

図表 2 Appendix B: 毒性試験結果サマリー

**Appendix B**

**Toxicological summaries**

The summaries of experimental data form the bulk of a working paper. They are aimed at giving an overview of the essential elements of an experimental study that sometimes is several hundred pages long. Studies that are used for setting the ADI or are otherwise used for making a determination of safety should be summarized in more detail than those that are peripheral to the safety evaluation.

A good scientific summary contains the following elements:

- (a) Purpose or objective of the experiment.
- (b) Identification and purity of the substance administered.
- (c) Designation of animal species and strain employed in the study.
- (d) Number of animals in test and control groups.
- (e) Sex.
- (f) Dose levels of treatment (preferred units are mg test substance/kg of body weight per day).
- (g) Route(s) of administration.
- (h) Duration of treatment and/or the experiment, if they differ in length.
- (i) Biological parameters examined.
- (j) Effects observed (percent survival should be included in long-term toxicity/carcinogenicity studies if affected by treatment)
- (k) Author's conclusions and conclusions of the Temporary Adviser, if different from those of the author (if the conclusions are not straightforward, identify who made them).
- (l) Reference(s).

The following paragraph is an example of a typical summary of a toxicity study prepared by a Temporary Adviser in preparation for a meeting of the Committee.

**2.2.3 Long-term studies of toxicity and carcinogenicity**

*Rats*

Groups of 45 male and 45 female inbred Wistar rats were given diets containing stevioside (purity, 85%) at 0, 0.2, 0.6, or 1.2% (equivalent to 100, 300, and 600 mg/kg bw per day) for two years. After 6, 12, and 24 months, blood was obtained from the tail vein of five male and five female rats in each dose group for haematological and clinical biochemical tests. One week later, these rats were housed in metabolism cages for urine collection and were then killed for further biochemical, pathological, and histopathological examination. All surviving animals were killed at two years. Growth, food use and consumption, general appearance, and mortality were similar in treated and control groups. The mean life span of rats given stevioside was not significantly different from that of the controls. No treatment-related changes were observed in haematological, urinary, or clinical biochemical values at any stage of the study. The incidence and severity of non-neoplastic and neoplastic changes were unrelated to the concentration of stevioside in the diet. The NOEL was 1.2%, equivalent to 600 mg/kg bw per day (Xili et al., 1992).

毒性試験サマリーに含まれるべき要素

毒性試験結果サマリー文の一例

## 2) 2.4.2.1 急性毒性試験

- ・ 急性毒性の結果は、LD50(半数致死量)と LC50(半数致死濃度)で表すこと。
- ・ Appendix C に示すような表形式でまとめること。

図表 3 Appendix C : 急性毒性データの示し方

| Appendix C   |               |                 |                               |  |
|--|---------------|-----------------|-------------------------------|--|
| Tabular representation of acute toxicity data          |               |                 |                               |  |
| Table 1. Acute toxicity of hydrogenated glucose syrups |               |                 |                               |  |
| Species  | Sex           | Route           | LD <sub>50</sub><br>(g/kg bw) | Reference  |
| Mouse  | Male & female | Oral            | 16-24                         | Dupas, 1982a<br>Yamasaki et al.,<br>1973a                  |
| Mouse  | Male          | Intraperitoneal | 11                            | Dupas, 1982a   |
| Mouse  | Female        | Intraperitoneal | 18                            | Dupas, 1982a   |
| Mouse  | Male & female | Intravenous     | 6.4-12                        | Dupas, 1982a<br>Yamasaki et al.,<br>1973b                  |
| Mouse  | ?             | Subcutaneous    | >20                           | Yamasaki et al.,<br>1973b                                  |
| Rat  | Male & female | Oral            | 24-24 3                       | Dupas, 1982b<br>Nishibori, 1968<br>Kotani & Chiba,<br>1968 |
| Rat  | Male & female | Intraperitoneal | 13                            | Dupas, 1982b   |

### 3) 2.4.2.2 短期毒性試験

- ・ 規則的反复投与(ほとんどの小動物種：1年間、犬や霊長類：2年間)による毒性試験結果については本章でまとめる。
- ・ 形式は「長期毒性/発がん性試験」と同様であるため、そちらを参照のこと。

### 4) 2.4.2.3 長期毒性/発がん性試験

- ・ 寿命までの長期間にわたる規則的反复投与を行う毒性試験結果については本章でまとめる。
- ・ 具体的に盛り込む内容と形式例は以下の通り。
  - 動物種、系統、性別・投与レベル別動物数（対照群含む）
  - 投与期間、観察期間
  - 試験した生物学的パラメータのリスト、採用した手技、その他試験のデザインに関連する情報（病理組織学的試験を実施した場合は、その組織についても明記する）
  - 観察された毒性レベル（統計学的処理を行うこと）
  - 無影響量 NOELs

#### 5) 2.4.2.4 遺伝毒性試験

- ・ 理解しやすくするために結果は表にまとめる。記載例は Appendix D を参照のこと。
- ・ 重要と考えられるが表にするのが難しいものについては、段落を分けて詳細を記述すること。

図表 4 Appendix D : 遺伝毒性データの示し方

| Appendix D  |  |              |   |          |                                     |
|---|--|--------------|---|----------|-------------------------------------|
| Tabular representation of genotoxicity data   |  |              |   |          |                                     |
| Table 2. Results of assays for genotoxicity with some low-molecular-mass isoparaffins |  |              |   |          |                                     |
| Test system   | Test object  | Chain length | Concentration   | Results  | Reference                           |
| In vitro  |  |              |   |          |                                     |
| Reverse mutation <sup>a</sup>   | <i>S. typhimurium</i><br>TA98, TA100,<br>TA1535, TA1537,<br>TA1538 | C11-13       | 7.7-77 000 µg/<br>plate                                     | Negative | Xerox Corp.<br>(1981)               |
| Reverse mutation <sup>a</sup>   | <i>S. typhimurium</i><br>TA98, TA100,<br>TA1535, TA1537,<br>TA1538 | C10-11       | 7.5-75 000 µg/<br>plate                                     | Negative | Xerox Corp.<br>(1983)               |
| Reverse mutation <sup>a</sup>   | <i>S. typhimurium</i><br>TA98, TA100,<br>TA1535, TA1537,<br>TA1538 | C10-13       | ≤10 000 µg/<br>plate  | Negative | Phillips<br>Petroleum<br>Co. (1990) |
| Reverse mutation <sup>a</sup>   | <i>E. coli</i> , WP2   | C10-11       | 7.5-75 000 µg/<br>plate                                     | Negative | Xerox Corp.<br>(1981)               |
| DNA damage  | <i>E. coli</i> , Pol A <sup>+</sup> /A <sup>-</sup>                | C10-11       | 7.5-75 000 µg/<br>plate                                     | Negative | Xerox Corp.<br>(1981)               |
| DNA damage  | <i>E. coli</i> , Pol A <sup>+</sup> /A <sup>-</sup>                | C11-13       | 7.7-77 000 µg/<br>plate                                     | Negative | Xerox Corp.<br>(1981)               |
| Cell mutation <sup>a</sup>  | Mouse lymphoma<br>L5178Y cells, Tk <sup>+</sup> -<br>locus         | C10-13       | ≤1000 µg/ml   | Negative | Phillips<br>Petroleum<br>Co. (1990) |
| Sister chromatid exchange <sup>a</sup>  | Chinese hamster<br>ovary cells                                     | C10-13       | ≤50 µg/ml   | Negative | Phillips<br>Petroleum<br>Co. (1990) |
| In vivo   |  |              |   |          |                                     |
| Micronucleus formation <sup>b</sup>   | Mouse bone<br>marrow   | C10-11       | 19 g/kg bw,<br>intaperitoneally                             | Negative | Xerox Corp.<br>(1983)               |
| Dominant lethal mutation  | Sprague-Dawley<br>rat  | C10-11       | 0, 300, 900<br>mg/kg feed,<br>6h/day, 5 d, by<br>inhalation | Negative | Exxon Corp.<br>(1978)               |

<sup>a</sup> In the presence and absence of Arochlor-induced rat liver microsomal fraction  
<sup>b</sup> Killed at 48 and 72 h

#### 6) 2.4.2.5 生殖毒性試験

- ・ 多世代生殖毒性試験と発生毒性試験の 2 種類がある。
- ・ 多世代生殖毒性試験では、生殖機能、発情サイクル、配偶行動、受胎、出産、授乳、及び仔の成長・行動に関する情報を示す。
- ・ 発生毒性試験では、胎児の発生への影響に関する情報を示す。

#### 7) 2.4.2.6 特殊試験

- ・ 神経毒性、免疫毒性、アレルゲン性のような特殊な試験はアルファベット順に並べて表示すること。

#### 8) 2.4.3 ヒトでの所見

- ・ ヒトを対象として行われた全ての試験（ただし、「2.4.1 生化学的観点」「2.4.2.6 特殊試験」で報告すべき項目以外）について、このセクションで報告すること。
- ・ 疫学調査、臨床経験、ケーススタディによる観察、職業ばく露におけるヒトへの健康影響研究、中毒に関する報告、ボランティアによるアレルギー試験が含まれる。
- ・ 性、年齢、身体の状態等についての詳細な情報は健康影響を評価する上で重要である。

## 2. 4. 2 Guidance for Industry: Questions and Answers About the Petition Process (FDA) 「産業界のためのガイダンス：申請プロセスについての Q&A」<sup>7</sup>

本 Q&A は米国食品医薬品局 (FDA) のホームページ上に掲載されている各種ガイダンスのひとつであり<sup>8</sup>、電子形式で承認申請を行う食品添加物メーカー等の製造業者を支援することを目的としている。

### (1) 資料構成

1. はじめに
2. Q&A
  - A. いつ食品添加物や色素添加申請書を提出しなければなりませんか？
  - B. 食品添加物の安全性の事務所に申請書を提出する必要がある場合、誰に連絡する必要がありますか？
  - C. 申請書を提出する必要があると判断した場合、どこから始めればいいですか？
  - D. 情報公開法の下で要求された場合、申請書に記載されている情報は、開示されますか？
  - E. 申請書を提出した後、誰が申請の窓口となりますか？
  - F. **どのように申請添加物の安全性使用を支持する科学的資料を用意するのですか？**
  - G. 添加物の安全性評価の基本的な要素は何ですか？
  - H. 添加物のための行政記録とはどういう意味ですか？
  - I. 食品添加物および/または色素添加物の申請における不可欠な要素は何ですか？
  - J. どのように適切な化学情報を含む申請書を準備するのですか？
  - K. どのように十分な環境アセスメントを準備するのですか？
  - L. **どのように申請した食品添加物の安全性を支持するのに必要な毒性情報の種類を決定するのですか？**
  - M. **どのように安全性を確立するために必要な情報を提供する毒性試験を設計するのですか？**
  - N. **その他、毒性情報の提出を成功させるために推奨されることは何ですか？**
  - O. **どのように毒性試験の結果を発表し、議論するべきですか？**
  - P. **毒性試験における投与による影響の重要性を評価する際に考慮すべき要因は何ですか？**
  - Q. 申請書が OFAS によって受理された後の申請プロセスの簡単な概要を教えてくださいませんか？
  - R. 食品添加物と色素添加物の承認プロセスのいくつかの特徴は何ですか？

<sup>7</sup> Guidance for Industry: Questions and Answers About the Petition Process  
<http://www.fda.gov/Food/GuidanceRegulation/GuidanceDocumentsRegulatoryInformation/IngredientsAdditivesGRASPackaging/ucm253328.htm#answerF>

<sup>8</sup> Guidance Documents & Regulatory Information by Topic: Food Guidance Documents  
<http://www.fda.gov/Food/GuidanceRegulation/GuidanceDocumentsRegulatoryInformation/default.htm>

S. 申請の通知が発行された後、最終的な規則が連邦官報に掲載されるまで、通常はどのくらいかかりますか？

## (2) 概要

### 1) F. どのように食品添加物の安全性使用を支持する科学的資料を用意するのですか？

- ・ 申請書の作成に関する参考資料のリンクを貼っている。
- 毒性学に関するガイドライン資料
  - ・ Preparation of Food Contact Notifications for Food Contact Substances: Toxicology Recommendations (September 1999; April 2002)  
「食品接触物質のための食品接触物質の届出のガイドライン」
  - ・ Summary Table of Recommended Toxicological Testing for Additives Used in Food (1983; Revised June 2006)  
「食品添加物に対し、推奨される毒性試験の概要表」
  - ・ 1993 Draft Redbook II, Redbook 2000  
「食品添加物と色素添加物の毒性の安全性評価原則」
  - ・ Templates for Reporting Toxicology Data.  
「毒性データ報告書のテンプレート<sup>9</sup>」  
以下のタイトルの毒性試験報告書のテンプレートが Word ファイルで提供されている。
    1. 亜慢性毒性試験(齧歯類)
    2. 亜慢性毒性試験(犬)
    3. 遺伝毒性試験： *in vitro* での細菌の復帰突然変異試験
    4. 遺伝毒性試験： *in vitro* でのマウスリンパ腫細胞チミジンキナーゼ遺伝子変異アッセイ
    5. 遺伝毒性試験：ほ乳類赤血球小核試験
    6. 遺伝毒性試験： *in vitro* でのほ乳類細胞染色体異常試験
    7. 胎内における慢性毒性試験
    8. 慢性(1年)毒性試験(犬)
    9. 2世代生殖毒性試験その他、実験結果計算ガイドシートが Excel ファイルでダウンロード可能となっている。
- 化学物質に関するガイドライン資料
  - ・ Enzyme Preparations: Recommendations for Submission of Chemical and Technological Data

<sup>9</sup> Templates for Reporting Toxicology Data

<http://www.fda.gov/Food/GuidanceRegulation/GuidanceDocumentsRegulatoryInformation/IngredientsAdditivesGRASPackaging/ucm094188.htm>

for Food Additive Petitions and GRAS Notices (January 1993; Revised July 2010)「食品添加物申請の際の酵素製剤に関する化学的技術的データに関するガイドライン」

- Preparation of Food Contact Notifications and Food Additive Petitions for Food Contact Substances: Chemistry Recommendations (April 2002; Revised December 2007)  
「食品接触物質のための食品接触物質の届出のガイドライン」
- Use of Recycled Plastics in Food Packaging: Chemistry Considerations (August 2006)
- Recommendations for Submission of Chemical and Technological Data for Direct Food Additive Petitions (March 2006; Revised March 2009)
- Estimating Dietary Intake of Substances in Food (September 1995; Revised August 2006)

➤ 色素添加物の申請に関するガイドライン資料

➤ 環境ガイドライン資料

2) L. どのように申請した食品添加物の安全性を支持するのに必要な毒性情報の種類を決定するのですか？

- 以下の4つの回答を提示している。
- FDAの毒性試験ガイドライン(1993 draft Redbook and Redbook 2000)を参照のこと。
- その他の毒性試験に関するガイドラインのリンク  
U.S. Environmental Protection Agency (EPA)  
Organization for Economic Cooperation and Development (OECD)  
International Conference on Harmonization (ICH)
- 非臨床試験に関する GLP 規則(21 CFR part 58)
- 毒性試験の設計と結果の評価は、ガイドラインに執着するのではなく、科学的原理に基づいて行われるべきである。

3) M. どのように安全性を確立するために必要な情報を提供する毒性試験を設計するのですか？

- Office of Food Additive Safety (OFAS)に相談することを勧めている。

4) N. その他、毒性情報の提出を成功させるために推奨されることは何ですか？

- 研究の一覧及び、既存の毒性データの概要を提供すること。
- 探索した食品添加物や主要な不純物に関する毒性学の文献調査結果を提出すること。その際、Science Direct、PubMed、および Tox line などのデータベースを使用することを推奨する。

- ・ 公表データだけでなく、安全性評価に重要な未公表データを含む毒性試験報告書を提出すること。
- ・ それぞれの毒性試験を独自に同定すること。
- ・ 引用された研究や文献の英語のコピーを提供すること。

5) O. どのように毒性試験の結果を発表し、議論すべきですか？

- ・ 評価者が独立して結果を評価し、実証することができるデータを盛り込むこと。以下例示：
  1. 投与した被験物質の濃度と安定性に関する生データ
  2. 全てのドポイントにおける各動物のデータ
  3. 病理学者による所見と非腫瘍性及び腫瘍性病変に関するまとめの表
- ・ 結果についてディスカッションすること。以下例示：
  1. 統計学的有意性に関するコメント
  2. 必要に応じて過去のデータ、コントロールデータの提供
  3. 根拠のない記述はしてはいけない。データの解釈は、科学的に健全で、明確に説明され、査読された参照論文によって支持されてなければならない。

6) P. 毒性試験における投与による影響の重要性を評価する際に考慮すべき要因は何ですか？

- ・ 投与群と対照群の差が有意であるかを評価する際、考慮すべき事項は、以下の5つ：
  - 用量依存傾向
  - 再現性
  - 関連する知見
  - 大きさや種類の違い
  - オス、メス、両方の性での発生

出典： *Principles and Methods of Toxicology*, Third Edition (1994), Chapter 17, page 668.



2. 4. 3 Guidance for Industry: Summary Table of Recommended Toxicological Testing for Additives Used in Food (FDA) <sup>10</sup> 「産業界のためのガイダンス：食品添加物に対して推奨される毒性試験の概要表」

本ガイダンスは FDA のホームページ上に掲載されている各種ガイダンスのひとつであり、食品添加物及び色素添加物の安全性に関する懸念レベル（Concern level）に応じて最低限実施すべき毒性試験に関する情報を提供するものである。

(1) 資料構成

|                             |
|-----------------------------|
| 1. はじめに                     |
| 2. 背景                       |
| 3. 食品添加物の推奨毒性試験概要表          |
| 4. ヒトへのばく露と化学構造との関係による懸念レベル |

(2) 概要

1) 3. 食品添加物の推奨毒性試験概要表

| 毒性試験                         | 懸念レベル低（Ⅰ） | 懸念レベル中（Ⅱ） | 懸念レベル大（Ⅲ） |
|------------------------------|-----------|-----------|-----------|
| 遺伝毒性試験                       | X         | X         | X         |
| 短期毒性試験（齧歯類）                  | X (c)     | X (a, c)  | X (a, c)  |
| 亜慢性毒性試験（齧歯類）                 |           | X (c)     | X (a, c)  |
| 亜慢性毒性試験（齧歯類以外）               |           | X (c)     | X (a, c)  |
| 1年毒性試験（齧歯類以外）                |           |           | X (c)     |
| 亜慢性毒性試験もしくは、慢性毒性/発がん性試験（齧歯類） |           |           | X (c)     |
| 発がん性試験（齧歯類）                  |           |           | X         |
| 生殖毒性試験                       |           | X (c)     | X (c)     |
| 発生毒性試験                       |           | X (b, c)  | X (b, c)  |
| 薬物動態試験                       |           | X (b)     | X (b)     |
| 人体試験                         |           |           | X (b)     |

a：予備試験として必要と考えられる場合

b：利用可能なデータもしくは情報によって示唆される場合

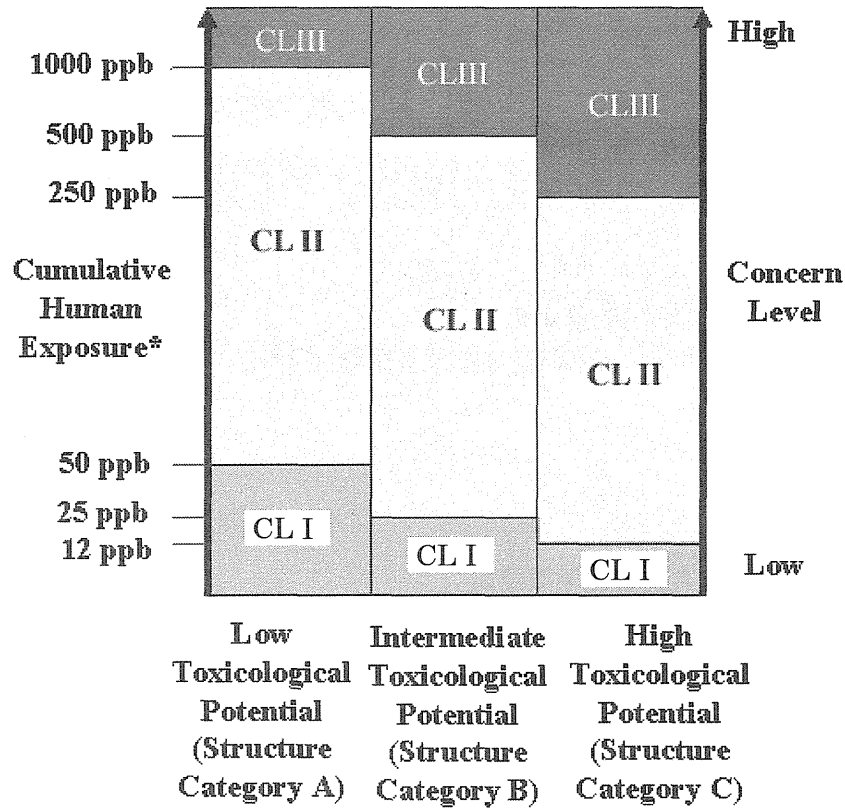
c：神経毒性試験、免疫毒性試験のためのスクリーニングを含む

※毒性試験ごとにリンクが貼られており、そこで試験内容の詳細が説明されている。なお、リンク先は Redbook 2000（本報告書 2.4.4 を参照のこと）。

<sup>10</sup> Guidance for Industry: Summary Table of Recommended Toxicological Testing for Additives Used in Food  
<http://www.fda.gov/Food/GuidanceRegulation/GuidanceDocumentsRegulatoryInformation/IngredientsAdditivesGRASPackaging/cm054658.htm>

2) ヒトへのばく露と化学構造との関係による懸念レベル

- 食品添加物及び色素添加物の懸念レベルについて、ヒトへのばく露と化学構造との関係から示した図表を掲載。



\*ヒトへの累積ばく露は 10 億分の 1 (ppb、mg/食品 1kg に相当) で表している

## 2.4.4 Guidance for Industry and Other Stakeholders: Toxicological Principles for the Safety Assessment of Food Ingredients (Redbook 2000) (FDA)「産業界、その他利害関係者のためのガイダンス：食品原料の毒性安全性評価の原則」

本ガイダンスはFDAのホームページ上に掲載されている各種ガイダンスのひとつであり、①毒性試験の必要性の判定、②毒性試験の設計・実施・結果報告、③データの統計的解析の実施、④組織学的データのレビュー、⑤FDAへの情報提出のそれぞれについて、申請者を支援することを目的としている。

### (1) 資料構成

1. はじめに(2007年7月)
2. 食品材料の安全性評価の支援のための毒性情報の概要
3. 推奨毒性試験(2007年7月)
4. 毒性試験のガイドライン
  - A. はじめに(2003年11月)
  - B. 毒性試験の全般的な推奨
    1. 毒性試験の設計と実行に関する全般的なガイドライン(2003年11月)
    2. 毒性試験の結果報告のガイドライン(2003年11月)
    3. 毒性試験における病理検討事項(2000年7月)
    4. 毒性試験における統計的検討事項(2000年7月)
    5. 毒性試験における飼料
  - C. 特定毒性試験のガイドライン
    1. 遺伝的毒性の短期毒性試験(2000年7月)
      - a. 細菌における復帰突然変異試験(2000年7月)
      - b. *In vitro*における哺乳類細胞の染色体異常試験(2003年11月)
      - c. *In vitro*におけるマウスリンパ腫細胞TK+/-遺伝子変異試験
      - d. *In vivo*における哺乳類赤血球小核試験(2000年7月)
    2. 急性経口毒性試験
    3. 短期毒性試験
      - a. 齧歯動物における短期毒性試験(2003年11月)
      - b. 齧歯動物以外における短期毒性試験(2003年11月)
    4. 亜慢性毒性試験
      - a. 齧歯動物における亜慢性毒性試験(2003年11月)
      - b. 齧歯動物以外における亜慢性毒性試験(2003年11月)
    5. 慢性毒性試験
      - a. 齧歯動物における慢性毒性試験(2007年7月)
      - b. 齧歯動物以外における1年毒性試験(2003年11月)
    6. 齧歯動物における発がん性試験(2006年1月)

- 7. 齧歯動物における長期毒性/発がん性混合試験(2007年7月)
- 8. 齧歯動物の胎内ばく露における発がん性試験(2007年7月)
- 9. 生殖、発生毒性試験
  - a. 生殖試験に関するガイドライン(2000年7月)
  - b. 発生毒性試験におけるガイドライン(2000年7月)
- 10. 神経毒性試験(2000年7月)
- 5. 追加試験
  - A. はじめに
  - B. 薬物動態試験
  - C. 免疫毒性試験
- 6. ヒトでの試験
  - A. 食品材料の臨床評価
  - B. 疫学調査(2001年10月)
- 7. 用語辞典(2004年4月)

## (2) 概要

### 1) 4. 毒性試験のガイドライン B. 毒性試験の全般的な推奨

- 1. 毒性試験の設計と実行に関する全般的なガイドライン
  - 各種毒性試験に共通する基本的事項として、①GLP、②実験動物（飼育・維持・供給、種・系統・性別の選定、週齢、数および性別、感染動物、動物の識別、ケージ、食餌、対照群、死亡率、Autolysis、剖検）、③試験物質（識別、組成・純度、保存状態、期限）、④実験の設計（期間、投与方法、投与レベル）、⑤観察及び臨床試験（実験動物の観察、体重と食餌摂取量、臨床試験）⑥剖検及び顕微鏡検査（剖検、臓器重量、顕微鏡検査用組織の準備、顕微鏡検査による評価、リンパ器官の病理組織）についてそれぞれ解説している。
- 2. 毒性試験の結果報告のガイドライン(2003年11月)
  - 結果報告書に盛り込むべき具体的項目が記述されている。
    - I. 研究の識別と方法
      - A. 研究のタイトルとレポート番号
      - B. 試験機関の名前と住所
      - C. 試験期間
      - D. 日程(順化、投与開始、終了、研究報告)
      - E. 担当者の署名と身分証明
        - 1. 試験実施
        - 2. データ分析
        - 3. 病理組織

- 4. レポート執筆
- 5. レポートに含まれるその他の情報
- II. 非臨床試験のための GLP 規範
- III. 保証に関する記述
- IV. プロトコルと修正事項
- V. 記録の保管、訂正、維持
- VI. まとめと結論
  - A. 方法
  - B. 数値データの概要と分析
  - C. 記述データ(観察など)の概要と分析
  - D. 標的器官と無影響量(NOELs)を含む、分析から導かれた結論
- VII. 試験物質
  - A. 識別(化学名、CAS 登録番号、分子構造、分子量、化学組成の定量、定性的分析)
  - B. 製造情報(ロット番号、純度、消費期限、安定性、保管方法)
  - C. 物性(状態、色、溶解度、pH、沸点と融点)
  - D. 被験物質を投与する際に用いられる希釈剤、乳化剤、賦形剤、又は他の物質の特定
  - E. 投与形態における試験材料のサンプリング
- VIII. 実験動物
  - A. 種や株
  - B. 動物の提供元
  - C. 検疫手続きといった予備検査の記述
  - D. 試験群と対照群に、動物をランダム化する際に用いられる方法の記述
  - E. 研究の開始時と終了時に、すべての処理された被験物質および対照群の雌雄各動物の数、年齢、状態
  - F. 飼料(食餌、水)
  - G. ケージ飼いの条件
- IX. 方法
 

以下に示す事項は、試験報告書に含められるべきだが、その限りではない。

  - A. Redbook2000 のガイドラインからの逸脱事項
  - B. 実験設計と手順(完全な記述)
    - 1. 研究の期間
    - 2. 投薬管理におけるデータ(濃度、投与経路、頻度、時間など)
    - 3. 試験動物の観察
    - 4. 検体のサンプリング条件(血液学、臨床化学、尿検査、その他)
    - 5. 統計解析
- X. 結果と考察
  - A. 個々の動物のデータや結果は、独立した評価を可能にするため、表形式で、かつ十分詳細に提供されなければいけない。
  - B. 個々の動物からの集計データは、性別と用量群でまとめた表形式で提供されなければいけない。

- C. すべての数値結果は、適切な統計的手法により評価されなければいけない。
- D. 結果の評価には、最低限以下のことが含まれなければならない。
  1. 被験物質と一般的、具体的な副作用との関係についての考察
  2. 一連の試験の間と死後における臨床観察についての考察
  3. 被験物質の無影響量(NOEL)、および任意の複雑かつ/またはその決定を取り巻くあらゆる論争の問題の議論に関する結論

□. 参照

- ・ 3. 毒性試験における病理学的検討事項
  - 病理データのレビューのための手順説明
  - 病理データを報告するための一般的推奨事項
  - 病理データ報告の際の一般的推奨事項
- ・ 4. 毒性試験における統計学的検討事項
  - 具体的な統計学的検討事項

2) 4. 毒性試験のガイドライン C. 特定毒性試験のガイドライン

- ・ 遺伝毒性試験
  - FDA は、累積推定摂取量が全食事中の 0.5ppb に相当する 1 日 1 人当たり 1.5μg を越える場合に、全ての短期遺伝毒性試験を実施することを推奨している。
  - 推奨テスト
    - ・ 累積推定摂取量が 50ppb(1 日 1 人当り 150ug)を超える場合に推奨する遺伝毒性試験は以下の通りである。
      - a. 細菌における遺伝子変異試験
      - b. ほ乳類細胞を用いた *in vitro* 染色体損傷試験、またはマウスリンパ腫細胞のチミジンキナーゼ遺伝子変異試験(後者が望ましい)
      - c. ほ乳類造血細胞を使用した *in vivo* 染色体損傷試験
    - ・ 累積推定摂取量が 50ppb 以下だが、0.5ppb を越える時は、上記試験のうち、“a”と“b”の試験を行うことが推奨される。
  - 遺伝子損傷の種類
    - ・ 細菌における遺伝子変異試験
    - ・ *In vitro* 哺乳類細胞変異原性試験
    - ・ *In vitro* マウスリンパ腫細胞 TK+/-遺伝子変異試験
    - ・ *In vitro* 哺乳類染色体異常試験
  - 試験の修正、変更
    - a. 細菌試験の限定的な有効性
    - b. 変異原性や癌原性の可能性を示唆する化合物構造
    - c. 標準的な *in vivo* 試験の限界
    - d. 発がん性の証拠
    - e. 固有の構造を持つ新規の化合物

➤ 個別の具体的な試験(4.C.1.a~d)

- ・ 細菌における遺伝子変異試験
- ・ *In vitro* 哺乳類細胞変異原性試験
- ・ *In vitro* マウスリンパ腫細胞 TK+/-遺伝子変異試験
- ・ *In vitro* 哺乳類染色体異常試験

※以下に「細菌における遺伝子試験」の項目を示す。

1. 目的
2. 定義
3. 初期検討事項
4. 試験方法
  - A. 原理
  - B. 解説
    1. 準備
      - a. 細菌
      - b. 培地
      - c. 代謝活性
      - d. 被検物質、準備
    2. 試験条件
      - a. 溶媒
      - b. ばく露濃度
      - c. コントロール
  - C. 手順
    1. 検体の取扱い
    2. インキュベーション
5. データと報告
  - A. 結果の取扱い
  - B. 結果の評価、解釈
  - C. 試験報告作成

短期毒性試験、亜慢性毒性試験、慢性毒性試験、齧歯動物における発がん性試験、齧歯動物の胎内ばく露における発がん性試験はいずれも以下の項目について解説されている。

1. 医薬品安全性試験実施基準解説
2. 実験動物
  - A. 飼育・維持・供給
  - B. 種・系統・性別の選定
  - C. 週齢
  - D. 数と性別

- E. 感染動物
  - F. 動物特性
  - G. ケージ
  - H. 食餌
  - I. 対照群
  - J. 死亡率
  - K. 自己分解 (Autolysis)
  - L. 剖検
3. 被検物質
- A. 識別
  - B. 組成、純度
  - C. 保管条件
  - D. 使用期限
4. 実験設計
- A. 試験の継続期間
  - B. 投与方法
  - C. 用量群
  - D. コンピュータシステム
5. 観察と臨床試験
- A. 実験動物の観察
  - B. 体重と食餌摂取量
  - C. 臨床試験
6. 検死解剖と顕微鏡検査
- A. 剖検
  - B. 臓器重量
  - C. 顕微鏡検査用試料の準備
  - D. 顕微鏡検査による評価
  - E. リンパ器官の病理組織
7. 参考文献

生殖毒性試験、発生毒性試験

➤ 以下の項目について解説されている。

- 1. 概要
- 2. はじめに
- 3. ガイドライン
  - A. 全般的な推奨
  - B. 用量範囲決定
- 4. 参考文献

神経毒試験

➤ 以下の項目について解説されている。



1. 要約
2. 背景
3. 神経毒性の評価
  - A. 神経毒性のスクリーニングの要素
    1. 神経毒性のスクリーニング要素
    2. 神経毒素スクリーニングの際のプロトコル設計における考慮事項
  - B. 特殊な神経毒性試験
    1. 効果の特徴づけ
    2. 用量と反応の関係性
4. 参考資料

### 3) 5. 追加試験

- ・ リンク先の 1993 Draft Redbok II において解説されている。
  - 薬物動態試験  
<http://www.fda.gov/downloads/Food/GuidanceRegulation/UCM078741.pdf>
  - 免疫毒性試験  
<http://www.fda.gov/downloads/Food/GuidanceRegulation/UCM078748.pdf>

### 4) 6. ヒトでの試験

- ・ A.臨床試験および B.疫学調査のパートからなる。
- ・ 臨床試験については、リンク先の 1993 Draft Redbok II 「食品及び食品添加物の臨床評価」において解説されている。  
<http://www.fda.gov/downloads/Food/GuidanceRegulation/UCM078753.pdf>

|  |
|--|
| <p>A. 食品または食品添加物の臨床評価</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 食品、ないしは食品添加物の臨床試験における総論</li> <li>2. 食品、ないしは食品添加物の臨床試験における具体的な考慮事項           <ol style="list-style-type: none"> <li>a. プロトコルデザイン</li> <li>b. 研究対象集団</li> <li>c. 統計分析</li> </ol> </li> <li>3. 食品、ないしは食品添加物に関する臨床試験の流れ           <ol style="list-style-type: none"> <li>a. 早期臨床研究</li> <li>b. さらなる臨床研究</li> </ol> </li> <li>4. 食品、ないしは食品添加物に関する臨床試験の、CFSAN への報告書提出</li> <li>5. AppendixA           <ol style="list-style-type: none"> <li>a. 治験審査の原則</li> <li>b. インフォームドコンセントの原則</li> </ol> </li> </ol> |
|--|

- 疫学調査については、記述疫学、分析疫学それぞれについて簡単な解説が掲載されている。

#### 2.4.5 Guidance for submission for food additive evaluations EFSA Panel on Food Additives and Nutrient Sources added to Food (ANS) (EFSA)「食品添加物及び食品添加栄養素に関する EFSA パネル：食品添加物評価に関する提出ガイドライン」

本ガイダンスは、新規食品添加物の認可、あるいは既存添加物の変更の認可の際の申請書提出に関する情報を提供するものである。なお、関連法令としては Regulation (EC) No 1331/2008「食品添加物、食品酵素および食品調味料に関する共通認可手順の確立」および Regulation (EC) No 1333/2008「食品添加物」がある。

##### (1) 資料構成

|                             |
|-----------------------------|
| 概要                          |
| 要約                          |
| 目次                          |
| 背景                          |
| 委託事項                        |
| 委託事項の説明                     |
| はじめに                        |
| リスク評価の枠組み                   |
| 1. 化学的性質と仕様                 |
| 1.1 物質の特定                   |
| 1.1.1 単一物質                  |
| 1.1.2 単純混合物                 |
| 1.1.3 植物由来でない複雑混合物          |
| 1.1.4 ポリマー                  |
| 1.1.5 植物由来添加物               |
| 1.1.6 ナノマテリアル               |
| 1.1.7 微生物に含まれる、もしくは微生物由来の物質 |
| 1.2 仕様                      |
| 1.3 製造プロセス                  |
| 1.4 食品の分析手法                 |
| 1.5 物質の安定性と食品における反応、運命      |
| 2. 既存の認可と評価に関する情報           |
| 3. 提案使用とばく露評価               |
| 3.1 食品における提案使用と使用レベル        |
| 3.1.1 新規食品添加物の認可(シナリオ 1)    |
| 3.1.2 既存認可修正(シナリオ 2)        |

|       |                       |
|-------|-----------------------|
| 3.2   | ばく露データ                |
| 3.2.1 | 食品添加物ばく露評価            |
| 3.2.2 | データの提出                |
| 4.    | 毒性試験                  |
| 4.1   | 毒物動態学                 |
| 4.1.1 | 総論                    |
| 4.1.2 | 毒物動態学試験に関する段階的アプローチ   |
| 4.2   | 遺伝毒性                  |
| 4.2.1 | 総論                    |
| 4.2.2 | 遺伝毒性試験に関する段階的アプローチ    |
| 4.3   | 毒性試験                  |
| 4.3.1 | 総論                    |
| 4.3.2 | 毒性試験に関する段階的アプローチ      |
| 4.4   | 生殖、及び発達毒性             |
| 4.4.1 | 総論                    |
| 4.4.2 | 生殖、及び発達毒性に関する段階的アプローチ |
| 4.5   | 追加試験                  |
| 4.5.1 | ヒトでの試験                |
| 4.5.2 | 免疫毒性、過敏症/アレルギーと食物不耐性  |
| 4.5.3 | 神経毒性                  |
| 5.    | 補足情報                  |
| 5.1   | 統合試験戦略                |
| 5.2   | 活動のメカニズムとモード          |
| 5.3   | 掲載文献のレビュー             |
| 5.4   | 試験の報告と参照              |
|       | リファレンス                |
|       | 付録                    |
|       | 辞典                    |
|       | 略語                    |

## (2) 概要

### 1) 4.1 毒物動態学

- ・ 4.1.1 総論
  - 毒物動態学の歴史や背景など、一般的な事項について概説している。
- ・ 4.1.2 毒物動態学に関する段階的アプローチ
  - 以下の試験の概要が述べられている。
    1. 吸収試験および *in vitro* 胃腸代謝
    2. 単回投与における分布、代謝、排泄やその他の毒物動態学的パラメータを定義す

るための試験

### 3. 反復投与における毒物動態学的パラメータを定義するための試験

## 2) 4.2 遺伝毒性

### 4.2.1 総論

- 遺伝毒性試験の背景、目的、意義、種類等が述べられている。

「DNA 損傷は様々な病気を引き起こす原因となることが明らかにされている。従って、変異原性を調べることは最も基本的なリスクアセスメントになる。」

### 4.2.2 遺伝毒性試験に関する段階的アプローチ

- 以下の試験の概要が解説されている。

#### 1. 標準試験群

- ・細菌による復帰突然変異試験 (OECD TG 471)
- ・ *in vitro* ほ乳類細胞小核試験 (OECD TG 487)

#### 2. 標準試験群によって得られた結果のフォローアップ

- ・ *in vivo* 小核試験 (OECD TG 474)
- ・ *in vivo* 単細胞ゲル電気泳動法 (現在 OECD TG はないため、国際的に認められたプロトコルを用いること：例 <http://cometassay.com>)
- ・トランスジェニック齧歯類(マウス、ラット等)アッセイ (OECD TG 488)

## 3) 4.3 毒性試験

### 4.3.1 総論

- 毒性試験の目的、意義、条件などが、種類別 (亜慢性毒性試験、慢性毒性試験と発がん性試験) に記述されている。

### 4.3.2 毒性試験に関する段階的アプローチ

- 以下の試験の概要が解説されている。

1. 90 日間反復投与による経口毒性試験。この試験の結果から安全側の信頼限界値 (BMDL)と無毒性量(NOAEL)を特定することができる。
2. 単一種における慢性毒性試験(12ヶ月)と発がん性試験
3. トランスジェニックマウスを用いた短期毒性試験による発がん性バイオアッセイ。

その他、必要に応じて神経毒性試験、免疫毒性、内分泌ホルモンによる影響といった特殊試験も含まれる。