

手引注解

安全性試験を新たに実施する場合の注意事項

評価指針に定められた毒性試験結果が調査しても見つからない場合、新たに試験を行って頂く必要があります。その場合には、この注意事項を遵守してください。

手引注解は、「概要書」を作成する際に参考とする「食品添加物の指定及び使用基準改正要請資料作成に関する手引」をわかりやすくするため、注解を加えたものです。

手引注解は、以下の構成となっています。

全体的な注意

- I. 添加物の概要
- II. 有効性
- III. 安全性、IV. 一日摂取量

要請資料全体に関する注解

概要書作成に関する注解

別添：情報検索の案内、食品健康影響評価の考え方、
安全性試験を新たに実施する場合の注意事項

目次

手引注解 安全性試験を新たに実施する場合の注意事項で使用する略語等	3
総括的注意事項	4
1. 体内動態試験	7
2. 毒性試験	9
毒性試験の共通注意事項	9
(1) 遺伝毒性試験	10
(2) 反復投与毒性試験	11
(3) 発がん性試験	12
(4) 生殖毒性試験	13
(5) 発生毒性試験	14
(6) アレルゲン性試験	15
(7) その他の試験	16

手引注解 安全性試験を新たに実施する場合の注意事項 で使用する略語等

安全性に関する用語については、食品安全委員会の[用語集](#)に説明がありますので、ご参照ください。

- [GLP](#) : Good Laboratory Practice (優良試験所基準)
- [ICH](#) : International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use (医薬品規制調和国際会議)
- [NOAEL](#) : No Observable Adverse Effect Level (無毒性量)
- [OECD](#) : Organisation for Economic Co-operation and Development (経済協力開発機構)
- [OECD TG](#) : OECD Test Guideline (OECD試験法ガイドライン)
- [WHO/IPCS](#) : World Health Organization (世界保健機関) / International Programme on Chemical Safety (国際化学物質安全性計画)

総括的注意事項 [1/3]

信頼性保証 1

- 各種毒性試験を新たに実施する際には、原則として[OECD試験法ガイドライン](#)※に準拠してください。

※ 翻訳版のWebサイトをご案内していますが、OECD試験法ガイドラインは随時更新されますので、最新版については、[OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4 Health Effects](#) からご確認ください。

総括的注意事項 [2/3]

信頼性保証 2

- 要請品、その不純物や副生成物において、必要とされる体内動態や毒性試験を行う際は、試験成績の信頼性を確保するために必要な設備、機器、職員を有し、かつ適切に運用されていると認められる施設（**GLP対応施設**等）かつ背景データの豊富な研究施設において実施してください。
なお、GLP対応施設で実施されただけでは、GLP試験ではなく、その施設のQAU (Quality Assurance Unit) による査察済のものがGLP試験となります。
- GLP試験結果は、必ずしも求められていません。
- 剖検は、十分な経験を有する者により実施してください。
- 背景データの豊富な動物種、系統を選択してください。
- 動物数は、統計学的解析が可能な数を担保してください。
- 要請に用いた動物試験に関する現存する生データ及び標本は、評価が終了するまでの間保管し、必要に応じて提出できるようにしてください。

総括的注意事項 [3/3]

病理組織学的評価

- 十分な経験を有する者により実施してください。
- 十分な経験を有する者とは、日本毒性病理学会/国際毒性病理専門家協会（IATP: International Academy of Toxicologic Pathology）の認定専門家を指します。
- 国際毒性病理用語診断基準統一化委員会（INHAND: International Harmonization of Nomenclature and Diagnostic Criteria）の用語を用いてください。
- 専門家による病理ピアレビューを実施してください（OECD No.16病理ピアレビューガイダンス2014）。
- デジタルパソロジーによる病理組織学的検査及び病理ピアレビューは、輸送による標本の破損リスクを回避できます。

1. 体内動態試験 [1/2]

1. [OECD TG417](#)（トキシコキネティクス）に準じて実施してください。
2. 試料には、要請品又はその同位元素標識体を使用してください。なお、同位元素標識体にあつては、標識核種、標識位置等を明確にしてください。
3. げっ歯類 1 種（通常、ラット）及び非げっ歯類 1 種（通常、イヌ）の合計 2 種で実施してください。なお、毒性試験との対応を考えて、適切な動物を選定してください。
4. 投与経路は、原則として経口投与としてください。単回投与及び反復投与を行い、体内動態（吸収、分布、代謝及び排泄）を推定してください。なお、正確な吸収率算出等のため、必要に応じて、静脈内投与等による試験を追加してください。
5. 用量設定に当たっては、反復投与毒性試験の最高用量や [NOAEL](#) を目安としてください。なお、低用量段階の設定に当たっては、可能であれば食物経由により摂取することが推定される量を考慮してください。

（次スライドに続く）

1. 体内動態試験 [2/2]

6. 吸収、分布、代謝及び排泄の各段階についての検討に当たっては、被験物質の血中濃度、尿・糞等への排泄量、各臓器内濃度の経時的変化、生体内代謝産物、各段階に影響する要因等についての試験資料が必要です。
7. 吸収、分布、代謝及び排泄の結果（最高血漿中濃度、各臓器内濃度の経時的変化、消失半減期等）から、毒性試験において標的となり得る臓器を推定します。その際、動物種差及び種特異性を考慮し、ヒトへの外挿可能性について考察してください。
8. 被験物質がラセミ体である場合には、それぞれの光学異性体の体内動態についても、毒性との関連において必要があれば検討してください。
9. 原則として、ヒトで特徴的に生じる代謝物の有無を検討し、必要に応じてその毒性試験を行ってください。

2. 毒性試験 毒性試験の共通注意事項

遺伝毒性試験以外の毒性試験においては、以下の点にご注意ください。

1. 要請品は経口により週 7 日投与することを原則とします。混餌投与又は飲水投与により行い、困難である場合は強制経口投与を行うことも差し支えありません。
2. 用量段階は、対照群のほかに少なくとも 3 段階の投与群を設定してください。設定した投与群についてはその根拠を明確にするとともに、その公比はNOAELを求めるに当たって適切なものにしてください。
3. 適正な用量が設定されているかが重要です。最高用量は毒性影響が認められる用量、最低用量は何ら毒性影響が認められない用量とし、かつ、用量反応関係がみられるように各用量段階を設定してください。
4. 混餌投与の場合は、栄養障害が起こらないように配慮し、通常、試料添加濃度 5 % (W/W) を超える投与量で実施する必要はありません。また、強制投与の場合には、通常、技術的に投与できる最大量は 1,000 mg/kg体重であり、何ら毒性影響が認められないときはそれ以上の投与量で実施する必要はありません。
5. 反復投与毒性試験または発がん性試験のげっ歯類 1 種については、慢性毒性／発がん性併合試験のげっ歯類 1 種をもって代えることができます。
6. 必要に応じて、子宮内ばく露相の追加を検討してください。

2. 毒性試験 (1) 遺伝毒性試験

1. 標準的組合せ（「微生物を用いる復帰突然変異試験（[OECD TG471](#)）」、「哺乳類培養細胞を用いる染色体異常試験（[OECD TG473](#)）」及び「げっ歯類を用いる小核試験（[OECD TG474](#)）」）の試験結果を示してください。
2. 「哺乳類培養細胞を用いる染色体異常試験（[OECD TG473](#)）」については、マウスリンフォーマ TK 試験（MLA）（[OECD TG490](#)）又は in vitro 小核試験（[OECD TG487](#)）をもって代えることができます。
3. 標準的組合せのいずれかで陽性または判定不能の結果があった場合には、追加試験を検討してください。
4. 追加試験の例は、評価指針をご覧ください。
5. [OECD TG489](#)（in vivoコメット試験）が陽性の場合、病理組織学的検査を実施して当該器官の変性・壊死の有無を確認してください。
6. 技術的な制約から、標準的組み合わせを構成する試験のいずれかが実施できないような場合においては、その理由について科学的な根拠に基づき説明でき、国際的にもバリデーションが行われ、妥当性が確認されている代替試験を行ってください。

2. 毒性試験 (2) 反復投与毒性試験

反復投与毒性試験を行う際は、

- ・[OECD TG408](#) (げっ歯類における 90 日間反復経口投与毒性試験)
- ・[OECD TG409](#) (非げっ歯類における 90 日間反復経口投与毒性試験)
- ・[OECD TG452](#) (慢性毒性試験)
- ・[OECD TG453](#) (慢性毒性／発がん性併合試験)

の何れかに準拠して実施してください。

1. げっ歯類 1 種 (通常、ラット) 及び非げっ歯類 1 種 (通常、イヌ)、又はげっ歯類 2 種 (通常、ラット、マウス又はハムスター) で実施してください。雌雄の動物を原則として同数用いてください。
2. 亜急性毒性試験 (亜慢性毒性試験) については 90 日間、慢性毒性試験については 12 か月以上で実施してください。
3. 神経毒性又は免疫毒性が疑われた場合には、[本注解の「2. 毒性試験 \(7\) その他の試験」](#)をご確認ください。

2. 毒性試験 (3) 発がん性試験

発がん性試験を行う際は、

・[OECD TG 451](#)（癌原性試験）
に準拠して実施してください。

1. げっ歯類 2 種（通常、ラット、マウス又はハムスター）で実施してください。
雌雄の動物を原則として同数用いてください。
2. 投与期間は、原則として経口により週 7 日とし、ラットでは 24 か月以上 30 か月以内、マウスでは 18 か月以上 24 か月以内としてください。

2. 毒性試験 (4) 生殖毒性試験

生殖毒性試験を行う際は、

・[OECD TG416](#)（二世代生殖毒性試験）
に準拠して実施してください。

1. げっ歯類 1 種（通常、ラット）で実施し、雌雄の動物を原則として同数用いてください。
2. 児動物の検査から神経毒性又は免疫毒性が疑われた場合には、[本注解の「2. 毒性試験 \(7\) その他の試験」](#)をご確認ください。

2. 毒性試験 (5) 発生毒性試験

発生毒性試験を行う際は、

・[OECD TG414](#)（発生毒性試験）
に準拠して実施してください。

1. げっ歯類 1 種（通常、ラット）及び非げっ歯類 1 種（通常、ウサギ）
の合計 2 種で実施してください。
2. 投与期間は、少なくとも着床から主要な器官形成期を含むように、
妊娠動物に連日投与してください。
3. 被験物質は強制経口投与を原則とし、妊娠中の急激な体重変化に
対応出来るように、直近の体重に基づいて投与量を決定してください。

2. 毒性試験 (6) アレルゲン性試験

要請品に係る知見、使用形態等を考慮した上で、アレルゲン性の可能性がある場合には、適切な感作及び惹起方法で試験を実施してください。

当面は、遅延型アレルギーを指標とするアレルゲン性試験について、モルモットを用いた皮膚感作性試験 ([OECD TG406](#)) やマウスを用いたリンパ節反応試験 ([OECD TG429](#)) を利用することができます。

また、類似の化学物質でアレルゲン性及びこれに起因すると考えられる作用が、既に知られている場合には、それらに用いられた試験方法と同様な方法での検討もしてください。なお、懸念が払拭できない場合、要請は断念してください。

従来の動物を用いる試験法を代替する有害性発現経路 (AOP) に基づいた以下の[OECD TG](#)の活用も可能です。ただし、単独試験法では評価できません。組み合わせに関しては、[OECD TG497](#)を活用してください。

- [OECD TG442C](#) (ペプチド結合性試験 (DPRA))
- [OECD TG442D](#) (角化細胞株レポーターアッセイ (ARE-Nrf2 Luciferase Test Method))
- [OECD TG442E](#) (in vitro ヒト細胞株活性化試験 (h-CLAT))

2. 毒性試験 (7) その他の試験 [1/2]

亜急性毒性試験、生殖毒性試験等で神経毒性が疑われた場合には、必要に応じて実施してください。なお、以下の試験で懸念が払拭できない場合、要請は断念してください。

神経毒性試験

以下に準じて試験を実施してください。

- [OECD TG418](#)：急性曝露後の有機リン化合物の遅延性神経毒性試験 (1984.4.4初版採択/1995.7.27改訂版採択)
- [OECD TG419](#)：有機リン化合物の遅延性神経毒性試験：28日反復投与試験 (1984.4.4初版採択/1995.7.27改訂版採択)
- [OECD TG424](#)：げっ歯類の神経毒性試験 (1997.7.21初版採択)
- [OECD TG426](#)：発達神経毒性試験 (2007.10.16初版採択)

2. 毒性試験 (7) その他の試験 [2/2]

亜急性毒性試験、生殖毒性試験等で免疫毒性が疑われた場合には、必要に応じて実施してください。なお、以下の試験で懸念が払拭できない場合、要請は断念してください。

免疫毒性試験

以下の[WHO/IPCS](#) やICH S8、FDAガイドライン（2023）に準じて試験を実施してください。

- 1) T 細胞依存性抗体産生 (TDAR) 試験
- 2) イムノフェノタイピング
- 3) ナチュラルキラー細胞活性検査
- 4) 宿主抵抗性試験
- 5) マクロファージ／好中球機能
- 6) 細胞性免疫能の検査

手引注解

安全性試験を新たに実施する場合の 注意事項

終わり

このファイルの利用に当たっては、厚労省指針、評価指針及び、本ファイルに示したOECD TGや関連のガイドライン等を参照し、適切に実施してください。