

1
2
3

4
5
6
7 動物用医薬品評価書
8
9

10 ニトロフラン類(フラゾリドン、ニトロフラントイン、フラルタドン、ニトロフ
11 ラゾン)の食品健康影響評価について(案)
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28

29 2007年3月
30

31 食品安全委員会 動物用医薬品専門調査会
32

〈目次〉

頁

1. はじめに	3
2. フラゾリドン及びA O Zについて	3
3. ニトロフラントイン及びA H Dについて	4
4. フラルタドン及びA O M Zについて	5
5. ニトロフラゾン及びS E M Iについて	5
6. S E M Iに関する毒性知見について	6
6-1. 遺伝毒性について	6
6-2. S E M Iに係るその他の毒性知見について	9
6-3. ニトロフラゾンに由来しないS E M生成機構及び汚染状況に関する知見	9
6-4. S E Mの暴露に係るE F S Aの評価について	10
7. 食品健康影響評価について	11

〈審議の経緯〉

平成19年 1月12日	厚生労働大臣から食品健康影響評価について要請
平成19年 1月15日	関係書類の接受
平成19年 1月18日	第174回食品安全委員会（要請事項説明）
平成19年 1月26日	第66回動物用医薬品専門調査会
平成19年 2月23日	第68回動物用医薬品専門調査会
平成19年 3月 8日	第181回食品安全委員会（報告）
平成19年 月 日	
— 月 日	国民からの意見情報の募集

〈食品安全委員会委員〉

見上 彪（委員長）
小泉 直子（委員長代理*）
長尾 拓
野村 一正
畑江 敬子
本間 清一
*平成19年2月1日から

〈食品安全委員会動物用医薬品専門調査会専門委員〉

平成19年2月12日から

三森 国敏(座 長)	三森 国敏(座 長)		
井上 松久(座長代理)	井上 松久(座長代理)		
青木 宙	津田 修治	青木 宙	寺本 昭二
明石 博臣	寺本 昭二	明石 博臣	長尾 美奈子
江馬 眞	長尾 美奈子	江馬 眞	中村 政幸
大野 泰雄	中村 政幸	小川 久美子	林 眞
小川 久美子	林 眞	渋谷 淳	平塚 明
渋谷 淳	藤田 正一	嶋田 甚五郎	藤田 正一
嶋田 甚五郎	吉田 緑	鈴木 勝士	吉田 緑
鈴木 勝士		津田 修治	

〈参考人〉

(器具・容器包装専門調査会) 河村 葉子
堀江 正一
(化学物質専門調査会) 太田 敏博

〈専門参考人〉

能美 健彦

要約

ニトロフラン類(フラゾリドン、ニトロフラントイン、フラルタドン、ニトロフラゾン)及びこれらの代謝物である 3-アミノ-2-オキサゾリドン(AOZ)、1-アミノヒダントイン(AHD)、3-アミノ-5-モルフォリノメチル-2-オキサゾリドン(AMOZ)及びセミカルバジド(SEM)について、食品健康影響評価を実施した。評価に用いた資料は薬事・食品衛生審議会評価書(2003 年)、JECFA(1992 年)及び EFSA(2003、2005 年)レポート、EMEA、あるいは国内で実施された各種試験報告書及び公表文献等である。

ニトロフラン類の食用動物への使用は国内及び諸外国の多くで禁止されている。食品衛生法では、ニトロフラン類は、『食品において「不検出」とされる農薬等の成分である物質』に指定され、その代謝物である AOZ、AHD、AMOZ 及び SEM を分析対象化合物として規制が行われていて、今回の評価において SEM を除く各物質は、いずれも ADI を設定することは適当でないと判断された。

SEM については、ニトロフラゾンの使用の有無に係わらず、いくつかの食品から検出されることが判明しており、分析対象としては適切でない可能性がある。SEM そのもののリスクについては、発がん性試験、遺伝毒性試験、催奇形性試験といった限られた試験報告しか得られておらず、ADI あるいは TDI を設定するには不十分である。

しかし、EFSA で実施された、動物実験で認められた各種の知見と食品からの想定される暴露量とを比較考量する方法は、現時点でも可能な評価法であると考えられ、この方法を適すると、SEM を体重当たりで最も多く摂取する可能性がある乳児の最悪ケースでも、発がん性について 5 桁の安全マージン、催奇形性でも 3 桁もしくはそれ以上のマージンが見込まれている。国内における SEM の食品中の含有量、暴露量が EFSA で検討されたものと同程度であれば、暫定的評価として、SEM が毒性影響を示す量と暴露量の間の MOE^a は大きく、リスクとしては小さいものであると考えられる。

^a Margin Of Exposure ; 暴露マージン

ニトロフラン類(ニトロフラゾン、ニトロフラントイン、フラゾリドン及びフラルタドンをいう)の食品健康影響評価について(案)

1. はじめに

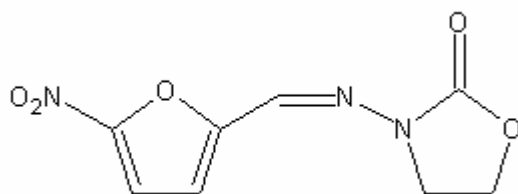
ニトロフラン類はフラン系の合成抗菌剤の総称であるが、食品衛生法においてはいわゆるポジティブリスト制度の導入に伴い、『食品において「不検出」とされる農薬等の成分である物質』に指定され、ニトロフラゾン、ニトロフラントイン、フラゾリドン、フラルタドンがその対象とされている。具体的には、これらの代謝物であるセミカルバジド(SEM)、1-アミノヒダントイン(AHD)、3-アミノ-2-オキサゾリドン(AOZ)及び 3-アミノ-5-モルフォリノメチル-2-オキサゾリドン(AMOZ)を分析対象化合物とした分析法が告示により規定され、これらの規制が実施されているところである。

ニトロフラン類の食用動物への使用は国内及び諸外国においても多くで禁止されている。フラゾリドンとニトロフラゾンについて平成 15 年に過去に厚生労働省の薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会毒性部会(以降薬食審)において評価され⁽¹⁾、フラゾリドンについては遺伝毒性発がん性物質である可能性が高く、その代謝物である AOZ については *in vivo* 及び *in vitro* の遺伝毒性が陽性であり発がん性を有する可能性が極めて高いと考えられることから、1 日摂取許容量(ADI)を設定することは適当でない、ニトロフラゾン及びその代謝物である SEM については発がん性を示した動物試験の結果があり、メカニズムは明らかでないものの ADI を設定することは適当でないとされている。ニトロフラントイン、フラルタドンについては国内で評価された事例はない。

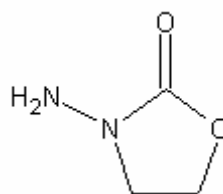
国際的には JECFA においてフラゾリドンについては遺伝毒性発がん性が否定できないこと、ニトロフラゾンについては発がん性に関する NOEL が得られていないことから ADI は設定されていない^{(2),(3)}。EMEA においてはニトロフラゾン、ニトロフラントインについては ADI、MRL を設定するための情報が不十分、フラルタドンについては情報がないこと、フラゾリドンについては NOEL が得られないこと及び遺伝毒性が認められることからいずれも AnnexIV(食用動物への使用を認めない動物用医薬品)該当物質と評価され^{(4),(5)}、1µg/kg の MRPLs (Minimum Required Performance Limits) が、鶏肉及び水産製品について設定されている⁽⁶⁾。一方、SEMについては近年ニトロフラゾンに由来するものだけではなく、アゾジカルボンアミドを使用したプラスチックガasketや、カラギーナン、ゼラチン、粉卵等の食品あるいは食品原料を次亜塩素酸塩で処理した際、あるいは詳細な生成機構は不明であるが、自然にも生じることが明らかとなり、2003 年 10 月及び 2005 年 7 月に EFSA が評価を実施している^{(7),(8)}。また、国内においても複数の *in vivo* 遺伝毒性試験が新たに実施されている。

このため、今般厚生労働省より、ニトロフラン類及びその代謝物についての暫定基準の評価に当たり、特に SEM の遺伝毒性及び現時点におけるリスクを含めた食品健康影響評価を行うことが食品安全委員会に依頼されたものである。

2. フラゾリドン及び AOZ について^{(1),(3),(4),(5)}



フラゾリドン



AOZ

フラゾリドン及びその主要な代謝物である AOZ については、過去に薬食審において JECFA あるいは EMEA において評価された試験成績の総括がなされており、その概要は次の通りである。

○フラゾリドン

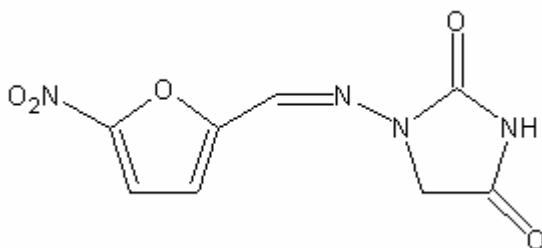
発がん性については、SwissMBR/ICR マウスを用いた混餌投与による試験において、24mg/kg 体重/日以上投与群の雌雄で気管支癌、雄でリンパ肉腫の増加、Fischer ラット又は Sprague-Dawley ラットを用いた混餌投与による試験において、Fischer ラットでは 12.5mg/kg 体重/日投与群の雌で良性又は悪性の乳腺腫瘍の増加、25mg/kg 体重/日以上投与群の雌雄で皮脂腺腺腫及び甲状腺腺腫、雄で基底細胞腫及び基底細胞がんの増加、50mg/kg 体重/日投与群の雌で乳腺腫瘍の増加、Sprague-Dawley ラットでは 50mg/kg 体重/日投与群の雌で乳腺腫瘍の増加、雄で中枢神経系の星状膠細胞腫の増加が認められた。遺伝毒性については、*in vitro* の DNA 修復試験、Ames 試験、ほ乳類培養細胞を用いた UDS 試験、遺伝子突然変異試験、SCE 試験、及び染色体異常試験等が実施されほとんどの試験において陽性反応が認められ、*in vivo* ではキイロショウジョウバエを用いた伴性劣性致死試験で陽性、マウスを用いた小核試験は不明瞭であった。これらのことから、フラゾリドンは遺伝毒性を有する発がん物質である可能性が高い。

○AOZ

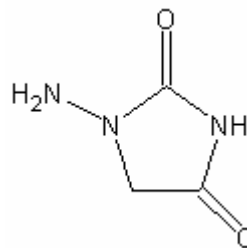
発がん性については評価されていないが、遺伝毒性について *in vitro* の Ames 試験(-S9 の *Salmonella typhimurium* TA100、TA1535、TA98、TA1537 及び±S9 の *E. coli* WP2uvrA)、ヒトの末梢リンパ球を用いた染色体異常試験(-S9)、*in vivo* のマウスを用いた小核試験で陽性を示したことから、発がん性を有する可能性は極めて高い。

これらのことから、フラゾリドン及び AOZ については入手された資料から見る限り、ADI を設定することは適当でないと考えられると評価している。この評価は現時点の JECFA、EMEA の評価とも矛盾が無く、今般の評価依頼に当たって、これらの結論を変更するに足る新たな知見は提出されていないことから、この評価結果を見直す必要はないものと考えられる。

3. ニトロフラントイン及び AHD について^{(2),(4),(9)}



ニトロフラントイン



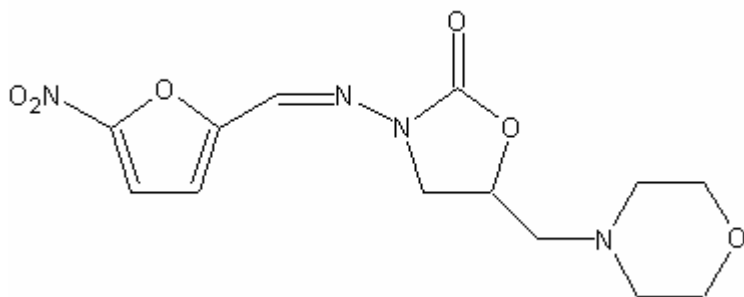
AHD

ニトロフラントイン及びその主要な代謝物である AHD については、国内における評価はない。ニトロフラントインについては米国 NTP において B6C3F₁ マウス及び F344/N ラットを用いた 2 年間の発がん性試験が実施されており、その結果 B6C3F₁ マウスの雄及び F344/N ラットの雌では発がん性を示す証拠はない(no evidence of carcinogenic activity)が、B6C3F₁ マウスの雌では卵巣で管状腺腫(tubular cell adenoma)、良性混合腫瘍(benign mixed tumor)、顆粒膜細胞腫(granulosa cell tumor)の増加 (clear evidence of carcinogenic activity)、及び F344/N ラットの雄ではまれにしか認められない腎臓の尿細管上皮由来の腫瘍(tubular cell neoplasms)の増加 (some evidence of carcinogenic activity)が示されたとしている。また、JECFA のニトロフラゾンの評価書中でニトロフラントインはマウスにおいて卵巣で良性腫瘍が増加し、卵巣の萎縮に伴う二次的影響と思われるものの、ニトロフラン類の影響は否定できず、NOEL も求められないと記載されている。EMEA ではニトロフラントインについては情報が不足しており、ADI 及び MRL を設定せず食用動物への使用を認めない動物用医薬品リストに収載している。また、2006 年の Big Blue マウスの種々の臓器における導入 *c H* 遺伝子の突然変異試験の論文報告では、腎臓において弱いながら有意な変異プラーク数の増加が認められたとされている⁽¹⁰⁾。

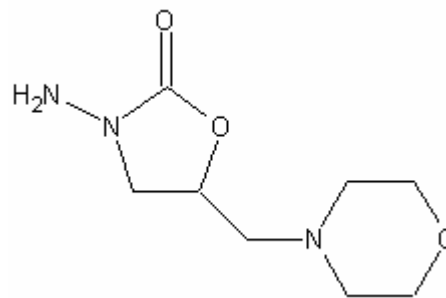
AHD については情報が得られていない。

今般の評価依頼に当たって、これらの結論を変更するに足る新たな知見は提出されておらず、発がん性が否定できず及びそのメカニズムも明確でないことから、ニトロフラントイン及び AHD について ADI を設定することは適当でないと考えられる。

4. フラルタドン及び AMOZ について⁽⁴⁾



フラルタドン

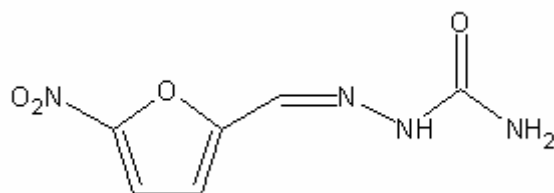


AMOZ

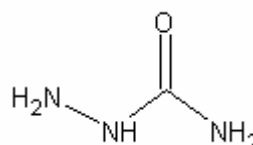
フラルタドン及び AMOZ については、国内や JECFA における評価、NTP による発がん性試験等の情報は得られていない。EMEA においてはフラルタドンについては情報がないため、ADI 及び MRL は設定せず食用動物への使用を認めない動物用医薬品リストに記載するとしている。

このように、フラルタドン及び AMOZ については、ほとんど情報が得られていない状況にあり、評価を行うことは出来ない。EMEA で ADI 及び MRL を設定せず、食用動物への使用を禁じていること、ニトロフラン類の多くが発がん性を疑われる物質であることを考慮すると、必要な科学的知見が得られるまで、ADI を設定することは適当でないと判断するのが適当であると考えられる。

5. ニトロフラゾン及び SEM について^{(1),(2),(4)}



ニトロフラゾン



SEM

ニトロフラゾン及びその主要な代謝物である SEM については、過去に薬食審において JECFA あるいは EMEA において評価された試験成績の総括がなされており、その概要は次の通りである。

○ニトロフラゾン

発がん性については、B6C3F₁ マウスを用いた混餌投与による 2 年間の試験において、14mg/kg 体重/日以上の投与群の雌で卵巣萎縮、卵巣胚上皮過形成、卵巣顆粒膜細胞腫、卵巣の良性混合腫瘍の増加、Holtzman 雌ラットを用いた混餌投与による試験において 36 週間の 150mg/kg 体重/日の投与、あるいは 53 週間の 75mg/kg 体重/日以上以上の投与で良性乳腺腫瘍の増加、CFE ラットを用いた混餌投与(50-55mg/kg 体重/日)による 45 週間の試験において、雌で良性の乳腺腫瘍の増加、F344/N ラットを用いた混餌投与による

2年間の試験において、11mg/kg 体重/日以上投与群の雌で乳腺線維腺腫の増加(腺がんは増加せず)が認められた。遺伝毒性については、*in vitro* の DNA 損傷試験、Ames 試験、ほ乳類培養細胞を用いた復帰突然変異試験、SCE 試験及び染色体異常試験が実施され全てにおいて陽性反応が認められているが、*in vivo* では染色体異常試験、小核試験では陰性であった。

OSEM

発がん性については、Swiss マウスの 0.0625%SEM・HClの飲水投与^bによる試験において、雌に弱いながらも血管由来の腫瘍と肺腫瘍の増加、dd マウスの雌を用いた7ヶ月の混餌投与(0.1%SEM・HCl)試験で肺腫瘍の増加が認められた。ラットにおいては発がん性は認められない、あるいは評価するのに不十分な報告であった。遺伝毒性については *in vitro* の Ames 試験では *S. typhimurium* TA1535 の-S9 条件下で弱い陽性反応が認められたが、TA1537、1538、98、100 では陰性であった。*in vitro* では ³²P 標識 DNA を用いた DNA 損傷試験において Cu(II)存在下で DNA 付加体の形成が認められた。*in vivo* では雄 Swiss マウスにおける肝及び肺の DNA アルカリ溶出法では陰性であった。

これらのことから、「ニトロフラゾン及び SEM については発がん性を示した試験結果があり、発がん物質であると考えられる。発がん性のメカニズムは明らかでないものの、入手された資料から見る限り、ADI を設定することは適当でないと考えられる」と評価している。なお、SEM の IARC における評価はグループ 3 「人に対する発がん性について分類できない(Not classifiable as to its carcinogenicity to humans)」である。⁽¹¹⁾

ニトロフラゾンについては、今般の評価依頼に当たって、これらの結論を変更するに足る新たな知見は提出されていないことから、この評価結果を見直す必要はないものと考えられる。

一方、SEM については、ニトロフラゾンの使用以外に、アゾジカルボンアミドを使用したプラスチックガスケットや、カラギーナン、ゼラチン、粉卵等の食品あるいは食品原料を次亜塩素酸塩で処理した際、あるいは詳細な生成機構は不明であるが、自然にも生じることが明らかとなり、新たに EFSA 等でより詳細なリスク評価が実施されている。また、国内においても *in vivo* の遺伝毒性試験が新たに実施され、その結果が報告されている。これらの知見に基づき SEM については従前の評価を見直す必要があるかについても検討する必要があると考えられることから、毒性知見、ニトロフラゾンに由来しない SEM の生成機構及び汚染状況に関する知見等について以下にとりまとめを行った。

6. SEM に関する毒性知見について

6-1. 遺伝毒性について

これまでに報告されている遺伝毒性に関する主な報告は次の通りである。

in vitro 試験

試験	対象	投与量	結果
Ames	<i>S. typhimurium</i> TA1535, TA1537, TA1538, TA98, TA100	623~9988 µg/plate(±S9)	TA1535 で陽性 ⁽¹²⁾
	<i>S. typhimurium</i> TA1535, TA1537, TA98, TA100, <i>E. coli</i> WP2 <i>uvrA</i>	62~5000 µg/plate(±S9)	TA1535,TA100 で陽性 ⁽¹³⁾
染色体異常	チャイニーズハムスター卵巣(CHO)細胞(試験1)	75~600 µg/mL, (+S9; 4+14hr)	陰性 ⁽¹⁴⁾
		75~1115 µg/mL, (-S9; 4+14hr)	
	チャイニーズハムスター卵巣(CHO)細胞(試験2)	200~900 µg/mL, (-S9; 18hr, 32hr)	陰性 ⁽¹⁴⁾
		200~900 µg/mL, (+S9; 4+14hr, 28hr)	
前進突然変異(MLA)	L5178Y マウスリンパ腫細胞	0.013~10 mmol/L(±S9)	陽性 ⁽¹⁵⁾

^b SEM 摂取量は雄 4.8mg/匹/日、雌 3.3mg/匹/日と推測されており、雌の体重を 25~35g、雄の体重を 30~40g とした場合おおよそ 120~160mg/kg 体重/日、94~130mg/kg 体重/日

³² P-DNA 損傷試験	ヒト c-Ha-ras-1、p53、(Cu(Ⅱ)存在下)	10～100μmol/L	損傷陽性 ⁽¹⁶⁾
--------------------------	------------------------------	--------------	----------------------

in vivo 試験

試験系	試験対象	投与量	結果
不定期 DNA 合成	ラット肝	500, 2000 mg/kg, 単回経口投与	陰性 ⁽¹⁷⁾
小核	マウス骨髄	62.5, 125, 250 mg/kg/日, 2 日間	陰性 ⁽¹⁸⁾
突然変異試験 (lacZ 導入遺伝子)	雄 Muta TM Mouse 肝臓、肺	0, 12.5, 25.0, 50.0, 100mg/kg/日 28 日間強制経口	陰性 ⁽¹⁹⁾

① Ames 試験^{(12),(13)}

Parodiらの論文では、*S. typhimurium* TA1535, TA1537, TA1538, TA98, TA100 の5菌株について、8.3, 17, 43, 67, 133μmol/plate(623, 1277, 2553, 5032, 9988μg/plate に相当)の用量で S9 代謝活性化系存在下及び非存在下の試験が行われ、TA1535 の S9 非存在下で陽性であったと報告されている。得られた復帰変異株数については、対照群(H₂O)の 11±2 に対し、67μmol/plate(5031μg/plate)の SEM で 61±28 であった。同報告中の他のヒドラジン誘導体では、Nialamide では 4.2μmol/plate で 2586±203、ヒドラジン水和物では 10μmol/plate で 74±19、Isoniazid では 146μmol/plate で 61±15 と報告されている。なお、この復帰変異株数はラット肝臓あるいはマウス肝臓の S9 存在下では減少した。また、133μmol の処理は細胞毒性を示した。

EFSA の報告では、*S. typhimurium* TA1535, TA1537, TA98, TA100 及び *E. coli* WP2 *uvrA* の5菌株について、62, 185, 556, 1667, 5000μg/plate の用量で S9 代謝活性化系存在下及び非存在下の試験が行われており、S9 非存在下において、TA1535 の 556μg 以上、TA100 の 1667μg 以上で陽性であったと報告されている。これらで認められた復帰変異株数については、最大で TA1535 では対照群(34±1)の 16 倍(548±131)、TA100(215±39)で 3 倍(624±44)であり、WP2 *uvrA* (40±5)は 2 倍に達していなかった(72±9)。この復帰変異株数はいずれも S9 存在下では減少した。なお、陽性対照群は TA1535、TA100 では sodium azide 1.0μg/plate で 525±39、733±27、WP2*uvrA* では N-ethyl-N-nitrosourea 100μg/plate で 192±6 であった(いずれも-S9)。また、S9 存在下の 5000μg の処理は TA1537, TA100, WP2 *uvrA* について細胞毒性を示した。2005 年の EFSA の評価ではこの他に 4 つの報告が紹介されているが、いずれも陰性である。

このことから、SEM はその程度は弱いものの、Ames 試験では特定の細菌株に対し陽性を示すと考えられる。なお、復帰変異が認められたのはいずれも塩基置換型の栄養要求性変異株^c (TA1535, TA100, WP2 *uvrA*)であり、フレームシフト型の変異株^d(TA1537, TA98)についてはいずれも陰性であった。

②染色体異常試験⁽¹⁴⁾

チャイニーズハムスター卵巣 (CHO) 細胞を用いた 2 つの独立した試験が行われ、試験 1 では 75, 150, 300, 600μg/mL の用量、試験 2 では 200, 400, 600, 700, 800, 900μg/mL の用量で、S9 代謝活性化系存在下及び非存在下の試験が実施されているが、いずれも陰性であったと報告されている。また、本試験に先立って実施された用量設定試験において S9 非存在下の 1115μg/mL の処理は mitotic index(分裂指数)^eを著しく低下させることが確認されている。

なお、試験 1、試験 2 を通じて、S9 存在下の 300μg/mL 以上の用量の短時間処理(4 時間被験物質処理+14 時間培養)では、endoreduplication^f が認められていた。ただし、これは 4 時間処理+28 時間培養では認められなかった。

^c 基本的に DNA の 1 塩基対の変異により栄養要求性となった変異株。

^d DNA の塩基対に欠失あるいは挿入の変異が起こり栄養要求性となった変異株。遺伝暗号は 3 塩基対で 1 アミノ酸を指すことから、塩基対数の変化は変異部位以降の遺伝情報を大幅に書き換えることになる。

^e ある細胞集団の中で、細胞分裂を行っている細胞の割合のこと。この場合の分裂指数の低下は細胞に毒性影響があることを示唆している。

^f 全ての染色体が倍加(2 本ずつ並ぶ)した状態をいう。

このことから、SEM は CHO 細胞に染色体異常を示さないと考えられる。

③前進突然変異 (MLA)⁽¹⁵⁾

L5178Y マウスリンパ腫細胞の Tk-locus を用い、0.013, 0.026, 0.053, 0.11, 0.21, 0.42, 0.84, 1.7, 2.4, 3.4, 4.9, 7.0, 10mmol/L の用量で S9 代謝活性化系存在下及び非存在下の試験が行われており、S9 非存在下の 1.7, 4.9, 7.0, 10mmol/L、S9 存在下の 10mmol/L の用量で陽性であったと報告されている。この陽性所見は 4.9mmol/L 以上では用量依存的であった。

本報告において陽性の判定は変異の発生が、①対照群と比較して細胞 1,000,000 あたり 50 以上増加し、②用量依存的な反応が認められるか、再現性が認められる場合、とされている。S9 非存在下では 4.9, 7.0, 10mmol/L で用量依存的に、62, 106, 262 の変異の増加が認められており、この判定条件に合致していた。なお、1.7, 2.4, 3.4mmol/L における変異頻度の増加は 56, 48, 41 であり、この用量では用量依存性は認められなかった。また、変異コロニーサイズの割合では、特に小コロニーの増加は認められず、染色体異常誘発性を示唆する所見は認められなかった。

このことから、SEM は MLA において陽性を示すと考えられる。

④DNA 損傷試験⁽¹⁶⁾

³²P で 5' 末端をラベルしたヒト c-Ha-ras-1 または p53 遺伝子のフラグメントを 10, 20, 50, 100μmol/L の SEM とインキュベートし、ゲル電気泳動により DNA 断片化の有無が検討され、Cu(II) 存在下で、DNA の断片化が検出されたとしている。断片化はインキュベート後のピペリジン処理の有無にかかわらず検出されたが、処理により断片化の度合いは進行した。ピペリジン処理の有無にかかわらず DNA 断片化が起こったことから、Cu(II) 依存性の SEM による DNA 損傷は DNA 鎖のバックボーンの切断を起こしていることが示唆され、また、同処理によって切断が促進されたことから塩基の修飾も同時に起こしていると考えられる。また、水酸化ラジカルスカベンジャーは断片化を阻害せず、メチオナル、カタラーゼ、bathocuproine により断片化が部分的に阻害されたことから、過酸化水素と Cu(I) が DNA 損傷に関与していることが示唆された。

このことから、SEM は *in vitro* の Cu(II) 存在下において DNA に損傷を与えると考えられる。しかしながら、通常 Cu は *in vivo* では染色体に強固に結合しており、イオンとしては存在しないことから、この現象の重要性は不明である。

⑤ *in vivo* 不定期 DNA 合成試験(UDS 試験)⁽¹⁷⁾

本試験に先立って毒性予備試験が実施され、被験物質の推定最大耐量が 2000mg/kg、雌雄間で毒性影響に差が認められなかったとされている。このことから本試験は、最大投与量 2000mg/kg、雄ラットのみを対象として実施された。

雄 SD ラットに 500, 2000mg/kg の用量で単回経口投与し、投与後 2~4 時間(短時間処理)又は 12~16 時間(長時間処理)後に単離した肝細胞を用いた UDS 試験が行われ、いずれも陰性であった。核当たりのグレイン数(net)は、長時間処理では陽性対照群で 15.5 ± 7.1 に対し 2000mg/kg で 0.0 ± 0.8 、短時間処理では陽性対照群で 23.7 ± 1.7 に対し 2000mg/kg で 0.0 ± 0.8 と報告されている。

2005 年の EFSA の評価でも類似の試験報告が紹介されているが陰性である。

このことから、SEM はラットを用いた *in vivo* の UDS 試験において陰性であると考えられる。

⑥ *in vivo* 小核試験⁽¹⁸⁾

本試験に先立って毒性予備試験が実施され、被験物質の推定最大耐量が 250mg/kg、雌雄間で毒性影響に差が認められなかったとされている。このことから本試験は、最大投与量 250mg/kg、雄ラットのみを対象として実施された。

雄 ICR 系マウスに 62.5, 125, 250mg/kg/day の用量を 24 時間感覚で 2 回強制経口投与し、最終投与約 24 時間後に採取した骨髄について観察が行われ、いずれも陰性であった。なお、試験期間中に実験動物の死

亡や一般状態の異常は認められなかった。

このことから、SEM はマウスを用いた *in vivo* の小核試験において陰性であると考えられる。

⑦トランスジェニックマウスを用いた遺伝子突然変異試験⁽¹⁹⁾

Muta™ Mouse(雄各 6 匹/群⁸)に SEM・HCl 溶液を 28 日間強制経口(0、12.5、25.0、50.0、100mg/kg 体重/日)投与し、肝臓及び肺における導入 lacZ 遺伝子の突然変異試験が実施されている。肝臓、肺抽出 DNA とともにいずれの用量においても変異プラーク数の増加は認められなかった。一方、陽性対照である 7,12-ジメチルベンズ[α]アントラセンでは変異プラーク数の優位な増加が認められた。これらのことから、100mg/kg 体重/日までの SEM の経口投与は Muta™ Mouse の肝臓及び肺に対して遺伝子突然変異を誘発しなかった。

以上のように、SEM は *in vitro* のいくつかの試験において弱い陽性結果を示すものの、*in vivo* の複数の試験においてはいずれも陰性であった。

6-2. SEM に係るその他の毒性知見について

遺伝毒性、発がん性の他に、¹⁴C-標識 SEM のラットにおける吸収・排泄試験、不完全であるが SD ラットにおける催奇形性に関連した知見が得られている。

吸収・排泄については 2004 年に Crj:CD(SD)IGS 系雄ラットに ¹⁴C-標識 SEM を 0.1、1、10mg/kg を単回強制経口投与した試験が実施されている。 C_{max} は 86.1、832、8049ng-eq/mL、 T_{max} は 0.67、1.0、1.0 時間、 $T_{1/2}$ は 16、21、17 時間であった。排泄は主として尿中で投与後 168 時間までに 84.3、81.7、87.1%、糞には 6.9、9.4、3.7%、呼気には 4.7%、4.3%、4.1%が排泄され、体内には 2.0、1.1、1.3%が残存していた。投与後 30 分の全身オートラジオグラムからは、消化管内容物、腎臓、大動脈、胃及び肝臓で血液より高い放射能が認められた。他は、いずれも血液と同定度か低い放射能を示した。放射能はその後経時的に低下し、72 時間後には靱帯、大動脈で認められ、小腸、褐色脂肪、皮膚、肺、腎臓、骨髄、血液及び精巣で痕跡程度認められたのみで、特に特定臓器への蓄積などは認められていない。⁽²⁰⁾

SD ラットにおける催奇形性に関連した知見は、1972 年にラチロゲン^hについて実施された試験に含まれている。SD ラットに 5、10、25、50 あるいは 100mg/日の SEM・HCl を妊娠 10-16 日あるいは 12-15 日に強制経口投与し、出産予定 1 日前に剖検し、吸収胚及び胎児の口蓋裂の有無が確認されている。吸収胚の発生率は 3、0、3、38、56%、生存胎児の口蓋裂発生頻度は 0、0、43、95、100%であった。この試験における NOAEL は 10mg/日(約 30-40mg/kg 体重/日)であった。この試験は投与期間が器官形成期の全期間をカバーしておらず、内臓及び骨奇形は評価されていない等、限定的である。^{(8),(21)}

6-3. ニトロフラゾンに由来しない SEM 生成機構及び汚染状況に関する知見

SEM は動物用抗菌剤であるニトロフラゾンの代謝物として生成することが確認されており、EU では畜水産食品中の SEM を指標として、ニトロフラゾンの使用の有無の判断材料としている。

一方、近年になってプラスチックガasketを使用した容器中の食品から SEM が検出されることが明らかとなり、その後の調査でこれはニトロフラゾンではなく、プラスチックガasketの製造工程で発泡剤として使用されるアゾジカルボアミド(azodicarbonamide)に由来すると考えられることが報告されている⁽⁷⁾。食品中に検出される量は瓶詰めのベビーフードで高く、EFSA の 2005 年に報告によると、オランダでは 40 検体の調査で平均 13ppb(3-26ppb)、スペインでは 88 検体の調査で平均 16ppb(1-87ppb)、フランスでは 10 以上の検体の調査で 6-15ppb の範囲、ドイツでは 133 検体の調査で平均 13ppb(<0.5-140ppb)、フィンランドでは 15 検体の調査で平均 11ppb(<1-28ppb)、アイルランドでは 50 検体の調査で平均 7ppb(<1-42ppb)、スロベニアでは 12 検体の調

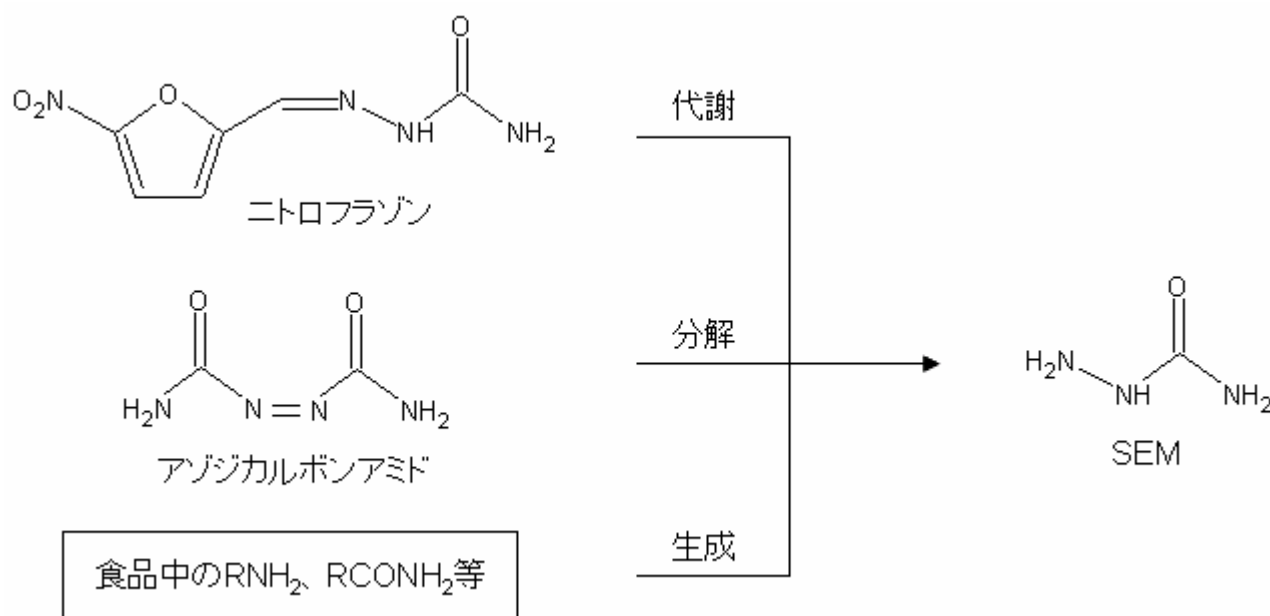
⁸ 解析は各 5 匹について実施

^h ラチリスム(Lathyrus sativus)を主食とする地域に流行する疾患で、実験的には被験物質の投与により、実験動物に骨疾患型が生じる)を誘発できる物質

査で1-17の範囲、工業界の報告では63検体の調査で平均11ppb(0.1-27ppb)であった。試験法の差はあるが、これらベビーフードについての結果を平均すると385検体の調査で平均13ppbであった。一方、その他の種々の食品についての結果を平均すると121検体の調査で平均1.0ppbであった。⁽⁸⁾

国内については、ベビーフードについて瓶詰め38検体、凍結乾燥食品4品目、レトルト4品目について実施され、瓶詰め食品から平均17ppb(6-42ppb)のSEMが検出されている。凍結乾燥、レトルト食品については定量限界(5ppb)未満であった。⁽²²⁾

さらに、最近になって、食品の加工処理あるいは自然にも微量であるがSEMが生成し、食品中に残留する可能性のあることが示唆されてきている。例えば、カラギーナンについては実験的に原材料の海草(Red seaweed)で0.2ppb、これを乾燥させると2ppb、粗精製処理で6.5ppb、漂白処理で68ppb、最終的なカラギーナンで0.6ppbのSEMが検出されたとしている。また、凍結乾燥した海草(Black seaweed)から1.1ppb、加熱処理したエビ(prawns)から1.6ppb、小エビ(shrimps)から0.9ppb、卵から0.6ppb、粉乳から0.2ppbのSEMが検出されている。さらには、実験的には、食品あるいは食品原料を次亜塩素酸塩で処理した際にはより多くのSEM(0-450ppb)が生じることが示唆されている。これらのように、いずれも微量ではあるが、SEMは天然に含有され、あるいは通常の食品の加工処理によっても生じている可能性が高い。⁽²³⁾



6-4. SEMの暴露に係るEFSAの評価について

上記のように、2003年以降、SEMが一部のガasket、食品の殺菌、漂白、加熱、乾燥等の処理、あるいは詳細な生成機構は不明であるが、自然にも生じることが明らかになってきている。EFSAは2003年に予備的評価を実施していたが、その後SEMの食品中の汚染状況、生成条件、分析法等の情報を収集し、2005年に想定される暴露実態とその状況におけるリスク評価を実施している。

その結果、最も多くSEMを摂取する可能性があるのは乳児であり、暴露量の最悪のケースを推定したところ、9ヶ月の乳幼児(体重8.8kg)が13μg/kgのSEMを含有した食品や飲料を平均的な234g/日の摂取した場合で0.35μg/kg体重/日、95%上限値である464g/日の摂取で0.69μg/kg体重/日であり、体重4.5kgの乳児が9μg/kgのSEMを含有した包装済みの瓶詰めミルクを700mL摂取した場合は1.4μg/kg体重/日とされている。

一方、動物実験において影響が認められている用量は、マウスの発がん性について100mg/kg体重/日程度であり、最悪のケースを想定しても、弱い発がん性が認められた用量と、乳幼児を含めたヒトの暴露との間には、少なくとも5桁のマージンがあるとし、食品中に検出されるSEMの発がん性によるヒトの健康影響は重要でないと評価している。また、催奇形性についても3桁もしくはそれ以上のマージンがあると記載している。

1 なお、国内の状況については、平成 15 年度の国内におけるベビーフード中の SEM 含有量実態調査によ
2 れば、試買された瓶詰め食品 38 品目から検出された SEM の平均含有量は約 17ppb(6-42ppb)であり、EFSA
3 の知見(平均 13ppb)とほぼ同様となっている。

4 5 7. 食品健康影響評価について

6 【ニトロフラン類の ADI の設定について】

7 ニトロフラン類は現在フラゾリドン、ニトロフランチン、フラルタドン、ニトロフラゾンを対象として、『食品にお
8 いて「不検出」とされる農薬等の成分である物質』に指定され、これらの代謝物である AOZ、AHD、AMAZ 及
9 び SEM を分析対象化合物として規制が実施されている。

10 今般提出された資料からは、フラゾリドン及び AOZ については遺伝毒性発がん性を否定できず、ADI を設
11 定することは適当でないとする薬食審の評価を変更する根拠は認められない。

12 ニトロフランチン及び AHD については、NTP の報告においてマウス、ラットで発がん性が認められてい
13 るが、そのメカニズムに関する情報は全く得られていないため、ADI の設定が可能であるかどうかは判断で
14 きない。JECFA においてはニトロフラゾンの評価書中でニトロフランチンはマウスにおける良性腫瘍の増加
15 に対する影響は否定できず、NOEL も求められないと評価され、EMA においても ADI 及び MRL を設定せ
16 ず、食用動物への使用を禁じていることを考慮すると、現時点において、ADI を設定することは適当でない
17 と考えられる。

18 フラルタドン及び AMAZ については、ほとんど情報が得られていない状況にあり、評価を行うことは出来
19 ない。これらについて EMA では、ADI 及び MRL は設定せず、食用動物への使用を禁じている。ニトロフラ
20 ン類の多くが発がん性を疑われる物質であることを考慮すると、必要な科学的知見が得られるまで、ADI を
21 設定することは適当でないと判断するのが適当であると考えられる。

22 ニトロフラゾンについては、従前の、発がん性のメカニズムは明らかでないものの、入手された資料から
23 見る限り、ADI を設定することは適当でないとする薬食審の評価を変更する根拠は認められない。SEM につ
24 いては、ニトロフラゾンの使用に伴うもの以外の暴露経路が明らかにされたことを踏まえて、2003 及び 2005
25 年に EFSA において新たにリスク評価が実施されている。また我が国において、新たに *in vivo* の遺伝毒性
26 試験が報告されたことから、以下に別途考察を行った。

27 28 【SEM について】

29 上記の通り、現時点において入手された科学的知見からは、ニトロフラゾンについては ADI あるいは TDI
30 の設定は適当でないと判断され、不検出の対象として管理されることが適当である。しかしながら、現在ニ
31 トロフラゾンの分析対象とされている SEM については、ニトロフラゾンの使用の有無にかかわらずいくつかの
32 食品から検出されることが分かっており、SEM そのもののリスクの程度によっては分析対象としては適切で
33 ない可能性がある。このことから、厚生労働省からの意見聴取要請にあたって、別途の管理手法を検討して
34 いることが示され、あわせて SEM についての評価も求められている。

35 SEM そのもののリスクについては、発がん性、遺伝毒性、催奇形性の限られた知見しか得られていない。
36 動物実験で認められた発がん性については、雌マウスで 94～130mg/kg 体重/日程度という高用量投与で対
37 照群においても認められた肺腫瘍の発生頻度の増加が認められたもので、強いものではないと考えられる。
38 遺伝毒性については、*in vitro* のいくつかの試験では弱い陽性結果が見られるものの、複数の *in vivo* 試験
39 で陰性であり、現時点では *in vivo* において遺伝毒性を有することを示唆する報告はない。このため SEM が
40 *in vivo* において問題となる遺伝毒性を示す可能性は低く、SEM の暴露が EFSA 等で報告されている程度で
41 あれば、生体にとって特段問題となる遺伝毒性を示すことはないと考えられる。催奇形性については約
42 30-40mg/kg 体重/日の NOAEL が示されており、投与期間や観察項目が不十分であることについても、10 倍
43 程度の安全率を考慮すれば問題がない程度と考えられる。このように、現在得られている知見から SEM につ
44 いて ADI あるいは TDI を設定するに足る十分な知見は得られていないが、その中で現時点において可能
45 と考えられる評価を行うとすると、EFSA で実施されたものと同様、動物実験で認められた各種の知見と、食

品から想定される暴露量との比較となる。

EFSA の評価では、体重当たりで最も多く SEM を摂取する可能性があるのは乳児であるが、最悪ケースの推定でもその摂取量は 0.35～1.4µg/kg 体重/日であった。この暴露量はマウスで弱い発がん性が認められた用量と少なくとも 5 桁のマージンがある。催奇形性についても 3 桁もしくはそれ以上のマージンがあると記載している。

発がん性と催奇形性に関連する知見が限定的であるが得られているものの、詳細な毒性情報が得られていないと言う状況において実施するものとしては、EFSA が実施した保守的な試算暴露量と、得られている範囲での動物における毒性発現用量との比較をもってリスクの程度を判断する手法は合理性があり、また一定の科学的根拠があるリスク評価であると考えられる。国内における SEM の食品中の含有量、暴露量が EFSA で検討されているものと同程度であれば、暫定的評価として、SEM が毒性影響を示す量と暴露量の間の MOEⁱは大きく、リスクとしては小さいものであると判断できると考えられる。

なお、ニトロフラゾンそのものを測定対象とし、規制する場合は、その代謝物の暴露量も含めて毒性影響が十分に低いレベル、少なくとも SEM について上記で考察された食品中の含有量及びヒトが摂取する暴露量以下になると考えられるレベルの検出感度が得られる分析法を採用すべきである。

【食品健康影響評価について】

以上のことから、ニトロフラン類(フラゾリドン、ニトロフラントイン、フラルタドン、ニトロフラゾン) 及びその代謝物である 3-アミノ-2-オキサゾリドン、1-アミノヒダントイン、3-アミノ-5-モルフォリノメチル-2-オキサゾリドンに ADI を設定することは適当でない。

SEM についてはニトロフラゾンの使用にかかわらず複数種の食品から暴露されることが想定されるが、SEM の食品中の含有量、暴露量が EFSA で検討されているものと同程度であれば、SEM が生体に毒性影響を示す量と暴露量の間の MOE は大きく、リスクとしては小さいものと考えられた。

しかしながら、本評価はあくまで暫定的なものであり、現在得られている知見からは ADI あるいは TDI を設定することは出来ないことから、今後、代謝・毒性(短期・長期毒性、遺伝毒性、生殖発生毒性等)等の知見の収集が引き続き行われるべきである。

また、国内における SEM の発生源、食品中の含有状況や乳幼児を含めたヒトの食品からの暴露量等について把握し、必要に応じて発生源対策や暴露の低減措置等が行われるべきであることを申し添える。

暴露量については、当評価結果を踏まえ暫定基準値の見直しを行う際に確認することとする。

ⁱ Margin Of Exposure ; 暴露マージン

1 <参考文献>

2 (1) ; 薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会毒性部会取りまとめ(平成 15 年 6 月 27 日)

3 (2) ; Nitrofurantoin (Nitrofurazone) (WHO Food Additives Series 31)

4 (3) ; Furazolidone (WHO Food Additives Series 31)

5 (4) ; COMMITTEE FOR VETERINARY MEDICINAL PRODUCTS ; NITROFURANS SUMMARY REPORT

6 (5) ; COMMITTEE FOR VETERINARY MEDICINAL PRODUCTS ; FURAZOLIDONE SUMMARY REPORT

7 (6) ; COMMISSION DECISION of 13 March 2003 ; amending Decision 2002/657/EC as regards the setting of minimum required

8 performance limits (MRPLs) for certain residues in food of animal origin

9 (7) ; Statement of the Scientific Panel on Food Additives, Flavourings, Processing Aids and Materials in Contact with Food updating

10 the advice available on semicarbazide in packaged foods (Adopted on 1 October 2003)

11 (8) ; Opinion of the AFC Panel related to Semicarbazide in food

12 (9) ; Toxicology and Carcinogenesis Studies of Nitrofurantoin (CAS No. 67-20-9) in F344/N Rats and B6C3F₁ Mice (Feed Studies)

13 (10) ; Quillardet P et al : Organ-targeted mutagenicity of nitrofurantoin in Big Blue transgenic mice. ; Mutagenesis. 2006

14 Sep;21(5):305-11

15 (11) ; IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Man (1976)

16 (12) ; Parodi S., et al. ; DNA-damaging Activity *in vivo* and Bacterial Mutagenicity of Sixteen Hydrazine Derivatives as Related

17 Quantitatively to their Carcinogenicity : Cancer Res. 1981(41), 1469-1482

18 (13) ; Bacterial reverse mutation test with Semicarbazide ; TNO report V 5005/11 (2004)

19 (14) ; Chromosomal aberration test with Semicarbazide in Chinese Hamster Ovary(CHO) cells ; TNO report V 5002/09 (2004)

20 (15) ; Gene mutation test at the TK-locus of L5178Y cells with Semicarbazide ; TNO report V 5003/09 (2004)

21 (16) ; Hirakawa K., et al. : Carcinogenic semicarbazide induces sequence-specific DNA damage through the generation of reactive

22 oxygen species and the derived organic radicals ; Mut. Res. 2003(536), 91-101

23 (17) ; 平成 15 年度セミカルバジドの調査及び毒性試験；セミカルバジドの *in vivo* ラット肝不定期 DNA 合成試験

24 (18) ; 平成 15 年度セミカルバジドの調査及び毒性試験に係る試験等；セミカルバジドのマウスを用いる小核試験

25 (19) ; 平成 15 年度食品・添加物等規格基準に関する試験検査等；セミカルバジドのトランスジェニックマウスを用いる

26 遺伝子突然変異試験

27 (20) ; 塩酸セミカルバジドの動態試験；ラットにおける ¹⁴C-塩酸セミカルバジド単回経口投与時の吸収、分布及び排泄

28 (21) ; Steffek AJ et al ; Cleft palate in rodents after maternal treatment with various lathyrogenic agents. : Teratology. 1972

29 Feb;5(1):33-8.

30 (22) ; 平成 15 年度食品・添加物等規格基準に関する試験検査等の実施について；ベビーフード中のセミカルバジド含有

31 量実態調査

32 (23) ; Hoenicke K et al ; Formation of semicarbazide (SEM) in food by hypochlorite treatment: is SEM a specific marker for

33 nitrofurazone abuse? ; Food Addit Contam. 2004 Jun;21(6):526-37.

34

35

36