

臓器の病理組織学的検査において投与に起因した変化はみられなかった<sup>11)</sup>。

Birmingham-Wistar 雄性ラット (各群 10 匹) にナイシン加水分解物 (ナイシン製剤を 1.0 N 塩酸で加水分解し、脱水して活性炭処理後に再結晶したもの)、又はナイシン ( $3.33 \times 10^6$  U/kg 飼料) を 10 週間混餌投与した後、さらに 25 週間混餌投与したところ、ナイシン加水分解物を混餌投与した動物の体重増加に影響はなかった。個別ケージで飼育されたラットの脾臓重量の増加がみられたが、複数でケージに入れられた飼育群に同様の変化はみられず、また、評価された他の指標には影響がみられなかったことから、ストレスに起因すると結論されている<sup>26)</sup>。

F344/DuCrIj ラット (雌雄各群 10 匹) にナイシン A (生物学的力価: 3,000 IU/mg、飼料中濃度 0、0.2、1.0 及び 5.0% ; 約 0、120、600、3,000 mg/kg 体重/日相当、参照対照群 3.712% NaCl 添加飼料 (5.0% ナイシン A 添加飼料中の NaCl 含量; 約 2,200 mg/kg 体重/日相当)) を 90 日間反復投与したところ、投与期間中に死亡例はみられず、一般状態、体重、摂餌量、眼科的検査及び肉眼的病理検査において被験物質に起因すると考えられる変化は認められなかった。5.0% 投与群の雌雄で血色素量 (HGB) の上昇、平均赤血球色素量 (MCH) の上昇、5.0% 投与群の雌で平均赤血球血色素濃度 (MCHC) の上昇が認められた。

ナイシン A 投与群において、摂水量の高値、尿検査における尿量の高値、尿中 Na 及び Cl の高値、尿中 K の低値、血液生化学的検査における Na の低値、腎臓の絶対重量及び相対重量の高値、病理組織学的検査における前胃の境界縁における扁平上皮過形成が観察された<sup>28)</sup>。しかし、これらの変化は参照対照群においても観察されており、被験物質に含まれる NaCl に起因する変化と考えられる。なお、血液生化学的検査の総コレステロール (T-CHO) 及びリン脂質 (PL) の用量相関的な減少は、参照対照群では認められておらず、ナイシンの影響による影響と考えられるが、毒性学的な意義はないと考える。

よって、ナイシンの NOAEL は 1.0% (ナイシン 1 g は  $40 \times 10^6$  IU に相当することから、45 mg/kg 体重/日相当) と考えられる。

ビーグル犬 (雌雄各 2 匹) に精製ナイシンを最大耐量 (MTD: 12 日間かけて 0 (対照群)、あるいは 500、1,000、2,000 mg/kg 体重/日と増量) と固定用量 (対照群について、続いて 2,000 mg/kg 体重/日を 7 日間) を強制経口投与したところ、MTD 及び固定用量投与期間において、一般状態、生存率、体重、摂餌量、血液学的検査、尿検査、臓器重量、剖検所見及び病理組織学的検査において投与に起因する変化はみられず、精製ナイシン 2,000 mg/kg 体重/日投与での毒性は認められていない<sup>29)</sup>。

ビーグル犬 (雌雄各 3 匹) への精製ナイシン (ナイシンとして 0、150、500、2,000 mg/kg 体重/日) の 28 日間強制経口投与により、一般状態、生存率、眼科学的検査、心電図検査、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、臓器重量、剖検所見及び病理組織学的検査結果では、投与に関連した変化はみられていない。2,000 mg/kg

体重/日投与群の雄及び 150 mg/kg 体重/日投与群以上の雌で、対照群と比較して体重増加抑制がみられ、500 mg/kg 体重/日投与群以上の雌で摂餌量の減少が認められた<sup>30)</sup>。

### ③慢性毒性

Wistar ラット（雌雄各 10 匹）に 2.0 mg/kg 体重/日のナイシン製剤（生物学的力価： $10^6$  IU/g）を通常の飼料を与える前にペースト状にして 18 ヶ月間混餌投与した結果、ナイシン投与群の平均摂餌量は対照群と同程度で、摂水量は雌の投与群で高値を示した。血液 pH（blood alkalinity）、C 反応性蛋白及び血液形態学的評価は、対照群と同程度であった<sup>22)</sup>。

### ④慢性毒性（／繁殖毒性）

Birmingham-Wistar ラット（雌雄各 10 匹）に基礎飼料又はナイシン製剤  $3.33 \times 10^4$  U/kg 含有飼料、 $3.33 \times 10^6$  U/kg 含有飼料（1,665、166,500 U/kg 体重/日<sup>25)</sup>）を最長約 2 年間で与えた。16 週間後、同一群の雌雄を交配させ、生殖能力を評価し、各投与群の出生児（F1）の雌 30 匹と雄 10 匹に親（F0）と同じ食餌を与えた。F0 の対照群と投与群では生存率及び生殖能力に差はみられず、F1 の血液学的検査、肝臓、腎臓、消化管の機能検査は正常であった。F0 及び F1 とともに、雄の投与群において体重増加の有意な減少がみられたが、これは摂餌量のわずかな低下に起因すると考えられている。雌の高用量群で腎臓、卵巣及び子宮の相対重量が有意に増加したが、肉眼的及び病理組織学的所見に特記すべき異常は認められなかった。よって、ナイシンの NOAEL は  $3.33 \times 10^6$  U/kg 含有飼料と考えられる（JECFA は、4.16 mg/kg 体重/日相当と換算し、FDA は、4.9 mg/kg 体重/日相当と換算している）<sup>26)</sup>。  
注7、注8。

非げっ歯類を用いた慢性毒性試験は実施されていない。

### ⑤発がん性

発がん性試験は実施されていない。なお、ラット 2 年間慢性毒性試験の病理組織学的所見に異常はみられていない<sup>26)</sup>。

### ⑥繁殖毒性

3 世代（F0、F1B、F2B）の Cri:CDBR ラット（各群雄 12 匹、雌 24 匹）にナイシン製剤 0、0.2、1.0、5.0% を含有する基礎飼料（(0、0.1、0.5、2.5)  $\times 10^6$  IU/kg 体

注7 ナイシン 1 g は  $40 \times 10^6$  U に相当し<sup>21)</sup>、「Principles for the Safety Assessment of Food Additives and Contaminants in Food (JECFA, 1987)」において示されたラット (old) の食餌中濃度の換算係数（1 ppm=0.050 mg/kg 体重/日）を採用すると、NOAEL は 4.16 mg/kg 体重/日となる。

注8 FDA は、実験者の仮定（ラットの体重を 250 g、摂餌量を 15 g と仮定）に基づき、高用量群の投与量が  $1.96 \times 10^5$  U/kg 体重（4.9 mg/kg 体重）に相当することから、ADI を 0.049 mg/kg 体重/日と算出している。

重/日<sup>25)</sup>、並びに参照対照群としてNaClを3.8%含有する飼料を与えた。親動物については、F0の5.0%投与群の雄群で体重増加抑制が観察されたが、食餌効率、交配行動、妊娠率、妊娠期間、肉眼的病理検査では、投与に起因した変化はみられなかった。児動物については、生存率、同腹児数、剖検所見、試験終了時の臓器重量及び病理組織学的検査に投与に起因した変化はみられなかったが、F2Bの5.0%投与群で低体重が観察された<sup>31)</sup>。よって、ナイシンのNOAELは1.0% (12.5 mg/kg 体重/日相当) と考えられる<sup>注9)</sup>。

#### ⑦遺伝毒性

*Salmonella typhimurium* (TA98、TA100、TA1535、TA1537) と *Escherichia coli* (WP2/pKM101、WP2*uvrA*/pKM101) を用いた精製ナイシンの復帰突然変異試験において、S9mixの有無にかかわらず、試験した全ての用量 (0~1,500 µg/プレート) において陰性であった<sup>32)</sup>。

マウスリンパ腫 L5178Y 細胞を用いた精製ナイシンの遺伝毒性試験において、S9mixの有無にかかわらず、いずれの濃度 (最低濃度 25~50、最高濃度 300~1,000 µg/mL) においても陰性であった<sup>33)</sup>。

ヒトリンパ球初代培養細胞を用いた精製ナイシンの染色体異常試験において、S9mixの有無にかかわらず、いずれの用量 (62.5~500 µg/mL) においても染色体異常誘発性は認められていない<sup>34)</sup>。

*In vivo* マウス骨髄小核試験では、最高 2,000 mg/kg 体重/日のナイシン強制経口投与マウスの骨髄の多染性赤血球 (PCE) において小核の誘発は認められず、生体内における染色体異常誘発性はないものと考えられる<sup>35)</sup>。

#### ⑧抗原性

モルモット回腸の収縮の測定による感作性の検討において、ナイシン製剤 50 mg (50,000 U) /日を3ヶ月間混餌投与した3匹の感作性は陰性であったが、等用量を単回腹腔内投与した3匹では全て陽性であった。これは、ナイシンが小腸内のタンパク質分解酵素やペプチダーゼによって分解されることと整合するとされている<sup>26)</sup>。

#### ⑨一般薬理

一般薬理試験は実施されていない。

### 6 国際機関等における評価

#### (1) JECFA における評価

JECFA では、1968年に、ラット2年間慢性毒性試験<sup>26)</sup>の結果よりラットにおける

<sup>注9)</sup> 注7で用いた換算係数を採用すると、ナイシン製剤(ナイシン2.5%含有<sup>26)</sup>)1.0%投与群の投与量は12.5 mg/kg 体重/日に相当する。

NOAEL を最高用量の 3,330,000 U/kg として、ADI は 33,000 U/kg と設定した<sup>3)</sup>が、原著論文によるとこの値は飼料中の濃度である。ヒト体重あたり、かつ mg 単位に換算すると、NOAEL は 4.16 mg/kg 体重/日に相当し、ADI は 0.042 mg/kg 体重/日となる<sup>注7</sup>。

なお、細菌抵抗性について、細菌においてナイシン以外の抗生物質治療に影響する交差耐性が生じることを示した包括的な微生物学的研究は示されておらず、ナイシンの抗菌活性は上部消化管におけるタンパク質の分解消化により即座に失われるため、腸内細菌叢に対する影響が示されることはないとされている。

2007 年の第 68 回 JECFA 会合において、従来の乳培地を用いて製造されたナイシン製剤に加え、糖培地を用いて製造されたナイシン製剤についても成分規格に含めるための変更がなされた<sup>36)</sup>。

## (2) 米国食品医薬品庁 (FDA) における評価

米国 FDA では、1984 年に、JECFA が評価に用いたラット 2 年間慢性毒性試験<sup>26)</sup>の結果より、ナイシンの ADI を 2.9 mg/ヒト/日と設定した旨公表しており<sup>37), 38)</sup>、これは体重 60 kg 換算で、0.049 mg/kg 体重/日となる<sup>注8</sup>。

なお、ナイシンはパンクレアチン (腸内酵素) により分解されることから、腸内細菌叢に影響を与えないと考えられ、病原微生物の交差耐性に影響するとの報告はないとしている。

## (3) 欧州食品科学委員会 (SCF) における評価

SCF が 1990 年に発表した報告書<sup>39)</sup>によると、SCF は、ラット及びマウスの急性毒性、亜急性並びに長期試験、及びラットの繁殖毒性試験について JECFA が 1968 年にレビューした資料を入手し、さらに *in vitro* 及び *in vivo* の遺伝毒性試験、繁殖毒性試験についてレビューし、遺伝毒性及び発がん性に関する入手可能なデータでは、現在の毒性試験基準を満たしていないが、投与に関連した有害作用は認められていないとし、3 世代繁殖毒性試験の結果<sup>31)</sup>に基づき、ADI を 0.13 mg/kg 体重/日と設定しているが、NOAEL 等の評価の詳細な内容は発表されていない<sup>注9</sup>。

なお、本報告書中で引用されているレポートでは、感受性菌である *Staphylococcus* 属がナイシン自身に耐性を示す証拠があるが、微生物がナイシンに暴露されることにより、抗生物質やその他の治療薬に対し耐性を生じる可能性はほとんどないとしている。

2006 年 1 月、欧州食品安全機関 (EFSA) の AFC パネルは、ADI 0.13 mg/kg 体重/日を変更しなければならなくなるような新しいデータはないとしている。また、ナイシンはトリプシンとパンクレアチンにより不活性化されることから腸内細菌叢には影響しないと推察するとともに、食品へのナイシン使用により耐性を生じる懸念はないと指摘している<sup>40)</sup>。

2006 年 10 月に AFC パネルは、糖培地を用いて製造されたナイシン (製剤) は、

従来の乳培地を用いて製造されたナイシン（製剤）と同等であるが、より純度が高く、タンパク質（ナイシン A 以外）の残留物質、脂肪、炭水化物及び乳糖の含有が少ないと評価している。その上で、ADI 0.13 mg/kg 体重/日を変更する必要はないことを確認するとともに、乳製品に対するアレルギーのリスクを回避できるだろうと結論している<sup>41)</sup>。

動物種	試験種類	試験期間	飼料中濃度	NOAEL 又は NOEL	備考
ラット	慢性毒性/ 繁殖 <sup>26)</sup>	2年間	3.33×10 <sup>4</sup> 、 3.33×10 <sup>6</sup> U/kg 飼料 (0.83、83.3 mg/kg 飼料)	3.33×10 <sup>6</sup> U/kg 飼料 (83.3 mg/kg 飼料) [4.16 mg/kg 体重/日相当 <sup>注7)</sup>	JECFA(1968) ADI=3.3×10 <sup>4</sup> U/kg (0.042 mg/kg 体重/日)
				[4.9 mg/kg 体重/日相当 <sup>注8)</sup>	FDA(1984) ADI=0.049 mg/kg 体重/日
	繁殖 <sup>31)</sup>	26週間	0、0.2、1.0、5.0%	1.0% [12.5 mg/kg 体重/日相当 <sup>注9)</sup>	EU/SCF(1990) ADI=0.13 mg/kg 体重/日

## 7 一日推定摂取量の推計

米国では、プロセスチーズスプレッド、フランクフルトのケーシング等に使用されており、ナイシンの食品からの推定摂取量は 2.15 mg/ヒト/日（体重 60 kg として 0.036 mg/kg 体重/日）とされている<sup>22), 37), 42)</sup>。また、EU では、チーズ等に使用されており、推定摂取量は 0.008 mg/kg 体重/日との情報がある<sup>2), 43)</sup>。

要請者により提案されている使用基準案に基づき、添加物として使用された場合のわが国における推定摂取量は、国民健康・栄養調査を参考にして算出すると 0.045 mg/kg 体重/日とされている（別添：ナイシンの使用予定品目及び推定摂取量）<sup>44)</sup>。

## 8 評価結果

ナイシンについて、*in vitro* 及び *in vivo* における遺伝毒性試験において全て陰性の結果が得られており、生体にとって問題となる遺伝毒性を有するとは考えられず、また発がん性を有するものではないと考えられる。

JECFA 及び米国 FDA が根拠としているラット 2 年間慢性毒性試験は、1960 年代に実施された試験であり信頼性が担保できないことから、一日摂取許容量（ADI）設定には用いず、あくまで評価の参考に用いることとした。

欧州 SCF の評価の根拠とされているラット 3 世代繁殖毒性試験については、親動物

F0の5.0%投与群の雄群で認められた体重増加抑制、児動物F2Bの5.0%投与群で認められた低体重を根拠に、NOAELは1.0%（12.5 mg/kg 体重/日相当）と評価した。

追加資料として提出されたラットの90日間反復投与毒性試験では、5.0%投与群の雌雄で認められた血液学的検査項目（MCH、HGB等）の変動を根拠に、NOAELは1.0%（45 mg/kg 体重/日相当）と評価した。

以上より、ナイシンのNOAELの最小値は、ラット3世代繁殖毒性試験の1.0%（12.5 mg/kg 体重/日相当）と考えられる。安全係数は、繁殖毒性試験で認められている毒性が重篤なものではないことから、通常の100を適用することとした。

上記を踏まえ、ナイシンのADIは、0.13 mg/kg 体重/日と評価した。

ADI	0.13 mg/kg 体重/日
(ADI 設定根拠資料)	3世代繁殖毒性試験
(動物種)	ラット
(投与方法)	混餌投与
(NOAEL 設定根拠所見)	F0：体重増加抑制、F2B：低体重
(NOAEL)	12.5 mg/kg 体重/日
(安全係数)	100

ナイシンは、グラム陽性菌の芽胞の生育を阻害する乳酸菌バクテリオシン（ペプチド）であり、上部腸管でパンクレアチン等により分解され、不活化される。

耐性菌の選択に関する専門家の意見のポイントは以下のとおりである。

- ・経口摂取したとしても体内には吸収されず、腸管への移行も少量であり、また、移行したナイシンは腸内酵素により分解又は不活性化されると考えられ、下部腸管における腸内細菌叢への影響も極めて少ない。
- ・近年、リステリア菌のナイシン耐性及び他のバクテリオシンとの交差耐性に関する報告があるものの、医療用抗生物質との交差耐性は実験的に認められておらず、医療上の問題となったとの臨床における報告も得られていない。
- ・仮に添加物としての使用により、耐性菌が選択されるとしても、海外における長期の使用経験の中で、ヒトの健康に重大な影響を及ぼしたとする報告は現時点で得られていない。

以上、現時点で得られている知見から判断して、添加物として適切に使用される場合にあっては、交差耐性を含む耐性菌出現による医療上の問題を生じる可能性は極めて少ないと考えられる。

なお、ナイシンを添加物として適切に使用するためには、使用基準を慎重に検討することが重要であり、欧米における使用状況を勘案した上で、耐性菌出現により有効性等に影響を及ぼすことがないよう十分な配慮が必要と考えられる。

また、新たな知見が得られた場合には、必要に応じて再評価を検討する必要があると考える。

糖培地を用いて製造されたナイシン製剤（変更工程品）は、乳培地を用いて製造されたナイシン製剤（従来工程品）と同等の力価を有し、より純度が高く、また、乳由来の不純物の含有がないことから乳アレルギーのリスクの低減化が図れると考える。以上から、従来工程品の評価結果は変更工程品の評価にも適用することが可能であると判断した。

## 【引用文献】

- 1) 21 CFR Ch.I (4-1-03 Edition) Food and Drug Administration, HHS.§184.1538 2003.
- 2) European Parliament and Council Directive No 95/2/EC of 20 Feb 1995 on food additives other than colours and sweeteners
- 3) FAO Nutrition Meetings Report Series: 45A 1968 Specifications for the identity and purity of food additives and their toxicological evaluation: some antibiotics: 33-35.
- 4) Nisin (E234) new specification – process modification/ liquid eggs application (ダニスコ社が欧州委員会に提出した規格変更、液卵用途追加の要望資料 (2005年10月24日))
- 5) Re:Nisin (INS 234) - Specification Modification, November 24, 2006 (ダニスコ社がJECFAに提出した規格変更の要望資料 (2006年11月24日))
- 6) Nisin (INS 234) - Specification Revision, November 24, 2006 三栄源エフ・エフ・アイ(株) 社内資料 (ダニスコ社がJECFAに提出した規格変更の要望資料 (2006年11月24日))
- 7) 乳培地及び糖培地由来ナイシンAのHPLC分析比較. 三栄源エフ・エフ・アイ(株) 社内資料. (2007年11月)
- 8) SDS-PAGE Analysis of Nisaplin and Nisaplin Dairy、ダニスコ社内資料 (2007年11月14日)
- 9) Claypool L, Heinemann B, Voris L, Stumbo CR. Residence time of nisin in the oral cavity following consumption of chocolate milk containing nisin. *J. Dairy Sci.* (1966) 49: 314-316.
- 10) Cowell ND, Allen AR, Jarvis B. The *in vivo* effect of nisin on the microflora of the oral cavity. *J. Appl. Bact.* (1971) 34: 787-791.
- 11) Hara S, Yakazu K, Nakakawaji K, Takeuchi T, Kobayashi T, Sata M, Imai Z, Shibuya T. An investigation of toxicity of nisin with particular reference to experimental studies of its oral administration and influence by digestive enzymes. *J. Tokyo Med. Coll.* (1962) 20: 176-207.
- 12) Heinemann B, Williams R. Inactivation of nisin by pancreatin. *J. Dairy Sci.* (1966) 49: 312-314.
- 13) Jarvis B, Mahoney RR. Inactivation of nisin by alpha-chymotrypsin. *J. Dairy Sci.* (1969) 52: 1448-1450.
- 14) Hirsch A, Wheeler DM. The production of antibiotics by *Streptococci*. *J. Dairy Res.* (1951) 12: 193-197.
- 15) 川本伸一, 島純. 乳酸菌科学の最前線-どこに向かうのか 乳酸菌バクテリオシンとその利用. *Foods & Food Ingred. J. Jpn.* (2004) 209: 758-767.
- 16) Gravesen A, Kallipolitis B, Holmstrom K, Hoiby PE, Ramnath M, Knochel S. pbp2229-Mediated nisin resistance mechanism in *Listeria monocytogenes* confers cross-protection to class IIa bacteriocins and affects virulence gene expression. *Appl.*



- Environ. Microbiol.* (2004) 70: 1669-1679.
- 17) Rasch M, Knochel S. Variations in tolerance of *Listeria monocytogenes* to nisin, pediocin PA-1 and bavaricin A. *Lett. Appl. Microbiol.* (1998) 27: 275-278.
  - 18) Crandall AD, Montville TJ. Nisin resistance in *Listeria monocytogenes* ATCC 700302 is a complex phenotype. *Appl. Environ. Microbiol.* (1998) 64: 231-237.
  - 19) Song H-J, Richard J. Antilisterial activity of three bacteriocins used at sub minimal inhibitory concentrations and cross-resistance of the survivors. *Int. J. Food Microbiol.* (1997) 36: 155-161.
  - 20) Hossack DJN, Bird MC, Fowler GG. The effects of nisin on the sensitivity of microorganisms to antibiotics and other chemotherapeutic agents. *Antimicrobials and Agriculture* (1983) 425-433.
  - 21) 'Purified nisin: Acute oral toxicity (limit test) in the rat'. SPL Project Number: 867/002. SafePharm Laboratories, November 1995. Unpublished Confidential Report.
  - 22) Shtenberg AJ, Ignat'ev AD. Toxicological evaluation of some combinations of food preservatives. *Fd. Cosmet. Toxicol.*(1970) 8: 369-380.
  - 23) 'Ambicin N (purified nisin): 7 Day oral (gavage administration) toxicity study in the rat'. Corning Hazleton. Report No. 1334/3-1050. December 1995. Unpublished Confidential Report.
  - 24) 'Ambicin (purified nisin): 28 Day oral (gavage administration) toxicity study in the rat'. Corning Hazleton. Report No. 1334/1-1050. April 1996. Unpublished Confidential Report.
  - 25) Principles for the safety assessment of food additives and contaminants in food. Environmental Health Criteria 70. IPCS in cooperation with the JECFA. World Health Organization, Geneva. (1987).
  - 26) Frazer AC, Sharratt M, Hickman JR. The biological effects of food additives. I. -Nisin. *J. Sci. Food&Agri.* (1962) 13: 32-42.
  - 27) Pesquera TI. Nisin -its use, estimation and toxicity in sterilised milk. *Revista Espanola de Lecheria.* (1966) 59: 25-41.
  - 28) ナイシンAのラットを用いた90日間反復投与毒性試験 試験番号0637  
株式会社DIMS医科学研究所 (最終報告書 2007.6.27)
  - 29) 'Ambicin N (purified nisin): Maximum tolerated dose (MTD) toxicity study followed by a 7 day fixed dose oral (gavage administration) toxicity study in the dog'. Corning Hazleton. Report No. 1334/4-1050. December 1995. Unpublished Confidential Report.
  - 30) 'Ambicin (purified nisin): 28 Day oral (gavage administration) toxicity study in the dog'. Corning Hazleton. Report No. 1334/1-1050, Corning Hazelton (Europe), Harrogate N. Yorkshire, England. April 1996.
  - 31) 'Effect of nisaplin on reproductive function of multiple generations in the rat'. Huntingdon Research Centre. Report No. APL 1/801028, June 1981. Unpublished

Confidential Report.

- 32) 'Ambicin N (purified nisin). Bacterial mutation assay'. Huntingdon Life Sciences. Report No. APM 1/952077, November 1995 and Protocol. Unpublished Confidential Report.
- 33) 'Ambicin N. Mouse lymphoma mutation assay'. Inveresk Research International. Report number 12242, December 1995 and Protocol. Unpublished Confidential Report.
- 34) 'Ambicin (purified nisin). Metaphase chromosome analysis of human lymphocytes cultured in vitro'. Huntingdon Life Sciences. Report No. APM 2/952601, April 1996 and Protocol. Unpublished Confidential Report.
- 35) 'Ambicin N (purified nisin). Induction of micronuclei in the bone marrow treated mice'. Corning Hazleton. Report No. 1334/5-1052, January 1996 and Protocol. Unpublished Confidential Report.
- 36) JECFA. 「NISIN PREPARATION」  
(<http://www.fao.org/ag/agn/jecfa-additives/specs/monograph4/additive-295-m4.pdf>)
- 37) Federal Register : 53 FR 11247, Apr. 6, 1988, Food and Drug Administration, HHS.
- 38) Memorandum of November 9, 1984, from Alfred N. Milbert to John W. Gordon.
- 39) Food-science and techniques Reports of the Scientific Committee for Food (Twenty-sixth series). Commission of the European Communities. (1992)
- 40) Opinion of the Scientific Panel on Food Additives, Flavourings, Processing Aids and Materials in Contact with Food on a request from the Commission related to The use of nisin (E234) as a food additive. Question number EFSA-Q-2005-031 (Adopted on 26 January 2006) 314; 1-16
- 41) Opinion of the Scientific Panel on Food Additives, Flavourings, Processing Aids and Materials in Contact with Food on the safety in use of nisin as a food additive in an additional category of liquid eggs and on the safety of nisin produced using a modified production process as a food additive. Question number EFSA Q-2005-031b (Adopted on 20 October 2006) 314b; 1-8
- 42) Agency Response Letter GRAS Notice No. GRN 000065.
- 43) Shillinger Y, Bogoroditskaia VP, Osipova IN. Hygienic characteristics of a Soviet-made preparation nisin –an antibiotic employed for preservation of food products. (1969) 28:44-48
- 44) 健康・栄養情報研究会編：国民栄養の現状（平成 16 年厚生労働省国民健康・栄養調査結果）平成 16 年
- 45) Hirsch A, Mattick ATR. Some recent applications of nisin. *The Lancet*. (1949) 190: 190-7.

ナイシン 安全性試験結果

試験	投与期間	動物種	投与方法	1群当たりの動物数	被験物質	投与量 又は濃度	試験結果	参考資料
急性 毒性	単回 (7日間 観察)	ラット	経口	記載なし	ナイシン製剤 ( $10^6$ U/g)	最高 $10^6$ U/kg 体重	LD <sub>50</sub> : $>10^6$ U/kg 体重	26
			腹腔内	記載なし	ナイシン製剤 ( $10^6$ U/g)	最高 $10^6$ U/kg 体重	LD <sub>50</sub> : $>10^6$ U/kg 体重	
	単回 (2週間 観察)	ラット	経口	雌雄各 5	精製ナイシン ( $52.2 \times 10^6$ U/g)	2,000 mg/kg 体 重	LD <sub>50</sub> : $>2,000$ mg/kg 体重	21
	単回 (7日間 観察)	ラット	強制経 口	3	ナイシン製剤 ( $10^6$ U/g)	(0.5、1.0、1.5) $\times 10^6$ RU/kg 体 重	LD <sub>50</sub> : $>1.5 \times 10^6$ U/kg 体重	27
	単回	マウス	経口	10	ナイシン製剤 ( $10^6$ U/g)	6,000-8,000 mg/kg 体重	LD <sub>50</sub> : 6,950 mg/kg 体重	11
			腹腔内	10	ナイシン製剤 ( $10^6$ U/g)	3,500-6,000 mg/kg 体重	LD <sub>50</sub> : 4,750 mg/kg 体重	
			皮下注	10	ナイシン製剤 ( $10^6$ U/g)	3,500-5,000 mg/kg 体重	LD <sub>50</sub> : 4,450 mg/kg 体重	
	単回	ウサギ	静注	記載なし	精製ナイシン	記載なし	LD <sub>50</sub> : 約 30 mg/kg 体重	45
			筋注	記載なし	精製ナイシン	記載なし	LD <sub>50</sub> : 200 mg/kg 体重	
皮下注			記載なし	精製ナイシン	記載なし	LD <sub>50</sub> : $>1,000$ mg/kg 体重		
亜 急性 毒性	2ヶ月 間	マウス	経口	雌雄各 25	ナイシン製剤 ( $10^6$ IU/g)	0.4、4.0、400 mg/kg 体重/日	雄の全投与群で体重増加が上昇。生 存率、摂餌量には変化なし。	22
	3ヶ月 間	マウス	経口	雌雄各 50	ナイシン製剤 ( $10^6$ IU/g)	4.0 mg/kg 体重/ 日	投与後 2.5ヶ月の生存率が低下し た。	22
	10日間	ラット	経口	雌雄各 5	精製ナイシン ( $51.6 \times 10^6$ IU/g)	0、500、1,000、 2,000 mg/kg 体 重/日	雄でヘモグロビン濃度、赤血球数、 平均赤血球容積に用量に相関した 減少がみられた。雌でも低値を示し たが、用量相関性はなかった。	23
	28日間	ラット	経口	雌雄各 10	精製ナイシン ( $49.6 \times 10^6$ IU/g)	0、500、1,000、 2,000 mg/kg 体 重/日	投与に関連した変化はみられなかつ た。	24
	28日間	イヌ	経口	雌雄各 3	精製ナイシン ( $(49.1-51.1)$ $\times 10^6$ IU/g)	0、150、500、 2,000 mg/kg 体 重/日	2,000 mg/kg 体重/日投与群の雄及び 150 mg/kg 体重/日投与群以上の雌 で、対照群と比較して体重増加抑制 がみられ、500 mg/kg 体重/日投与群 以上の雌で摂餌量の減少が認めら れた。	29
	12週間	ラット	混餌	雄 10	ナイシン製剤 ( $10^6$ U/g)	(0、2.00、3.01、 4.01) $\times 10^7$ U/kg 飼料 [(0、1.0、1.51、 2.01) $\times 10^6$ U/kg 体重 / 日]*4	投与群と対照群との間に体重、一般 状態及び行動及び剖検時の所見に 差は認められなかった。	26
	12週間	ラット	混餌	雌雄各 5 *1	ナイシン製剤 ( $10^6$ RU/g)	$10^4$ RU/g 飼料 [ $0.5 \times 10^6$ RU/kg 体重 / 日]*4	投与群と対照群との間に体重増加、 生殖率の差はみられず、胎児は全て 正常であった。	27
90日間	ラット	経口	雄 5	ナイシン製剤 ( $10^6$ U/g)	0.5 ~ 5,000 U/kg 体重/日	投与に起因した変化はみられなかつ た。	11	

試験	投与期間	動物種	投与方法	1群当たりの動物数	被験物質	投与量又は濃度	試験結果	参考資料
亜急性毒性 (続き)	10+25週間*2	ラット	混餌	雄10	ナイシン加水分解物	(ナイシンとして) 3.33 × 10 <sup>6</sup> U/kg 飼料	体重増加に影響はみられなかった。個別ケージで飼育したラットの脾臓重量の増加がみられたが、グループ飼育群にはみられず、他の指標にも影響が認められなかった。	26
	90日間	ラット	混餌	雌雄各10	ナイシンA (3×10 <sup>6</sup> IU/g)	0、0.2、1.0及び5.0%飼料中濃度 [約120、600、3,000 mg/kg 体重/日相当]  参照対照群：3.71%NaCl 添加飼料 [約2,200 mg/kg 体重/日相当]	投与期間中に死亡例はみられず、一般状態、体重、摂餌量、眼科的検査及び肉眼的病理検査において被験物質に起因すると考えられる変化は認められなかった。5.0%投与群の雌雄でHGBの上昇、MCHの上昇、5.0%投与群の雌でMCHCの上昇が認められた。 また、ナイシンA投与群において、一部の観察項目において、変動が認められているが、参照対照群においても観察されており、NaClの影響と考えられる。 [NOAEL：1.0% (45 mg/kg 体重/日相当)]	28
	12日間 (MTD Phase)/ 7日間 (Fixed Dose Phase)	イヌ	経口	雌雄各2	MTD Phase：精製ナイシン (51.6 × 10 <sup>6</sup> IU/g)  Fixed Dose Phase：精製ナイシン (50.6 × 10 <sup>6</sup> IU/g)	0 (対照群)、あるいは500、1,000、2,000 mg/kg 体重/日と増量  対照群について、続いて2,000 mg/kg 体重/日	投与に起因する変化はみられず、2,000 mg/kg 体重/日投与で毒性はみられなかった。	29
慢性毒性	18ヶ月間	ラット	混餌 (ペースト状)	雌雄各10	ナイシン製剤 (10 <sup>6</sup> IU/g)	2.0 mg/kg 体重/日	平均摂餌量は変化なし。摂水量が雌で高値を示した。血液pH、C反応性蛋白及び血液形態学的評価は対照群と同程度であった。	22
慢性毒性/繁殖	2年間	ラット	混餌	雄15、雌30	ナイシン製剤 (10 <sup>6</sup> U/g)	0、3.33×10 <sup>4</sup> 、3.33×10 <sup>6</sup> U/kg 飼料 [1,665、166,500 U/kg 体重/日]*4	雌の高用量群で腎臓、卵巣及び子宮の相対重量が有意に増加したが、肉眼的及び病理組織学的所見に異常は認められなかった。 [NOAEL：3.33×10 <sup>6</sup> U/kg 飼料 (4.16又は4.9 mg/kg 体重/日相当)]	26
繁殖	26週間*3	ラット	混餌	雄12、雌24	ナイシン製剤 (10 <sup>6</sup> IU/g)	0、0.2、1.0、5.0% [(0、0.1、0.5、2.5)×10 <sup>6</sup> IU/kg 体重/日]*4 参照対照群：3.8%NaCl 含有飼料	親動物：F0の5.0%投与群の雄群で体重増加抑制が観察されたが、投与に起因した変化はみられなかった。 児動物：投与に起因した変化はみられなかったが、F2Bの5.0%投与群で低体重が観察された。 [NOAEL：12.5 mg/kg 体重/日相当]	31