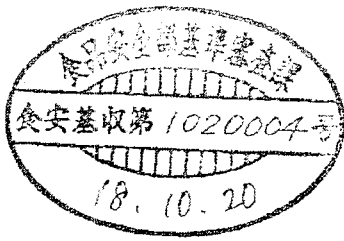
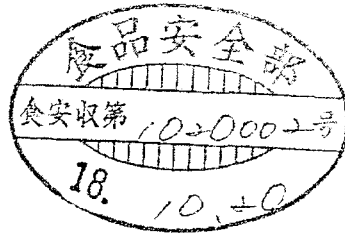


府食第 826 号  
平成 18 年 10 月 19 日

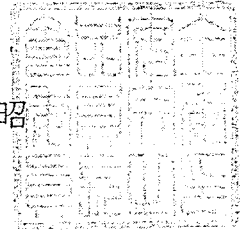


厚生労働大臣  
柳澤 伯夫 殿



食品安全委員会

委員長 寺田 雅昭



### 食品健康影響評価の結果の通知について

平成 17 年 1 月 31 日付け厚生労働省発食安第 0131001 号をもって貴省から当委員会に対して意見を求められたネオチーム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をまとめたものは別添のとおりです。

### 記

ネオチームの ADI を 1.0 mg/kg 体重/日と設定する。

添加物評価書

ネオテーム

2006年10月

食品安全委員会

# 目次

	頁
○ 審議の経緯	1
○ 食品安全委員会委員名簿	1
○ 食品安全委員会添加物専門調査会専門委員名簿	1
○ ネオテームを添加物として定めることに係る食品健康影響評価に関する審議結果	2
1. はじめに	2
2. 背景等	2
3. 添加物指定の概要	2
4. 名称等	2
5. 安全性	3
(1) 体内動態	3
①非臨床データ	3
②臨床データ	7
(2) 毒性	9
①反復投与毒性試験	9
②繁殖試験	11
③催奇形性試験	12
④発がん性試験	13
⑤抗原性試験	13
⑥遺伝毒性試験	13
⑦一般薬理試験	14
⑧ラット嗜好性試験	15
⑨ネオテーム分解物の安全性試験	15
⑩ヒトにおける知見	16
⑪アスパルテームに関する評価	17
6. 国際機関等における評価	18
(1) オーストラリア／ニュージーランド（ANZFA）における評価（2001）	18
(2) 米国食品医薬品局（FDA）における評価（2002）	18
(3) フランス食品衛生安全局（AFSSA）における評価（2004）	18
(4) JECFA における評価（2003）	19
7. 一日摂取量の推計等	19
8. フェニルアラニン摂取量に関する考察	20
9. 評価結果	20
・ 表 ネオテーム関連化合物一覧	22
・ 図1 ネオテームの推定代謝経路	24
・ 図2 ネオテームの分解経路（苛酷条件下）	25
・ 引用文献	25
・ ネオテーム及び関連化合物の安全性試験結果	34

〈審議の経緯〉

平成17年1月31日	厚生労働大臣から添加物の指定に係る食品健康影響評価について要請、関係書類の接受
平成17年2月3日	第80回食品安全委員会(要請事項説明)
平成17年7月22日	第23回添加物専門調査会
平成17年8月30日	第24回添加物専門調査会
平成18年1月19日	第28回添加物専門調査会
平成18年5月31日	第32回添加物専門調査会
平成18年9月7日	第158回食品安全委員会(報告)
平成18年9月7日から10月6日	国民からの意見聴取
平成18年10月13日	第37回添加物専門調査会
平成18年10月18日	添加物専門調査会座長から食品安全委員会委員長へ報告
平成18年10月19日	第164回食品安全委員会(報告) (同日付け厚生労働大臣に通知)

〈食品安全委員会委員〉

平成18年6月30日まで

委員長	寺田 雅昭	
委員長代理	寺尾 允男	
	小泉 直子	本間 清一
	坂本 元子	見上 彪
	中村 靖彦	

平成18年7月1日から

委員長	寺田 雅昭	
委員長代理	見上 彪	
	小泉 直子	畑江 敬子
	長尾 拓	本間 清一
	野村 一正	

〈食品安全委員会添加物専門調査会専門委員〉

平成15年9月25日から平成17年9月30日まで

座長	福島 昭治	
座長代理	山添 康	
	井上 和秀	西川 秋佳
	今井田 克己	林 真
	江馬 眞	三森 国敏
	大野 泰雄	吉池 信男

平成17年10月1日から

座長	福島 昭治	
座長代理	山添 康	
	石塚 真由美	中島 恵美
	井上 和秀	西川 秋佳
	今井田 克己	林 真
	江馬 眞	三森 国敏
	大野 泰雄	吉池 信男
	久保田 紀久枝	

# ネオテームを添加物として定めることに係る 食品健康影響評価に関する審議結果

## 1. はじめに

ネオテームは、高甘味度甘味料として開発され、既存の甘味料のアスパルテームをN-アルキル化して得られるもので、その甘味度は、使用する食品の種類や配合組成によって異なるが、砂糖の7,000~13,000倍、アスパルテームの約30~60倍である<sup>1),2)</sup>。既存のものに比べ安定性に優れているとされており<sup>3),4),5),6)</sup>、また、通常の保存条件下ではフェニルアラニンを遊離しないとされている<sup>7)</sup>。

米国では、2002年に甘味料及びフレーバー増強剤として一般食品分野への使用が許可されている<sup>8)</sup>。2004年6月現在、オーストラリア及びニュージーランドを始め19ヶ国で使用が許可され、飲料を中心とした食品に甘味料及びフレーバー増強剤として使用されている。

## 2. 背景等

今般、ネオテームの添加物指定等について、事業者から厚生労働省に指定要請がなされたことから、厚生労働省が指定等の検討を開始するに当たり、食品安全基本法に基づき、食品安全委員会に対し、ネオテームに係る食品健康影響評価が依頼されたものである（平成17年1月31日、関係書類を接受）。

## 3. 添加物指定の概要

甘味料及び香料として使用されるネオテームについて、使用基準及び成分規格を検討した上で、新たに添加物として指定しようとするものである。

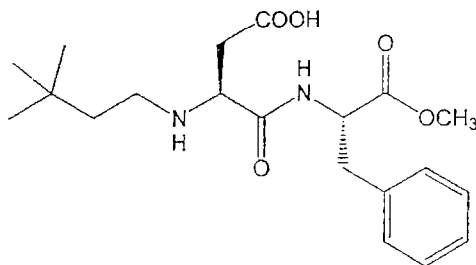
## 4. 名称等

名 称：ネオテーム

英 名：Neotame

化学名：N-[N-(3,3-dimethylbutyl)-L- $\alpha$ -aspartyl]-L-phenylalanine 1-methyl ester

構造式：



化学式：C<sub>20</sub>H<sub>30</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>

分子量：378.46

CAS 番号：165450-17-9

性状等：白色～灰白色の粉末で、においはなく、強い甘味があり、アルコール類には溶けやすく、水にやや溶けにくい。0.5%水溶液は弱酸性（pH 5.8）を示す。

## 5. 安全性

### (1) 体内動態

#### ①非臨床データ

##### ア. 吸収

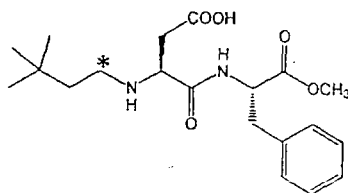
##### (ア) ラットにおける $^{14}\text{C}$ 標識ネオテーム単回投与試験

雌雄 SD ラットにネオテームを  $^{14}\text{C}$  で標識したもの ( $^{14}\text{C}$  標識ネオテーム<sup>※1</sup>) を単回強制経口投与 (15 mg/kg 体重 (低用量) 又は 120 mg/kg 体重 (高用量)) 及び静脈内投与 (15 mg/kg 体重) し、血漿中の総放射能及び濃度推移を検討した。その結果、血漿中濃度は、静脈内投与では 0.1 時間、経口投与では 0.25～0.75 時間に最大となり、最高血漿中濃度 (C<sub>max</sub>) 及び AUC<sub>24</sub> は、投与量にほぼ対応して増加し、両パラメータ共に雄の方が雌より大きい値を示した。未変化体は、経口投与 (高用量) において投与後 0.25 時間後に半数のラットにおいて検出限界をわずかに上回る程度が検出されたが、経口 (低用量) 及び静脈内投与では検出されなかった。また、ネオテームは投与後速やかに NC-00751<sup>※2</sup> (総放射能の 80～90%) に変換され、静脈内投与では 0.1 時間、経口投与後では 0.5～0.75 時間に血漿中濃度が最大となった。NC-00751 の見かけ上の半減期は、静脈内投与では 0.3～0.6 時間、経口投与では 0.8～1.3 時間であった。NC-00751 の C<sub>max</sub> 及び AUC<sub>24</sub> は、投与量にほぼ対応して増加し、両パラメータ共に雄の方が雌より大きい値を示した。経口投与後の吸収率を  $^{14}\text{C}$  標識体の尿中放射能排泄率の比から見積もると、24～30%であった。生物学的利用率は、経口投与後に血漿中に未変化体がほとんど認められていないことから極めて低く、これはラット体内において脱エステル化を極めて受けやすいためと考えられる<sup>9), 10)</sup>。

##### (イ) イヌにおける $^{14}\text{C}$ 標識ネオテーム単回投与試験

雌雄ビーグル犬に  $^{14}\text{C}$  標識ネオテームを単回強制経口投与 (15 mg/kg 体重 (低用量) 又は 120 mg/kg 体重 (高用量)) 及び静脈内投与 (15 mg/kg 体重) し、血漿

※1  $^{14}\text{C}$  標識ネオテームにおける  $^{14}\text{C}$  の標識位置



\* :  $^{14}\text{C}$  標識位置

※2 ネオテーム関連化合物の化学名 (一般名) 及び構造式については、p.22 の表参照。

中の総放射能及び濃度推移を検討した。その結果、血漿中濃度は、静脈内投与では 0.03 時間、経口投与では 0.25~0.5 時間に最大となり、C<sub>max</sub> 及び AUC<sub>24</sub> は、投与量の増加率をやや上回って増加した。経口投与後、ネオテームは半減期 0.2~0.3 時間（低用量）又は 0.4 時間（高用量）で減少した。ネオテームは、投与後速やかに NC-00751 に変換され、静脈内投与では 0.25 時間、経口投与後では 0.75~1 時間に血漿中濃度が最大となった。NC-00751 の見かけ上の半減期は、静脈内投与では 2.3 時間、経口投与では 3.4 時間（高用量）であった。NC-00751 の C<sub>max</sub> 及び AUC<sub>24</sub> は、投与量の増加率を上回って増加する傾向にあった。静脈内投与後、ネオテームの全身クリアランスは 26~32 mL/min/kg、分布容積は約 1 L/kg であった。全身クリアランスが肝血漿流量（18 mL/min/kg）を上回ることから肝臓以外での代謝が示唆され、また分布容積の値から組織内へも一部分布することが示唆された。経口投与後の吸収率を <sup>14</sup>C 標識体の尿中放射能排泄率の比から見積もると、低用量で 32~34%、高用量で約 47%であった。生物学的利用率は、低用量で約 8%、高用量で 19~32%と推定された<sup>11)</sup>。

## イ. 分布

### (ア) 器官内及び組織内濃度

有色の雄ラットに <sup>14</sup>C 標識ネオテーム (15 mg/kg 体重) を単回強制経口投与し、投与 48 時間後までの組織中濃度を測定した。その結果、ラットの消化管、リンパ節、前立腺及び副腎を除く各組織中放射能濃度は、経口投与 1 時間後に最大となり、肝臓、腎臓及び膀胱では、血漿中の放射能濃度よりも高濃度であった。その他の組織では、放射能濃度は血漿中の濃度を大きく下回った。消化管を除いて組織内の放射能濃度は、その後速やかに減少した<sup>12)</sup>。

### (イ) 胎盤及び胎児への移行性

妊娠 15 日の雌ラットに <sup>14</sup>C 標識ネオテーム (15 mg/kg 体重) を単回強制経口投与し、胎児移行を全身オートラジオグラフィにより検討した。その結果、投与後 0.5 及び 2 時間では、胎盤において他の末梢組織や血管内における濃度と同程度の低濃度の放射能が検出されたが、胎児への放射能の移行は認められなかった。投与後 24 時間では、胎児、胎盤及びその他の組織においても放射能は検出されず、特異的に蓄積した組織は認められなかった<sup>13)</sup>。

### (ウ) 血漿中のタンパクとの結合

イヌ及びヒト血漿中におけるタンパク結合率を <sup>14</sup>C 標識ネオテーム (イヌ 1~100 µg/mL、ヒト 10~1,000 ng/mL) を用いて *in vitro* 遠心限外ろ過法により検討した。その結果、ネオテームのタンパクへの結合は速く、10 分以内に平衡状態に達した。イヌの血漿中におけるタンパク結合率は、ネオテーム濃度 1~10 µg/mL で 84~92%、100 µg/mL で 68~75%であった。ヒトの血漿中では、タンパク結合率

は 94~98%であり、ヒトアルブミンとの結合率は 80~81%、 $\alpha_1$ -酸性糖タンパク質との結合率は 8~14%であった<sup>14)</sup>。

#### (エ) 血球への分配

<sup>14</sup>C 標識ネオテームを用い、ラット及びビーグル犬における血球中放射能濃度を測定した。その結果、イヌでは、静脈内投与 (15 mg/kg 体重) 後では血漿中放射能の 50%強、経口投与 (15、120 mg/kg 体重) 後では血漿中放射能の約 27%、約 40%であった。ラットでは、赤血球中濃度は、全般的に低かった<sup>11), 12)</sup>。

#### ウ. 代謝

本物質の代謝経路は、主として脱エステル化により、メタノールと NC-00751 に代謝され、また NC-00751 は、その一部がペプチド又はアミド結合の加水分解により NC-00754 へと代謝されると共に、一部は酸化された後、グルクロン酸又はカルニチンによる抱合を受けると推定される。(図 1 参照)

#### (ア) ラットにおける代謝 (<sup>14</sup>C 標識ネオテーム投与)

血漿中では、主要代謝物は NC-00751 であり、経口投与後では未変化体はほとんど認められなかった<sup>9)</sup>。尿中では、未変化体はほとんど検出されず、主要代謝物は NC-00751 であり、経口投与において投与量の 5.0~7.0%、静脈内投与では雄で投与量の 31.1%、雌で 26.4%であった。その他、G2 (グルクロン酸抱合体)、NC-00754 を含む 4 種以上の代謝物が尿中に検出されたが、いずれも投与量の 1.6% 以下であった<sup>10)</sup>。また、15 mg/kg 体重を 8 時間間隔で 2 回経口投与したラットの雌の尿中から、NC-00784 (カルニチン抱合体) が検出された<sup>15)</sup>。糞中では、未変化体は検出されず、主要代謝物は NC-00751 であり、経口投与において投与量の約 70~78%、静脈内投与では投与量の約 51~52%であった。その他、NC-00754 と Component 4 が検出され、それぞれ投与量の 0.8~2.5%、0.7~1.2%であった<sup>10)</sup>。胆汁中では、主要代謝物は NC-00751 であり、胆汁中放射能の 92.9% (投与量の 4.7%) を占めた<sup>16)</sup>。

#### (イ) イヌにおける代謝 (<sup>14</sup>C 標識ネオテーム投与)

血漿中では、経口投与後、未変化体及び NC-00751 が認められた。尿中では、未変化体はわずかであり、主要代謝物は NC-00751 で、経口投与において投与量の約 6~9%、静脈内投与では投与量の約 19~20%であった。その他、G2 (投与量の約 5%)、NC-00754 (投与量の 0.4~2%) 等が検出された。糞中では、未変化体は検出されず、主要代謝物である NC-00751 は経口投与において投与量の約 62~74%、静脈内投与では投与量の約 42~43%であった<sup>11)</sup>。

#### (ウ) ラット肝における生体異物代謝酵素活性等

雌雄ラットにネオテーム (0、100、300、1,000 mg/kg 体重/日) を 14 日間強制



経口投与した。陽性対照としてフェノバルビタール(75 mg/kg 体重/日)を用いた。その結果、1,000 mg/kg 体重/日投与群の雄において、p-ニトロフェノール UDP-グルクロノシルトランスフェラーゼ (p-ニトロフェノール UDP-GT) 活性が低下したが、過去の対照群における背景データの範囲内であった。その他、ミクロゾームタンパク質含量、チトクローム P450 含量、細胞質非タンパク性チオール含量及び各種酵素活性等については、投与による影響は認められなかった<sup>17)</sup>。

以上から、本物質は生体異物代謝酵素系に特段重要な影響を及ぼすものではないと考えられた。

#### (エ) 人工胃液及び人工腸液における安定性

ネオテーム (50 µg/mL) を人工胃液 (+/-ペプシン) 及び人工腸液 (+/-パンクレアチン) に添加し、37°C、120 分間インキュベーションした時の安定性を調べた。その結果、ネオテームはペプシンの有無にかかわらず安定であったが、パンクレアチンを含む人工腸液中では 15 分以内に完全に NC-00751 に加水分解された。パンクレアチンを含まない人工腸液中では比較的安定で、NC-00751 に加水分解された量は極わずか (120 分後における総放射能の 1~2%) であった<sup>18)</sup>。

### エ. 排泄

#### (ア) ラットにおける排泄

雌雄ラットに <sup>14</sup>C 標識ネオテームを経口投与 (15、120 mg/kg 体重) 後、または静脈内投与 (15 mg/kg 体重) 後の尿中及び糞中排泄率等について調べた。その結果、投与後 72 時間までの尿中排泄率は、経口投与で 8.5~10.8%、静脈内投与で 34.6 及び 35.9% であり、糞中排泄率は、経口投与で 84.5~87.2%、静脈内投与で 58.1 及び 59.2% であった。投与量の 90% 以上が投与後 48 時間以内に速やかに排泄され、性差は認められなかった<sup>10)</sup>。胆管カニュレーションを施した雄ラットに <sup>14</sup>C 標識ネオテーム (15 mg/kg 体重) を経口投与したところ、投与後 48 時間までに投与量の約 6% が胆汁中に、5~9% が尿中に、82~87% が糞中に排泄された<sup>16)</sup>。

#### (イ) イヌにおける排泄

雌雄イヌに <sup>14</sup>C 標識ネオテームを経口投与 (15、120 mg/kg 体重) 後、または静脈内投与 (15 mg/kg 体重) 後の尿中及び糞中排泄率等について調べた。その結果、投与後 72 時間までの尿中排泄率は、経口投与で 13~20%、静脈内投与で 40~43% であり、糞中排泄率は、経口投与で 72~83%、静脈内投与で 53~54% であった。投与量の 80% 以上が投与後 48 時間以内に尿中及び糞中に排泄された<sup>11)</sup>。

### オ. その他

ネオテームの主要代謝物である NC-00751 の体内動態は以下のとおり。(図 1 参照)

(ア) ラットにおける  $^{14}\text{C}$  標識 NC-00751 単回経口投与試験

雌雄ラット及び胆管カニューレーションを施した雄ラットに NC-00751 を  $^{14}\text{C}$  で標識したもの ( $^{14}\text{C}$  標識 NC-00751<sup>※3</sup>) (15 mg/kg 体重) を単回強制経口投与し、ラットにおける  $^{14}\text{C}$  標識体を用いた吸収・分布・代謝・排泄試験が実施された。血漿中の放射能濃度は低く、最高で約 0.1  $\mu\text{g}$  当量 (NC-00751) /mL であり、4~8 時間後に、検出限界 (約 0.03  $\mu\text{g}$  当量/mL) 以下に低下した。投与後 0.5 及び 2 時間における血漿中の主放射性成分は、NC-00751 であり、総放射能の 59~78% を占めた。胆汁、尿及び糞中においても主放射性成分は NC-00751 であり、それぞれ投与量の 1~2%、0.8~0.9% 及び 75~82% に相当した。投与後 72 時間までの尿及び糞中への排泄は、雌雄ラットにおいて、それぞれ投与量の 1~2% 及び 99~101% であった。投与後 48 時間以内に投与量のほぼ全量 (100~103%) が尿及び糞に排泄された。胆管カニューレーションを施した雄ラットにおいて放射能の胆汁、尿及び糞中への排泄率は、それぞれ、約 2%、約 2% 及び約 92% であった<sup>19)</sup>。

(イ) 血漿中のタンパクとの結合

イヌ及びヒト血漿中におけるタンパク結合率を  $^{14}\text{C}$  標識 NC-00751 (ラット 100~10,000 ng/mL、イヌ 1~100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  及びヒト 50~5,000 ng/mL) を用いて *in vitro* 遠心限外ろ過法により検討した。その結果、血漿中タンパク結合率は、ラットでは 72~76%、イヌでは 46~54% であった。また、ヒトの血漿中では、タンパク結合率は 85~91% であり、ヒトアルブミンとの結合率は 29~37%、 $\alpha_1$ -酸性糖タンパク質との結合率は 0.2~9% であった<sup>14)</sup>。

(ウ) 人工胃液及び人工腸液における安定性

NC-00751 (25  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) を人工胃液 (+/-ペプシン) 及び人工腸液 (+/-パンクレアチン) に添加し、37°C、120 分間インキュベーションした時の安定性を調べた。その結果、NC-00751 は酵素の有無にかかわらず、人工胃液中及び人工腸液中で安定であった<sup>18)</sup>。

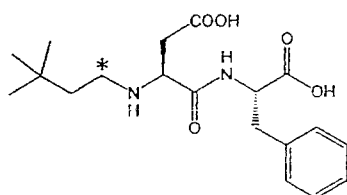
②臨床データ

ア. 血漿中濃度

(ア) 単回経口投与

健康成人男性に  $^{14}\text{C}$  標識ネオテーム (約 0.25 mg/kg 体重) を単回経口投与後、

※3  $^{14}\text{C}$  標識 NC-00751 における  $^{14}\text{C}$  の標識位置



\* :  $^{14}\text{C}$  標識位置

血漿中の総放射能、未変化体及び NC-00751 の濃度推移を検討した。その結果、ネオテームは速やかに吸収され、投与後約 0.4 時間で  $C_{max}$  95.7 ng/mL に達し、半減期 0.6 時間で消失した。NC-00751 の血漿中濃度は投与後 1 時間で  $C_{max}$  236 ng/mL に達し、半減期は 1.5 時間であった。血漿中放射能の大部分は NC-00751 及びネオテームで占め、総放射能の  $AUC_{(0-t)}$  値のそれぞれ約 80% 及び約 8% に達した。全血中の総放射能濃度は、血漿中の総放射能濃度より低く、これらの濃度とヘマトクリットより、血液中放射能の大部分が細胞成分より、むしろ血漿中に存在することが明らかになった<sup>20)</sup>。

また、健常成人男性に非標識ネオテーム (0.1、0.25、0.50 mg/kg 体重) を単回経口投与し、未変化体及び NC-00751 の濃度推移を検討したところ、ネオテーム及び NC-00751 の  $C_{max}$  及び  $AUC$  は、検討した濃度範囲内で投与量に対しほぼ線形性を示した<sup>21)</sup>。

#### (イ) 8 回反復経口投与

健常成人男性にネオテーム (0.25 mg/kg 体重) を 1 時間おきに 8 回反復経口投与し、未変化体及び NC-00751 の濃度推移を検討した。最終投与後、ネオテームの血漿中濃度は 0.35 時間で  $C_{max}$  67.36 ng/mL に達した後、半減期 0.88 時間で低下した。NC-00751 については、0.69 時間で  $C_{max}$  875.94 ng/mL に達した後、二相性で低下し、消失相半減期は 12.88 時間であった<sup>22)</sup>。

#### (ウ) 14 日間反復経口投与

健常成人男女にネオテーム (0.5、1.5 mg/kg 体重/日) をカプセルとして 1 日 3 回 14 日間反復経口投与した。その結果、トラフ時の血漿中では、ネオテームは検出できなかった。一方、NC-00751 の血漿中濃度は測定可能であり、投与量に対する線形性が認められた<sup>23)</sup>。

### イ. 代謝

ヒトにおけるネオテームの代謝は、脱エステル化が主経路で実験動物と同様の代謝物が認められた (図 1 参照)。健常成人男性にネオテームを経口投与した後の血漿中には、主要代謝物として NC-00751 が認められたほか、未変化体が検出された<sup>20), 21), 22)</sup>。健常成人男性に <sup>14</sup>C 標識ネオテーム (約 0.25 mg/kg 体重) を単回経口投与したとき、尿中の主要代謝物は NC-00751 であり、投与後 72 時間において投与量の 23.81% に達した。未変化体は、投与量の 3.32% が検出された。その他、NC-00754、NC-00784 等も少量検出された。糞中では、未変化体は検出されず、主要代謝物は NC-00751 であり、投与後 96 時間で投与量の 52.5% を占めていた。また、NC-00754 は 4.9% であった<sup>20)</sup>。なお、少量の未同定の代謝物が血漿、尿及び糞中に検出されたが、尿中排泄物に NC-00784 が存在することが確認されている<sup>20), 24)</sup>。

## ウ. 排泄

### (ア) 単回経口投与

健康成人男性に  $^{14}\text{C}$  標識ネオテーム (約 0.25 mg/kg 体重) を経口投与後、168 時間までに投与放射能の 34.3%が尿中に、63.7%が糞中に排泄された<sup>20)</sup>。

また、非標識ネオテーム (0.1、0.25、0.50 mg/kg 体重) を単回経口投与したとき、尿中には、投与後 84 時間までに投与量の約 1%が未変化体として、約 20%が NC-00751 として尿中に排泄された。尿中排泄率及び腎クリアランスは投与量にかかわらず一定であった<sup>21)</sup>。

### (イ) 8 回反復経口投与

健康成人男性にネオテーム (0.25 mg/kg 体重) を 1 時間おきに 8 回反復経口投与したとき、初回投与後 168 時間までに総投与量の約 3%が未変化体として、約 23%が NC-00751 として尿中に排泄された<sup>22)</sup>。

### (ウ) 製剤の生物学的同等性

ヒトにネオテームを 10 mg×2 カプセル投与と 20 mg 溶液投与したときの血漿中濃度の薬物動態パラメータを調べたところカプセル投与した場合のネオテーム及び NC-00751 の生物学的利用率は、溶液投与と同等かそれ以上であった<sup>25)</sup>。

## (2) 毒性

### ①反復投与毒性試験

#### ア. マウス 13 週間混餌投与試験

ICR マウス (各群雌雄各 20 匹) にネオテーム (0、100、1,000、4,000、8,000 mg/kg 体重/日) を 13 週間混餌投与した。4,000 mg/kg 体重/日以上以上の投与群の雌で平均赤血球容積 (MCV) の有意な低下が認められた。変動の程度は小さく、他の赤血球パラメータに影響がみられなかったことから、投与による影響ではないと考えられた。4,000 mg/kg 体重/日以上以上の投与群で肝比重量の増加、8,000 mg/kg 体重/日投与群で肝重量の増加が認められた<sup>26)</sup>。

以上から 4,000 mg/kg 体重/日以上以上の投与群における肝比重量の増加に基づき、本試験における無毒性量 (NOAEL) は 1,003 mg/kg 体重/日<sup>※4</sup> と考えられる。

#### イ. ラット 13 週間混餌投与及び 4 週間回復性試験

SD ラット (各群雌雄各 20 又は 25 匹) にネオテーム (0、100、300、1,000、3,000 mg/kg 体重/日) を 13 週間混餌投与し、その後、0、1,000 及び 3,000 mg/kg 体重/日投与群 (各群雌雄各 5 匹) については 4 週間回復性試験を行った。3,000 mg/kg 体

※4 摂餌量から換算した実際のネオテーム摂取量

重/日投与群の雄で最終体重、体重増加量及び摂餌量の減少が認められた。最終体重及び体重増加量の減少は摂餌量の減少に伴うものであり、それらは本物質の高濃度添加によるラットの嗜好性の低下によるものと考えられる。1,000 mg/kg 体重/日投与群の雄及び 3,000 mg/kg 体重/日投与群でアルカリホスファターゼ（ALP）の上昇が認められた。3,000 mg/kg 体重/日投与群の雄で臓器重量（肝、腎、副腎、心、脾、胸腺及び前立腺）の減少、脾比重量の減少、脳及び精巣比重量の増加が認められたが、それらの変動は体重増加抑制に付随するものと考えられる。1,000、3,000 mg/kg 体重/日投与群の雌で腎の皮髄境界部石灰化が認められたが、これは性成熟と関連して雌ラットで頻繁に観察される病変であり、4 週間回復期間終了時には認められなかった<sup>27)</sup>。

以上から 1,000 mg/kg 体重/日以上投与群における ALP の上昇に基づき、本試験における NOAEL は 293 mg/kg 体重/日<sup>\*4</sup>と考えられる。

#### ウ. イヌ 13 週間混餌投与及び 4 週間回復性試験

ビーグル犬（各群雌雄各 4 又は 6 匹）にネオテーム（0、60、200、600、2,000/1,200 mg/kg 体重/日（2,000/1,200 mg/kg 体重/日投与群：14 日まで 2,000 mg/kg 体重/日））を 13 週間混餌投与し、その後 4 週間回復性試験を行った。2,000/1,200 mg/kg 体重/日投与群で体重増加抑制及び摂餌量の低下が認められた。体重増加抑制は摂餌量の減少に伴うものであり、摂餌量の低下は高濃度のネオテームを含む餌を忌避したこと起因していると考えられる。2,000/1,200 mg/kg 体重/日投与群で RBC、ヘモグロビン濃度（Hb）及びヘマトクリット値（Hct）の低下が認められた。また、200 及び 600 mg/kg 体重/日投与群の雌及び 2,000/1,200 mg/kg 体重/日投与群で ALP の上昇が認められた。なお、イヌ 52 週間混餌投与及び 4 週間回復性試験（後述 オの項参照）の 200 mg/kg 体重/日投与群では、ALP 上昇の程度は小さかった。600 mg/kg 体重/日投与群の雌及び 2,000/1,200 mg/kg 体重/日投与群で肝比重量の増加、2,000/1,200 mg/kg 体重/日投与群の雄で副腎比重量の増加、肺及び精巣上体重量の減少が認められたが、これらの変化は摂餌量の低下に伴う体重の変化によるものと考えられる。また、600 及び 2,000/1,200 mg/kg 体重/日投与群で肝細胞グリコーゲン増加が認められたが、毒性学的意義に乏しいと考えられる<sup>28)</sup>。

以上から 200 mg/kg 体重/日以上投与群における ALP の上昇に基づき、本試験における NOAEL は 59.7 mg/kg 体重/日<sup>\*4</sup>と考えられる。

#### エ. 暴露雌ラットの児を用いた 52 週間混餌投与及び 4 週間回復性試験

SD ラット（各群雌雄各 25 匹）にネオテーム（0、10、30、100、300、1,000 mg/kg 体重/日）を交配前 4 週間と交配期間中、さらに雌には妊娠期間、授乳期間及び分娩後 21 日（離乳時）まで混餌投与した。ただし、1,000 mg/kg 体重/日投与群の母動物に対する分娩後 14～21 日の投与量は、300 mg/kg 体重/日とし、児（F<sub>1</sub>）にも同用量のネオテーム（300 mg/kg 体重/日）を離乳時から 26～28 日（52 週間毒性試験開始

時)まで混餌投与した。その後、児 ( $F_1$ ) (各群雌雄各 20 匹) にネオテーム (0、10、30、100、300、1,000 mg/kg 体重/日) を 52 週間混餌投与し、その後各群雌雄各 10 匹について 4 週間回復性試験 (0、100、300、1,000 mg/kg 体重/日) を行った。

300 mg/kg 体重/日投与群以上の雄で対照群と比べ興奮性を示す行動がやや高い頻度で認められたが、本所見は高齢の雄ラットで一般的に観察される所見であり、さらに長期の発がん性試験 (104 週間) において同様の所見がみられなかったことから、投与に起因する影響ではないと考えられる。100 mg/kg 体重/日以上投与群の雌で体重減少及び摂餌量の低下、300 mg/kg 体重/日以上投与群の雌で体重増加量の減少が認められたが、これらの変化は嗜好性の低下を裏付けるものと考えられた。100 mg/kg 体重/日以上投与群の雌では心臓重量の低値を示したが、心臓比重量は対照群と同等であった。病理組織学的検査では、30 mg/kg 体重/日投与群の雌で下垂体腺腫の発生頻度が有意に増加したが、用量依存性はみられず、その頻度は背景データの範囲内であった<sup>29)</sup>。

以上から、本試験において毒性を示唆する所見は認められず、本試験における NOAEL は 1,006 mg/kg 体重/日以上<sup>\*4</sup>と考えられる。

#### オ. イヌ 52 週間混餌投与及び 4 週間回復性試験

ビーグル犬 (各群雌雄各 4 又は 6 匹) にネオテーム (0、20、60、200、800 mg/kg 体重/日) を 52 週間混餌投与し、その後各群雌雄各 2 匹について 4 週間回復性試験 (0、200、800 mg/kg 体重/日) を行った。800 mg/kg 体重/日投与群で、摂餌量の低下、投与期間中いずれの検査時期においても ALP の有意な上昇が認められた。ALP アイソザイムは肝由来の ALP であり、ALP の増加は、回復期間中に正常値に復す可逆的な変化であった。また、肝重量、肝の病理解剖学的又は病理組織学的検査で投与による影響は認められなかった<sup>30)</sup>。

以上から 800 mg/kg 体重/日投与群における ALP の上昇に基づき、本試験における NOAEL は 197mg/kg 体重/日<sup>\*4</sup>と考えられる。

#### ②繁殖試験

SD ラット (各群雌雄各 28 匹) にネオテーム (0、100、300、1,000 mg/kg 体重/日) を  $F_0$  の雄に交配前 10 週から計 14 週間、雌に交配前 4 週間及び  $F_1$  離乳までの計 10~11 週間、 $F_1$  の雄に離乳から 15~16 週間、 $F_1$  の雌に離乳から  $F_2$  離乳までの 17~20 週間混餌投与し、二世世代繁殖試験を行った。

親動物 ( $F_0$ 、 $F_1$ ) では、1,000 mg/kg 体重/日投与群で摂餌効率の低下が交配前期間に認められた。交配前期間に 1,000 mg/kg 体重/日投与群の雄で、交配前及び妊娠期間に 1,000 mg/kg 体重/日投与群の雌で、低体重及び体重増加量の減少が認められた。1,000 mg/kg 体重/日投与群の各種臓器の絶対重量の減少と相対重量の増加が認められたが、それらは動物の低体重に伴うものと考えられた。その他、性周期、交尾能、受胎能、妊娠期間、出産率、妊娠率等について、投与による影響は認められ

なかった。

児動物 (F<sub>1</sub>、F<sub>2</sub>) では、F<sub>1</sub> の 300 mg/kg 体重/日投与群の雄及び 1,000 mg/kg 体重/日投与群の生後 1 日の低体重、並びに F<sub>1</sub> の 300 mg/kg 体重/日以上投与群及び F<sub>2</sub> の 1,000 mg/kg 体重/日投与群の生後 21 日の低体重がみられた。F<sub>1</sub> の学習能を水迷路で検査した結果、1,000 mg/kg 体重/日投与群の雄で有意な水泳時間の延長が認められたが、変動は小さく、背景データの範囲内であった。その他、一般状態、出産児数、胎児生存率、性比、身体的、機能的発達等について、投与による影響は認められなかった<sup>31)</sup>。

以上から本試験において繁殖能力に影響は認められず、F<sub>1</sub> の 300 mg/kg 体重/日以上投与群における生後 1 日の低体重に基づき、本試験における NOAEL は 96.5 mg/kg 体重/日<sup>\*4</sup>と考えられる。(本試験における NOAEL は、親動物の一般毒性に対して 299 mg/kg 体重/日<sup>\*4</sup>、生殖発生毒性に対して 96.5 mg/kg 体重/日<sup>\*4</sup>と考えられた。繁殖指標に対する影響はみられなかった。)

### ③催奇形性試験

#### ア. ラット催奇形性試験

SD ラット (各群雌 24 匹) にネオテーム (0、100、300、1,000 mg/kg 体重/日) を交配前 28 日間、交配期間及び妊娠 20 日まで混餌投与した後、妊娠 20 日に妊娠ラットを帝王切開し、胎児を調べた。母動物について、1,000 mg/kg 体重/日投与群で投与開始 1 週間の総摂餌量、低体重及び体重増加量の減少が認められたが、これらの変化は餌に対する忌避行動によるものと考えられた。妊娠率、黄体数、胎児数、胎児生存率、着床前胚死亡率及び着床後胚/胎児死亡率に投与の影響はみられなかった。胎盤重量、生存胎児の体重、外表・骨格・内部器官の形態的所見に投与による影響はみられなかった<sup>32)</sup>。

以上から、本試験における母動物及び胎児に対する NOAEL は 964 mg/kg 体重/日以上<sup>\*4</sup>と考えられる。催奇形性は認められなかった。

#### イ. ウサギ催奇形性試験

ニュージーランド白色ウサギ (各群雌 20~25 匹) に、妊娠 6 日から 19 日までの 14 日間、ネオテーム (0、50、150、500 mg/kg 体重/日) を強制経口投与し、妊娠 29 日に妊娠ウサギを帝王切開し、胎児を調べた。

全胚/胎児死亡が対照群及び 500 mg/kg 体重/日投与群の各 1 母体にみられ、500 mg/kg 体重/日投与群の例は 1 個の胚のみが着床し死亡胚であった。また、500 mg/kg 体重/日投与群の 1 例に死亡、2 例に流産がみられた。これらの変化は、これらの妊娠ウサギいずれにも観察された摂餌量の著減及びそれに続く体重減少によるものと考えられた。群平均の摂餌量及び体重増加量に対照群との有意差はなかった。胎児数、胎児生存率、着床前胚死亡率及び着床後胚/胎児死亡率に投与の影響はみられなかった。胎盤重量、生存胎児の体重、外表・骨格・内部器官の形態的所見に投

与による影響はみられなかった<sup>33)</sup>。

以上から、本試験における母動物に対する NOAEL は、500 mg/kg 体重/日投与群において死亡例、流産例が認められたことに基づき 150 mg/kg 体重/日、胎児に対する NOAEL は 500 mg/kg 体重/日以上と考えられる。催奇形性は認められなかった。

#### ④発がん性試験

##### ア. マウス 104 週間発がん性試験

ICR マウス（対照群：雌雄各 140 匹、投与群：各群雌雄各 70 匹）にネオテーム（0、50、400、2,000、4,000 mg/kg 体重/日）を 104 週間混餌投与した。400 mg/kg 体重/日以上投与群で体重が対照群に比べて低く推移し、摂餌量が低下した。4,000 mg/kg 体重/日投与群の雌で心重量が減少したが、病理解剖学的検査において、投与に起因する影響はみられなかった。4,000 mg/kg 体重/日投与群の雄で肝細胞腺腫の、雌で細気管支／肺胞腺がんの発生頻度の増加傾向がみられたが有意差はみられなかった<sup>34)</sup>。

以上から、発がん性は認められないと考えられる。

##### イ. ラット *in utero* 暴露／104 週間発がん性試験

SD ラット (F<sub>0</sub>)（対照群：雌雄各 170 匹、投与群：各群雌雄各 85 匹）にネオテーム（0、50、500、1,000 mg/kg 体重/日）を交配前 4 週間と交配期間中、雌にはさらに出産後 21 日目まで混餌投与し、得られた児 (F<sub>1</sub>)（対照群：雌雄各 147 匹、投与群：各群雌雄 73～75 匹）に同用量のネオテームを 104 週間混餌投与した。F<sub>1</sub> の投与群で体重増加抑制及び摂餌量の低下が認められた。病理組織学的検査において、50 mg/kg 体重/日投与群の雄で腎腺腫の発生頻度が有意に増加したが、用量依存性が認められないことから、偶発的なものと考えられた<sup>35)</sup>。

以上から、発がん性は認められないと考えられる。

#### ⑤抗原性試験

モルモット皮膚感作性の有無について、Ch:(HA)BR モルモット（対照群：雌雄各 5 匹、投与群：雌雄各 10 匹）にネオテーム（0、0.4 g/匹）を接着パッチにのせ、週 1 回 6 時間を 3 週間（計 3 回）にわたり貼付し感作暴露した後、2 週間後に誘発暴露を行った。その結果、両群ともに皮膚反応は認められなかった<sup>36)</sup>。

なお、各種動物試験及びヒトへの投与試験において、アレルギーを示唆する所見は認められていない。

#### ⑥遺伝毒性試験

##### ア. 細菌を用いた復帰突然変異試験

細菌 (*Salmonella typhimurium* TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA1538、*Escherichia coli* WP2uvrA) を用いた復帰突然変異試験 (312～10,000 µg/プレート) の結果、S9mix



の有無にかかわらず、陰性であった<sup>37)</sup>。

イ. L5178Y マウスリンパ腫細胞を用いた遺伝子突然変異試験

L5178Y マウスリンパ腫細胞を用いた遺伝子突然変異試験 (100~1,000 µg/mL) において、チミジンキナーゼ遺伝子座 (tk) の変異誘発について検討した結果、S9mix の有無にかかわらず、変異誘発は認められなかった<sup>38)</sup>。

ウ. チャイニーズハムスター卵巣 (CHO) 由来細胞を用いた染色体異常試験

チャイニーズハムスター卵巣 (CHO) 由来細胞を用いた染色体異常試験 (S9mix 存在下 : 250~1,000 µg/mL、S9mix 非存在下 : 62.5~250 µg/mL) の結果、S9mix の有無にかかわらず、染色体異常の誘発は認められなかった<sup>39)</sup>。

エ. 雌雄 ICR マウスを用いた小核試験

雌雄 ICR マウス (各群 10 匹) を用いた強制経口投与による小核試験 (500、1,000、2,000 mg/kg 体重) の結果、小核の誘発は認められなかった<sup>40)</sup>。

以上から、ネオテームには遺伝毒性はないものと考えられる。

⑦一般薬理試験

ア. 一般症状及び行動に及ぼす影響

ラット及びイヌを用いた 13 週間混餌投与試験において、投与に起因する一般症状及び行動に及ぼす影響はみられなかった<sup>27), 28)</sup>。(「①反復投与毒性試験」の項参照)

イ. 中枢神経系に及ぼす影響

(ア) 自発運動量に及ぼす影響

ラットを用いた繁殖試験において、自発運動量に及ぼす影響を検討したところ、自発運動量に及ぼす影響は認められなかった<sup>31)</sup>。(「②繁殖試験」の項参照)

(イ) 麻酔作用に及ぼす影響

SD ラット (各群雌雄各 5 匹) にネオテーム (5、15 mg/kg 体重) を経口投与し、30 分後にヘキソバルビツール (雄 : 150 mg/kg 体重、雌 : 100 mg/kg 体重) を腹腔内投与したところ、ヘキソバルビツール誘発睡眠時間への影響はみられなかった<sup>41)</sup>。

(ウ) その他

ラット及びイヌを用いた 13 週間混餌投与試験において、中枢神経系に及ぼす影響は認められなかった<sup>27), 28)</sup>。またイヌにおいては、体温に及ぼす影響は認められなかった。(「①反復投与毒性試験」の項参照)