血液生化学的検査では、700 mg/kg 体重/日投与群の雌雄で Na 及び尿素の有意な低値、同群の雌で ALP の有意な低値、総コレステロール、総たん白及びアルブミンの有意な高値、雄で Cl 及びクレアチニンの有意な低値並びに総ビリルビン及び A/G 比の有意な高値、300 及び 700 mg/kg 体重/日投与群の雌で K の有意な高値及び P の有意な低値、雄で TG の有意な低値、また全ての投与群の雄で ALT の有意な低値がみられた。これらの値の変動はわずかであり、関連する病理組織学的所見等が得られていないことから、毒性影響ではないと考えられた。

臓器重量について、700 mg/kg 体重/日投与群の雄で腎臓の相対重量が 7.1%増加、肝臓の相対重量が 5.4%減少、胸腺の絶対重量が 21.9%減少、相対重量が 21.5%減少し、有意な差がみられたが、各臓器の重量変化に関連する病理組織学的所見等はみられなかったことから、毒性影響ではないと考えられた。

病理組織学的検査では、700 mg/kg 体重/日投与群の雄で軽度の眼の横紋筋の炎症や副腎皮質の空胞化がみられたが、いずれも偶発的なもので毒性影響ではないと考えられた。（参照 5、6、14）

食品安全委員会は、700 mg/kg 体重/日投与群の雌雄における部分的閉瞼、立毛、不規則な呼吸等の一般状態の所見から本試験における NOAEL を 300 mg/kg 体重/日と判断した。

表 22 マウスの 28 日間亜急性毒性試験における毒性所見

投与量（mg/kg 体重/日）	主要な毒性所見	
	雄	雌
700	部分的閉瞼、立毛、不規則な呼吸、	部分的閉瞼、立毛、不規則な呼吸、活動

	呼吸数減少、活動減少、猫背歩行、冷感	減少、猫背歩行
300 以下	毒性所見なし	毒性所見なし

(2) 90 日間亜急性毒性試験（ラット、強制経口投与）

ラット（Wistar Han 系、6 週齢、雌雄各 15 匹/群）に 3-NOP を 90 日間強制経口投与（0、50、100、300 mg/kg 体重/日）した。また、対照群及び 300 mg/kg 体重/日投与群では 90 日間経口投与終了後 13 週間の回復試験群（雌雄各 5 匹/群）を別途設けた。試験期間中に一般状態の観察並びに体重及び摂餌量の測定、投与開始前及び投与期間中に眼科検査、試験期間中に尿検査、ホルモン分析（雄のみ）及び血液生化学的検査並びに投与終了後又は回復期間終了後に病理学的及び病理組織学的検査を行った。

毒性所見を表 23 に示した。

300 mg/kg 体重/日投与後の回復試験群の雄 1 例を除き、試験期間を通して死亡はみられなかった。なお、回復試験 5 週目で試験から除外した 1 例については、慢性進行性腎症や腎リンパ節の形質細胞症が認められ、それらが死因であると考えられたが、当該個体のみでみられたものであることから、被験物質投与に関連したものではないと考えられた。また、体重、摂餌量等に被験物質投与による異常はみられなかった。なお、300 mg/kg 体重/日投与群の雄で体重の有意な低値がみられたが、後述の臓器重量の減少の影響と思われる、毒性影響とは考えられなかった。

尿検査では、300 mg/kg 体重/日投与群の雄でケトンのわずかな高値がみられたが、変動は正常範囲内に留まっていたため、毒性影響ではないと考えられた。

血液学的検査では、300 mg/kg 体重/日投与群の雌で単球数の有意な高値、雄で単球数の有意な低値がみられたが、関連する炎症等の所見がないことから、毒性影響ではないと考えられた。

血液生化学的検査では、300 mg/kg 体重/日投与群の雌で K 及び Ca 並びに総たん白の有意な高値、雄で胆汁酸の有意な高値及び総ビリルビンの有意な低値、50 及び 300 mg/kg 体重/日投与群の雄でクレアチニンの有意な高値がみられたが、一過性の変動であること又は用量相関性が片性しかみられないことから、毒性影響ではないと考えられた。

臓器重量について、精巣及び精巣上体における変化の他、300 mg/kg 体重/日投与群の雄では脳、肺、腎臓及び精囊の絶対重量の有意な減少がみられた。精巣及び精巣上体以外の変動については、相対重量の変動や関連する病理組織学的所見等を伴っていないことから偶発的なものであり、毒性影響ではないと考えられた。

ホルモン分析では、300 mg/kg 体重/日投与群の雄で血中 FSH 濃度のわずかな上昇がみられたが、背景データの範囲内であることから毒性学的に意味のある変化ではないと考えられた⁷。（参照 5、6、25）

食品安全委員会は、300 mg/kg 体重/日投与群の雄における精巣及び精巣上体の絶対及び相対重量の減少並びに精子数の減少、並びに精子の運動性の低下の所見から、本試験における NOAEL を雄では 100 mg/kg 体重/日、雌では最高用量である 300 mg/kg 体重/日と判

⁷ 参考的に実施した統計学的解析でも、有意差はなかった。

断した。

表 23 ラットの 90 日間亜急性毒性試験における毒性所見

投与量 (mg/kg 体重/日)	主要な毒性所見	
	雄	雌
300	精巣の絶対及び相対重量の減少並びに精細管変性/萎縮、 精巣の空胞化及び多核巨細胞形成、精巣の精子減少、運動 精子割合及び前進精子割合の低下、精巣上体の絶対及び相 対重量の減少並びに精子数減少、並びに精巣上体における 細胞崩壊物 (回復期間終了後も精巣及び精巣上体の絶対及び相対重 量の減少、精子の運動性低下及び精子数減少)	毒性所見なし
100 以下	毒性所見なし	毒性所見なし

(3) 90 日間亜急性毒性試験 (イヌ、強制経口投与)

イヌ (ビーグル種、6 週齢、雌雄各 4 匹/群) に 3-NOP を 90 日間強制経口投与 (0、10、30、100、300 (150×2 回) mg/kg 体重/日) した後、4 週間の回復期間を設け、一般状態の観察、体重及び摂餌量の測定、血液学的検査及び血液生化学的検査、尿検査、臓器重量の測定、精子検査、眼科検査並びに病理学的及び病理組織学的検査を行った。

300 mg/kg 体重/日投与群の雌の 1 匹で、歩行異常、脱力、振戦、反復性の意識障害を伴う痙攣等の症状があったため、投与開始後 3 週間で剖検した。当該個体では、原因は不明ながら、血漿中 M2 濃度が高く、投与後の濃度減少が極めて緩徐であった。3-NOP 投与群のその他の個体については、雌雄ともにいずれの検査においても毒性影響は認められなかった。(参照 5)

食品安全委員会は、300 mg/kg 体重/日投与群の雌にみられた臨床症状は、ビーグル種で自然発生するとの報告があるてんかんの可能性も考えられたが、毒性影響でないことが否定できないため、本試験における NOAEL を雄では最高用量である 300 mg/kg 体重/日、雌では 100 mg/kg 体重/日と判断した。

6. 慢性毒性及び発がん性試験

(1) 52 週間慢性毒性試験 (ラット、強制経口投与)

ラット (Wistar Han 系、6 週齢、雌雄各 20 匹⁸/群) に 3-NOP を 52 週間強制経口投与 (雄 : 0、25、50、100、300 mg/kg 体重/日、雌 : 0、50、100、600 mg/kg 体重/日) し、一般状態の観察、体重及び摂餌量の測定、眼科検査、尿検査、血液学的及び血液生化学検査並びに病理学的及び病理組織学的検査を行った。

毒性所見を表 24 に示した。

⁸ 100 及び 600 mg/kg 体重/日投与群の雌並びに 300 mg/kg 体重/日投与群の雄のそれぞれ 1 例で、強制経口投与時の事故、自発的事象とみなされる瀕死又は喉の腫脹が観察されたため、試験から除外 (と殺) した。

一般状態、体重、摂餌量及び眼科検査に被験物質投与に関連した異常はみられなかった。

血液学的及び血液生化学的検査では、対照群と比較して、100 mg/kg 体重/日投与群の雄でプロトンビン時間の有意な低値、尿素、並びに Na 及び Cl の有意な高値、雌で WBC の有意な低値及び好酸球の有意な高値、600 mg/kg 体重/日の雌で AST の有意な低値並びに TG、P 及び Ca の有意な高値、100 mg/kg 体重/日の雌で総ビリルビンの有意な低値及びクレアチニンの有意な高値等がみられた。これらの所見について、変動には用量相関性がなく、正常範囲内に留まっていることから、毒性影響ではないと考えられた。

尿検査では、300 mg/kg 体重/日投与群の雄並びに 100 及び 600 mg/kg 体重/日投与群の雌で、平均尿 pH が対照群と比較して有意に低値であったが、変動は正常範囲内に留まり、関連する所見がないことから、毒性影響ではないと考えられた。

病理学的及び病理組織学的検査では、600 mg/kg 体重投与群の雌の約半数及び 100 mg/kg 体重投与群の雌 1 例で、肝臓重量がわずかに増加し、肝細胞の細胞質に好酸球性封入体がみられたが、変性及び炎症性の変化を伴わず、変化の程度は微小であることから毒性所見としなかった。(参照 5、6、11)

食品安全委員会は、300 mg/kg 体重/日投与群の雄における精巣の萎縮とそれに伴う精巣上体の変化、総精子数の減少、精子の運動性の低下等から、本試験における NOAEL を雄では 100 mg/kg 体重/日、雌では最高用量である 600 mg/kg 体重/日と判断した。

表 24 ラットの 52 週間慢性毒性試験における毒性所見

投与量 (mg/kg 体重/日)	主要な毒性所見	
	雄	雌
600		毒性所見なし
300	精巣及び精巣上体の絶対及び相対重量の減少、精細管の変性/萎縮（中等度～非常に高度、巨細胞形成を伴う）並びに精巣上体管腔内の精子数減少、運動精子割合及び前進運動精子割合の低下並びに精巣及び精巣上体の総精子数の減少	
100 以下	毒性所見なし	毒性所見なし

注：斜線は投与群の設定なし

（２）104 週間慢性毒性及び発がん性試験（ラット、強制経口投与）

ラット（Wistar Han 系、7 週齢、雌雄各 50 匹/群）に 3-NOP を 104 週間強制経口投与（雄：0、25、50、100 mg/kg 体重/日、雌：0、50、100、300 mg/kg 体重/日）し、一般状態の観察、体重及び摂餌量の測定、尿検査、血液生化学検査並びに病理学的及び病理組織学的検査を行った。

毒性所見を表 25 に示した。

試験期間中の死亡は、対照群を含む全群において、雄で 14～26%、雌で 20～30%であったが、対照群との統計学的有意差や用量相関性はなかった。

一般状態、体重、摂餌量、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査及び器官重量に被

験物質投与に関連した毒性影響はみられなかった。

300 mg/kg 体重/日投与群の雌の肝臓で、軽微から軽度な好酸性細胞質封入体が観察されたが、重症度は最小限であり、肝臓に変性、炎症又は細胞増殖を伴っていないことから、毒性影響ではないと考えた。

300 mg/kg 体重/日投与群の雌で十二指腸・空腸に間葉系腫瘍が 3 例⁹みられた。当該腫瘍は、組織学的に良性消化管間葉系腫瘍と診断され、発生個体は 104 週間の投与期間終了まで生存した。

その他、50 及び 100 mg/kg 体重/日投与群の雌各 1 例において、十二指腸・空腸に間葉系腫瘍がみられたが、背景データの範囲内であることから、毒性影響ではないと考えた。300 mg/kg 体重/日投与群の雌 2 例及び 100 mg/kg 体重/日投与群の雄 2 例にみられた間葉系細胞過形成については、腫瘍形成に関連する変化と考えられず、発生頻度に統計学的有意差も確認できないことから、投与による毒性影響と判断しなかった。(参照 5、6、12)

食品安全委員会は、本試験における NOAEL を雄では最高用量である 100 mg/kg 体重/日、雌では 300 mg/kg 体重投与群における消化管での腫瘍性変化から 100 mg/kg 体重/日と判断した。

表 25 ラットの 104 週間慢性毒性及び発がん性試験における毒性所見

投与量 (mg/kg 体重/日)	主要な毒性所見	
	雄	雌
300		十二指腸・空腸の良性間葉系腫瘍
100 以下	毒性所見なし	毒性所見なし

7. 生殖発生毒性試験

(1) 反復投与毒性試験と生殖発生毒性スクリーニング試験の併合試験（ラット、強制経口投与）

ラット（Wistar Han 系、11 週齢、雌雄各 10 匹/群）に 3-NOP を強制経口投与（0、20、100、500 mg/kg 体重/日）した。被験物質の投与は、雄では交配開始前 14 日間を含む 29 日間、雌は交配開始前 14 日間、交配中、妊娠中及び哺育 4 日間を含む 42～52 日間を通して行った。一般状態の観察、体重及び摂餌量の測定、繁殖能の観察、血液学的及び血液生化学的検査並びに病理学的検査を実施した。

一般状態、体重、摂餌量、血液学的及び血液生化学的検査の結果について、最高用量の 500 mg/kg 体重/日投与群まで投与の影響はみられなかった。一方で、病理学的検査では、500 mg/kg 体重/日投与群の雄で精細胞の巨大化、精細管変性並びに生殖細胞の減少及び変性がみられた。また、精巣上体における精細管内の細胞崩壊物及び精子数の減少、精巣及び精巣上体の絶対及び相対重量の減少並びに形態異常がみられた。なお、500 mg/kg 体重/日投与群の雄で肝臓の絶対及び相対重量の減少、500 mg/kg 体重/日投与群の雌で胸腺及び卵巣の絶対及び相対重量の増加がみられたが、病理組織学的変化を伴っていないため毒

⁹ 本評価では、十二指腸・空腸にみられた間葉系細胞を起源とする過形成及び腫瘍について、病理の再解析を依頼した専門機関の結果を採用した。

性変化ではないと考えられた。

500 mg/kg 体重/日投与群の雌では、交尾は確認されたが、いずれの個体も妊娠せず、黄体及び着床痕もみられなかった。他の用量投与群では交尾率、黄体数、着床数等は正常であった。

100 mg/kg 体重/日までの投与群では、発生毒性の指標である、母動物の妊娠期間、分娩及び哺育行動並びに児動物の生存率、発育、体重及び肉眼的所見に異常はみられなかった。

(参照 5、26)

食品安全委員会は、500 mg/kg 体重/日投与群における雄の精巣及び精巣上体への影響並びに 500 mg/kg 体重/日投与群で妊娠例がないことから、本試験における親動物の NOAEL を 100 mg/kg 体重/日と判断した。発生毒性に関しては、最高用量の 500 mg/kg 体重/日投与群において雌が児動物を分娩しなかったため、影響量の評価はできなかった。

(2) 2 世代繁殖毒性試験 (ラット、強制経口投与)

ラット (Wistar Han 系、5 週齢、雌雄各 24 匹/群) に 3-NOP を強制経口投与 (雄 : 0、25、50、100 mg/kg 体重/日、雌 : 0、25、50、100 mg/kg 体重/日) した。被験物質の投与は、雄では交配開始 71 日前から交配期 (最長 21 日) までの期間、雌では交配開始 71 日前、交配期 (最長 21 日)、妊娠期 (21 日) 及び哺育期 (21 日) を通して行った。また、雌では出生率を確認するため、600 mg/kg 体重/日投与群 (10 匹/群) を別途設け、交配開始 14 日前、交配期 (最長 21 日、0 mg/kg 体重/日投与群の雄と交配)、妊娠期 (21 日) 及び哺育期 (21 日) を通して経口投与した。

親動物 (P) 世代及び児動物 (F₁ 及び F₂) 世代について、一般状態の観察、体重及び摂餌量の測定、繁殖能の観察並びに病理学的及び病理組織学的検査を実施した。

P 及び F₁ 世代においてそれぞれ 5 及び 1 匹の死亡があったがいずれも偶発的なものであり、被験物質投与の影響に関連したものではなかった。

P 及び F₁ 世代の親動物の一般状態、各種臨床所見、繁殖能 (交尾率、妊娠率、出産率、妊娠期間及び産児数、生存率、児動物の発育等) には、100 mg/kg 体重/日までのいずれの投与群にも被験物質投与に関連する毒性影響はみられなかった。600 mg/kg 体重/日投与群の P 世代の親動物では、雌 3 例に投与開始 1~2 日後に傾眠、平伏姿勢、非協調運動及び立毛がみられたが、その後 1 匹を除いて回復した。また、同群では投与開始 1 週間以内に被験物質投与に関連した体重減少がみられたが、繁殖能を含むその他の指標には被験物質投与に関連する毒性影響はみられなかった。

F₁ 世代の児動物 (F₂) の脾臓では、25 mg/kg 体重/日投与群の雄の絶対及び相対重量、50 mg/kg 体重/日投与群の雌雄の絶対重量並びに 100 mg/kg 体重/日投与群の雌雄の絶対及び相対重量に対照群と比較して有意な減少したが、形態学的変化が観察されなかったため、有害影響ではないと考えられた。(参照 5、6、27)

食品安全委員会は、100 mg/kg 体重/日までの投与群の親動物及び児動物の一般状態、各種臨床所見及び繁殖能に被験物質投与に関連した毒性影響がみられなかったことから、本試験における親動物及び児動物の NOAEL を最高用量である 100 mg/kg 体重/日と判断した。

（３）発生毒性試験（ラット、強制経口投与）

ラット（Wistar Han系、5～10週齢、雌22匹/群）に3-NOPを妊娠6～20日の間、強制経口投与（0、100、300、1,000 mg/kg体重/日）し、妊娠20日目に剖検した。

毒性所見を表 26 に示した。

試験期間を通して死亡例は無かった。

いずれの投与群においても、交尾した全ての個体（親動物）で妊娠が成立し、黄体数、着床部位、生存率及び死亡児動物数並びに児動物の体重に被験物質投与に関連した毒性影響はみられなかった。

児動物では、外表奇形として、100 mg/kg 体重/日投与群の雌で四肢の異常回転、1,000 mg/kg 体重/日投与群の雄で四肢の異常回転、臍帯ヘルニア及び無脳症がみられた。また、骨格奇形として、100 mg/kg 体重/日投与群の雄で肋骨異常、1,000 mg/kg 体重/日投与群の雌雄で一部に肋骨異常を伴発する椎骨異常、1,000 mg/kg 体重/日投与群の雄で胸骨裂がみられるとともに、変異所見として、1,000 mg/kg 体重/日投与群で、頸部過剰肋骨（第 7 頸椎、痕跡状肥大）の発生率が対照群と比較して上昇していた。これらのうち、奇形所見については単一の発生であることから偶発的な所見であり、変異所見である頸部過剰肋骨の発生率の上昇については関連する骨格に変化がみられないことから、毒性影響ではないと考えられた。いずれの投与群においても軟部組織の異常はみられなかった。（参照 5、6、28）

食品安全委員会は、親動物における一般状態等への影響から、本試験における親動物の NOAEL を 300 mg/kg 体重/日と判断した。また、本試験における児動物の NOAEL を最高用量である 1,000 mg/kg 体重/日と判断した。催奇形性は認められなかった。

表 26 ラットの発生毒性試験における毒性所見

投与量（mg/kg 体重/日）	主要な毒性所見	
	親動物	児動物
1,000	傾眠、平伏姿勢、円背位姿勢、非協調運動及び立毛、体重の低値、摂餌量の低値、体重増加量の抑制	毒性所見なし
300 以下	毒性所見なし	毒性所見なし

（４）発生毒性試験（ウサギ、強制経口投与）

ウサギ（ニュージーランドホワイト種、15～17 週齢、雌 22 匹/群）に 3-NOP を妊娠 6～29 日の間、強制経口投与（0、50、150、450 mg/kg 体重/日）し、妊娠 29 日に剖検した。

試験期間を通し、各投与群で 1～2 例の死亡例、切迫殺例及び流産例がみられたが、用量依存性はみられず、被験動物でみられる一般的な死亡数の範囲内であった。

母動物について、対照群並びに 150 及び 450 mg/kg 体重/日投与群で 1 例、50 mg/kg 体重/日投与群で 2 例の妊娠不成立があった。また、150 mg/kg 体重/日投与群では母動物あたりの着床部位が対照群と比較して有意に低かった。これらの所見は用量依存的な傾向がみられないことから、毒性影響ではないと考えられた。

児動物では、外表奇形として、対照群で眼瞼開存、50 mg/kg 体重/日投与群で臍帯ヘルニア、150 mg/kg 体重/日投与群で上顎低形成、450 mg/kg 体重/日投与群で手根及び足根の過屈曲がみられた。児動物の軟部組織では、50 及び 150 mg/kg 体重/日投与群のそれぞれ 1 腹の胎児で肝臓の分葉異常がみられ、正中葉間裂に大きな過剰葉があり、内側肝葉の変形がみられた。また、150 mg/kg 体重/日投与群の 1 腹の同腹児で水頭症、眼の形態異常、ファロー四徴症¹⁰及び大血管転換がみられた。対照群及び 450 mg/kg 体重/日投与群では肺動脈幹狭窄、大動脈弓拡張及び心室中隔欠損がみられた。150 mg/kg 体重/日投与群では腹水がみられた他、対照群でも軟部組織異常がみられた。また、児動物の骨格について、450 mg/kg 体重/日投与群では胸骨分節癒合及び胸骨配列異常並びに尾椎異常がみられた。外表の形態異常は偶発的な発生とみなされ、軟部組織異常については同腹児に発生が限られていること及び対照群でもみられていることから、骨格異常は試験動物の背景データの範囲内であることから、それぞれ毒性影響ではないと考えられた。(参照 5、6、29)

食品安全委員会は、本試験における親動物及び児動物の NOAEL を最高用量である 450 mg/kg 体重/日と判断した。また、催奇形性は認められなかった。

(5) 精巣毒性試験 (ラット、3-NOP、NOPA、HPA)

ラット (Wistar Han 系、12~13 週齢、雄 5 匹/群) に 3-NOP を 10 日間強制経口投与 (0、800 mg/kg 体重/日、投与開始日のみ 1,000 mg/kg 体重/日) した。また、代謝物である NOPA 及び HPA を投与する群として、NOPA を 10 日間静脈内投与 (425 mg/kg 体重/日)、HPA を 3 日間静脈投与 (250 mg/kg 体重/日 (投与開始 1 及び 2 日のみ 350 mg/kg 体重/日)) 又は 10 日間皮下投与 (350 mg/kg 体重/日) した。投与終了後に、精巣及び精巣上体を採取し、病理組織学的検査を実施した。

3-NOP 投与による精巣における生殖細胞変性/消失、遺残小体の欠如、精細管上皮空胞化及び精巣上体における細胞崩壊物並びに精子減少は、NOPA 投与群でも同様にみられたが、HPA 投与群ではみられなかった。なお、NOPA 及び HPA の投与経路は 3-NOP と異なるものの、体内動態パラメータの確認から、その同等性が確認されている。(参照 5、6、13)

食品安全委員会は、被験物質投与による毒性影響は、3-NOP 及び NOPA で認められるが、HPA では認められないと考えた。また、3-NOP の体内動態試験の結果から、3-NOP は体内で速やかに代謝されるため、究極毒性物質¹¹は NOPA である可能性が考えられた。

(6) 各動物種における NOPA の精巣毒性比較試験 <参考資料¹²>

ラット (Wistar Han 系、22 日齢、雄)、イヌ (ビーグル種、7.5 か月齢、雄) 及びサル (カニクイザル、3.5 才齢、雄) の精巣由来組織・細胞を 3 次元培養し、NOPA を添加後、FACS¹³を用いた体細胞、精原細胞、精母細胞、円形精子細胞、精子数の測定及び細胞生存

¹⁰ 心室中隔欠損、肺動脈狭窄、大動脈騎乗、右心室肥大の 4 つの特徴をもった先天性心疾患のこと。

¹¹ 内因性の標的分子と反応することで、毒性を引き起こす化学種のこと。

¹² 投与経路が非経口であるため、参考資料とした。

¹³ 蛍光標識を施した細胞サイズの粒子 1 つ 1 つから、大きさ等の形態情報や様々な種類の蛍光強度等のデータを取得可能な機器。

率の算出並びに遺伝子チップアレイを用いた遺伝子発現（トランスクリプトーム）解析を実施した。

① FACS 解析

NOPA の添加による生殖細胞（精原細胞、精母細胞等）に対する影響について、生殖細胞数はラット、イヌ及びサルで減少する傾向がみられた。一方で、体細胞（主にセロトリ細胞）に対する影響は動物種によって異なり、体細胞数はラットでは増加したが、イヌでは影響はみられず、サルでは減少した。ラットでみられた体細胞の増加（過形成）は、血液精巣関門の障害が一因とされていることから、血液精巣関門の障害により減数分裂も低下している可能性があるとして報告された。

このことから、NOPA による精巣への影響は動物種で異なるものの、生殖細胞の増殖及び生存に影響を与え、減数分裂を低下させることが示唆された。（参照 6、30）

② 遺伝子発現（トランスクリプトーム）解析

NOPA 添加群と対照群との間で遺伝子発現強度を比較した結果、ラット、イヌ、サルでそれぞれ有意な発現調節が起きていたが、全ての動物種で共通して発現調節された遺伝子はなかった。

また、ソフトウェアを用いたパスウェイ解析が実施され、精巣に関連する遺伝子の発現制御が動物種によって異なることが示唆された。

これらの結果から、ラット、イヌ及びサルの精巣（精細管）の細胞における遺伝子発現への NOPA の影響は動物種により異なることが示唆されたが、精巣への影響に関わる特定の機序については明らかに出来なかった。（参照 5、6、30）

なお、EFSA では 3-NOP 投与の影響で生じるラットの精巣への影響はラットに特異的な反応であるとしている。（参照 5）

8. その他の試験

（１）皮膚腐食性/刺激性試験

OECD ガイドライン No.431 に基づき皮膚腐食性試験を、また、OECD ガイドライン No.439 に基づき皮膚刺激性試験を実施した。

試験の結果、3-NOP は皮膚腐食性を示さなかったが、皮膚刺激性がみられた。（参照 5）

（２）眼刺激性試験

OECD ガイドライン No.437 に基づき眼刺激性試験を実施した。

試験の結果、3-NOP は眼への刺激性を示した。（参照 5）

（３）皮膚感作性試験

OECD ガイドライン No.429 に基づき皮膚感作性試験を実施した。

試験の結果、3-NOP は皮膚感作性を示さなかった。（参照 5）

Ⅲ. 国際機関等における評価

1. 欧州における評価

EFSA は 2021 年に 3-NOP の安全性を評価し、3-NOP を乳生産用及び繁殖用反芻動物に 53～80 mg/kg 完全飼料を飼料添加物として使用した時、その生産物を介した人の健康への影響はないと判断している。なお、ADI を 1 mg/kg 体重/日と試算している。(参照 1、5、31)

2. 英国における評価

FSA 及び FSS は 2023 年に 3-NOP の安全性を評価し、3-NOP を乳生産用及び繁殖用反芻動物に 52.8～88 mg/kg 完全飼料で飼料添加物として使用した時、安全であるとしている。また、ADI は、雄の生殖機能への影響に対する POD を、BMD 法から得られた BMDL₅ 95.6 mg/kg 体重/日とし、不確実係数 300 を用いて、0.3 mg/kg 体重/日と設定している。(参照32)

IV. 食品健康影響評価

3-ニトロオキシプロパノール (3-NOP) は、牛の第一胃 (ルーメン) 内で生成されるメタンを削減する目的で開発された 1,3-プロパンジオールの硝酸エステルである。

体内動態試験の結果から、3-NOP は動物体内に摂取されると、速やかに代謝され、約 1~2 時間後には未変化体は血漿中から検出されなくなる。げっ歯類では、3-NOP は代謝により M2 (NOPA)、M7 (HPA) 等を経て、大部分は CO₂ として呼吸を通じて排泄され、残りは主に尿中に排泄される。牛では、第一胃内の微生物のはたらきにより M8 に代謝される経路と、動物体内の酸化的反応により M2 に代謝される経路が考えられ、いずれも M7 等を経て、大部分は CO₂ として呼吸を通じて排泄される。また、一部は M13 等の極性物質として取り込まれると考えられた。

残留試験では、3-NOP を牛に混餌投与した結果、組織中においては、代謝物である M2 は定量限界未満であったが、乳においては、投与 2 日後以降で M2 が検出され、その濃度は用量依存的及び経時的に増加する傾向がみられた。

これらのことから、反芻動物体内では M2、M7 等が生成され、これらの代謝物はラットでも認められているものの、M2 は 3-NOP の残留を上回る傾向があることから、畜産物を介して人が摂取する可能性を考慮すべき物質は 3-NOP 及び M2 であると考えた。また、M7 等の代謝物は生体内に通常存在し、安全性に懸念のある化合物ではなかった。

遺伝毒性試験では、3-NOP は、*in vitro* の復帰突然変異試験、マウスリンパ腫細胞を用いた遺伝子突然変異試験及びシリアンハムスター胎児細胞を用いた形質転換試験はいずれも陰性であり、ヒト末梢血リンパ球を用いた小核試験においても陰性であったが、ヒトリンパ芽球細胞及びチャイニーズハムスター細胞を用いた小核試験では陽性を示した。マウス及びラットを用いた *in vivo* の小核試験はいずれも陰性であった。NOPA は、*in vitro* の復帰突然変異試験において、TA100 及び TA1535 株で陽性であったが、ヒト末梢血リンパ球を用いた小核試験は陰性であり、*in vivo* のトランスジェニックラットを用いた遺伝子突然変異試験及び小核試験はいずれも陰性であった。これらのことから、3-NOP は *in vitro* の小核試験の結果が陽性であったが、*in vivo* の小核試験を含むその他の全ての試験の結果がいずれも陰性であったことから、生体にとって問題となる遺伝毒性はないと判断した。また、代謝物である NOPA は *in vitro* の復帰突然変異試験の結果が陽性であったが、*in vivo* のトランスジェニックラットを用いた遺伝子突然変異試験を含むその他の全ての試験の結果がいずれも陰性であったことから、生体にとって問題となる遺伝毒性はないと判断した。

マウス、ラット及びイヌの亜急性毒性試験では、雄の精巣及び精巣上体の絶対及び相対重量の減少並びに精子数の減少、精子の運動性の低下がみられたことから、最小の NOAEL は 100 mg/kg 体重/日であった。

ラットの慢性毒性及び発がん性試験では、雄の精巣の萎縮とそれに伴う精巣上体の変化、総精子数の減少、精子の運動性の低下がみられたこと及び雌の消化管での腫瘍性変化から、最小の NOAEL は 100 mg/kg 体重/日であった。発がん性試験において、十二指腸・空腸に良性間葉系腫瘍が認められたが、3-NOP は生体にとって問題となる遺伝毒性はないと判断されたことから、評価に当たり閾値を設定することは可能であると考えた。

2 世代繁殖毒性試験では、100 mg/kg 体重/日までの投与群の親動物及び児動物の一般状態、各種臨床所見、繁殖能に被験物質投与に関連した毒性影響がみられなかったことから、親動物及び児動物における最小の NOAEL は 100 mg/kg 体重/日であった。また、ラット及びウサギの発生毒性試験では、催奇形性は認められなかった。

ラットの各種毒性試験において、精巣毒性が観察されたため、代謝物である NOPA 及び HPA を用いた被験物質の精巣毒性の比較が行われた。その結果、被験物質投与による毒性影響は、3-NOP 及び NOPA で認められるが、HPA では認められないと考えた。また、3-NOP の体内動態試験の結果から、3-NOP は体内で速やかに代謝されるため、究極毒性物質は NOPA である可能性が考えられた。

食品安全委員会は、3-NOP の各種毒性試験において、毒性影響が認められた試験の最小の NOAEL は、ラットを用いた 52 週間慢性毒性試験、104 週間慢性毒性及び発がん性試験並びに 2 世代繁殖毒性試験の 100 mg/kg 体重/日であったことから、これを根拠として、安全係数 100 で除した 1 mg/kg 体重/日とすることが適当と考えた。

以上より、3-NOP 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。

ADI 1 mg/kg 体重/日

表 27 各種試験の無毒性量等の比較

動物種	試験	投 与 量 (mg/kg 体重/日)	無毒性量 (mg/kg 体重/日)		
			EFSA	FSA/FSS	食品安全委員会
マウス	28 日間亜急性毒性試験	0、100、 300、700	100 TG 減少	—	300 部分的閉瞼、立毛、不規則な呼吸等
ラット	90 日間亜急性毒性試験	0、50、 100、300	雄：100 精巣及び精巣上体における精子数の減少、精子形成の減少、精子の運動性の低下 雌：300 (最高用量)	—	雄：100 精巣及び精巣上体の絶対及び相対重量の減少、精子数の減少、精子の運動性の低下 雌：300 (最高用量)
	52 週間慢性毒性試験	雄：0、25、 50、100、 300 雌：0、50、 100、600	雄：100 精巣における精子形成の不良 雌：600 (最高用量)	—	雄：100 精巣の萎縮、総精子数の減少、精子の運動性の低下 雌：600 (最高用量)
	104 週間慢性毒性及び発がん性試験	雄：0、25、 50、100 雌：0、50、 100、300	100 小腸の良性消化管間葉系腫瘍 発がん性なし	50 間葉系細胞過形成 推奨用量では発がん性なし	雄：100 (最高用量) 雌：100 十二指腸・空腸の良性間葉系腫瘍
	反復投与毒性試験と生殖発生毒性スクリーニング試験の併合試験	0、20、 100、500	親動物：100 精巣及び精巣上体への有害作用、精子数の減少	—	親動物：100 雄の精巣及び精巣上体の絶対及び相対重量の減少、精子数の減少

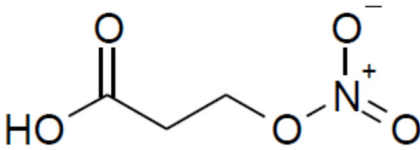
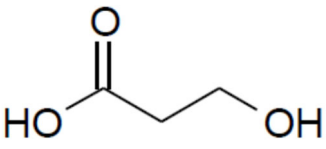
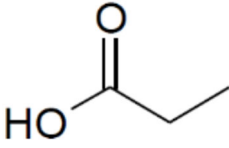
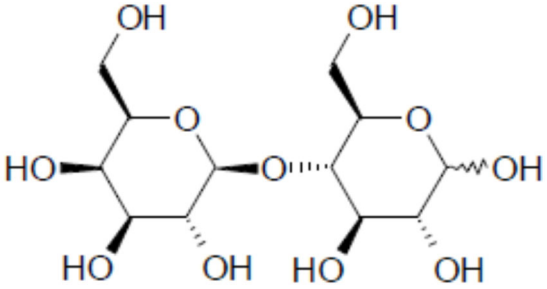
	(雄：29 日間、雌：42～52 日間)				児動物：最高用量で分娩例がなく、影響量の評価不能
	2 世代繁殖毒性試験 (雄：92 日間、雌 134 日間)	0、25、50、100	親動物：100 (最高用量) 児動物：100 (最高用量)	—	親動物：100 (最高用量) 児動物：100 (最高用量)
	発生毒性試験 (妊娠 6～20 日)	0、100、300、1,000	親動物：300 傾眠、非協調運動、体重増加量の抑制 児動物：1,000 (最高用量) 催奇形性なし	—	親動物：300 傾眠、非協調運動、体重増加量の抑制 児動物：1,000 (最高用量) 催奇形性なし
ウサギ	発生毒性試験 (妊娠 6～29 日)	0、50、150、450	親動物：450 (最高用量) 児動物：450 (最高用量) 催奇形性なし	—	親動物：450 (最高用量) 児動物：450 (最高用量) 催奇形性なし
イヌ	90 日間亜急性毒性試験	0、10、30、100、300 (150 × 2 回)	雄：300 (最高用量) 雌：100 一般状態の悪化	—	雄：300 (最高用量) 雌：100 一般状態の悪化
毒性学的 ADI (mg/kg 体重/日)			1 ^a NOAEL：100 安全係数：100	0.3 BMDL ₅ ：95.6 不確実係数：300	1 NOAEL：100 安全係数：100
毒性学的 ADI 設定根拠試験			ラット 104 週間慢性毒性及び発がん性試験	—	ラット 52 週間慢性毒性試験、104 週間慢性毒性及び発がん性

			試験、2世代繁殖 毒性試験
ADI (mg/kg 体重/日)	1 ^a	0.3	1

a : EFSA が試算した値

— : 評価書に記載なし

<別紙 1：代謝物の名称及び推定構造>

略称	推定構造式	名称
M2		3-ニトロオキシプロピオン酸 (NOPA)
M7		3-ヒドロキシプロピオン酸 (HPA)
M8		1,3-プロパンジオール
M9		プロピオン酸
M13		Lactose (乳糖)
M14		オキセタン (トリメチレンオキシド)

<別紙 2：検査値等略称>

略称	名称
ADI	Acceptable Daily Intake：許容一日摂取量
A/G	Albumin/globulin：アルブミン/グロブリン
ALP	Alkaline phosphatase：アルカリフォスファターゼ
ALT	Alanine aminotransferase：アラニンアミノトランスフェラーゼ
AST	Aspartate aminotransferase：アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
AUC	Area under the blood concentration time curve：血中濃度-時間曲線下面積
AUC _{inf}	Area under the blood concentration time curve extrapolated to infinity：無限大時間まで外挿した血中濃度-時間曲線下面積
AUC _{last}	Area under the concentration-time curve till the last observation：投与後 0 時間から最終定量時間までの濃度時間曲線下面積
BMD	Benchmark dose：ベンチマークドーズ。一定の BMR をもたらすばく露量
BMDL	Benchmark dose lower confidence limit：BMD の信頼区間の下限値（信頼下限値）
BMR	Benchmark response：用量反応曲線におけるバックグラウンド反応からの反応量の変化
CL _{tot}	Total Clearance：全身クリアランス
C _{max}	Maximum observed concentration：最高血中濃度
EFSA	European Food Safety Authority：欧州食品安全機関
EU	European Union：欧州連合
FACS	Fluorescence-Activated Cell Sorting：蛍光標識細胞自動分取機
FSA	Food Standards Agency：英国食品基準庁
FSH	Follicle-Stimulating Hormone：卵胞刺激ホルモン
FSS	Food Standards Scotland：スコットランド食品基準局
Hb	Hemoglobin：血色素量
HPLC	High-Performance Liquid Chromatography：高速液体クロマトグラフィー
LC/MS	Liquid Chromatography Mass Spectrometry：液体クロマトグラフィー・質量分析
LC/MS/MS	Liquid Chromatography-tandem Mass Spectrometry：液体クロマトグラフィータンデム質量分析
LD ₅₀	50% Lethal Dose：半数致死量
LOQ	Limit of Quantification：定量限界

LSC	Liquid Scintillation Counter : 液体シンチレーションカウンタ
MCH	Mean Corpuscular Hemoglobin : 平均赤血球ヘモグロビン
MCV	Mean Corpuscular Volume : 平均赤血球容積
MRT	Mean Residence Time : 平均滞留時間
MRT _{inf}	Mean Residence Time extrapolated to infinity : 無限大時間まで外挿した平均滞留時間
NMR	Nuclear Magnetic Resonance : 核磁気共鳴装置
NOAEL	No-Observed-Adverse-Effect Level : 無毒性量
NOEL	No-Observed-Effect Level : 無作用量
OECD	Organisation for Economic Co-operation and Development : 経済協力開発機構
POD	Point of Depature : 出発点
RBC	Red blood cell : 赤血球 (数)
T _{1/2}	Half-life : 半減期
T _{last}	Last drug concentration time : 最終観測時点血中濃度到達時間
T _{max}	Maximum drug concentration time : 最高血中濃度到達時間
TG	Triglyceride : トリグリセリド
TLC	Thin Layer Chromatography : 薄層クロマトグラフィー
V _{dss}	Volume of distribution at steady state : 定常状態における分布容積
V _z	Volume of distribution at terminal phase : 消失相における分布容積
WBC	White blood cell : 白血球 (数)

<参照>

- 1 DSM 株式会社：飼料添加物指定審査用資料；3-ニトロオキシプロパノールについての試験成績等の抄録（概要・効果編）、2022<非公表>
- 2 Pubchem,
<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/3-Nitrooxypropanol>
- 3 環境省：温室効果ガスインベントリの概要
<https://www.env.go.jp/earth/ondanka/ghg-mrv/overview.html>
- 4 Thiel A, Rumbeli R, Mair P, Yeman H, Beilstein P. : 3-NOP: ADME studies in rats and ruminating animals. Food and Chemical Toxicology 2019, 125: 528–539.
- 5 DSM 株式会社：飼料添加物指定審査用資料 資料 1
- 6 DSM 株式会社：飼料添加物指定審査用資料；3-ニトロオキシプロパノールについての試験成績等の抄録（安全性編）、2022<非公表>
- 7 DSM 株式会社：飼料添加物指定審査用資料 資料 28<非公表>
- 8 DSM 株式会社：飼料添加物指定審査用資料 資料 29<非公表>
- 9 DSM 株式会社：飼料添加物指定審査用資料 資料 30<非公表>
- 10 DSM 株式会社：飼料添加物指定審査用資料 資料 31<非公表>
- 11 DSM 株式会社：飼料添加物指定審査用資料 資料 16<非公表>
- 12 DSM 株式会社：飼料添加物指定審査用資料 資料 17<非公表>
- 13 DSM 株式会社：飼料添加物指定審査用資料 資料 26<非公表>
- 14 DSM 株式会社：飼料添加物指定審査用資料 資料 15<非公表>
- 15 DSM 株式会社：飼料添加物指定審査用資料 資料 32<非公表>
- 16 DSM 株式会社：飼料添加物指定審査用資料 資料 35<非公表>
- 17 DSM 株式会社：飼料添加物指定審査用資料 資料 11<非公表>
- 18 DSM 株式会社：飼料添加物指定審査用資料 資料 10<非公表>
- 19 DSM 株式会社：飼料添加物指定審査用資料 資料 21<非公表>
- 20 DSM 株式会社：飼料添加物指定審査用資料 資料 22<非公表>
- 21 DSM 株式会社：飼料添加物指定審査用資料 資料 23<非公表>
- 22 DSM 株式会社：飼料添加物指定審査用資料 資料 24<非公表>
- 23 DSM 株式会社：飼料添加物指定審査用資料 資料 25<非公表>
- 24 DSM 株式会社：飼料添加物指定審査用資料 資料 12<非公表>
- 25 DSM 株式会社：飼料添加物指定審査用資料 資料 14<非公表>
- 26 DSM 株式会社：飼料添加物指定審査用資料 資料 13<非公表>
- 27 DSM 株式会社：飼料添加物指定審査用資料 資料 18<非公表>
- 28 DSM 株式会社：飼料添加物指定審査用資料 資料 19<非公表>
- 29 DSM 株式会社：飼料添加物指定審査用資料 資料 20<非公表>
- 30 DSM 株式会社：飼料添加物指定審査用資料 資料 27<非公表>
- 31 COMMISSION IMPLEMENTING REGULATION (EU) 2022/565 of 7 April 2022.
- 32 FSA and FSS : Safety Assessment: Outcome of assessment of 3-Nitrooxypropanol “3-NOP” as a feed additive for all ruminants for milk production and reproduction, from DSM Nutritional Products, Reference number RP1059, 2023.

3-ニトロオキシプロパノールを有効成分とする飼料添加物に係る食品健康影響評価に関する審議結果(案)についての意見・情報の募集結果について

1. 実施期間 令和5年8月30日～令和5年9月28日
2. 提出方法 インターネット、ファックス、郵送
3. 提出状況 1通
4. 頂いた意見・情報及び食品安全委員会の回答

	頂いた意見・情報	食品安全委員会の回答
1	「残留試験では、本飼料添加物を牛に混餌投与した結果、組織中においては、代謝物であるM2 (NOPA) は定量限界未満であったが、乳においては、投与2日後以降でM2が検出され、その濃度は用量依存的及び経時的に増加する傾向がみられた。」と、乳での検出が増加傾向にあったにも関わらず、「牛(乳用牛及び肉用牛)の安全性試験及び飼養試験の結果から、本飼料添加物の牛への推奨添加量での添加について、牛に対する安全性に問題はない」と結論づけて、意味がわかりません。用量を相当制限する必要があるのではないのでしょうか？	「飼料添加物に関する食品健康影響評価指針」(令和3年5月18日食品安全委員会決定)では、対象動物における安全性試験について、「当該製剤が投与された家畜等に由来する食品を通じたヒトへの食品健康影響を評価の参考とするために、家畜等における安全性に関する知見を整理する」とこととされています。 今般、食品安全委員会において、提出された資料の内容をもとに審議した結果、本飼料添加物の牛への推奨添加量での添加について、投与された3-ニトロオキシプロパノール(3-NOP)が動物体内でM2 (NOPA) に代謝されていることを考慮しても、一般状態等に本飼料添加物投与に関連した異常はみられなかったことが確認され、牛に対する安全性に問題はないと判断されました。 また、本飼料添加物の用量に関するご意見は、リスク管理に関するものと考えられることから、農林水産省にお伝えいたします。

※頂いたものをそのまま掲載しています。