

添加物専門調査会における審議状況について

1. 審議状況

厚生労働省から食品安全委員会に意見を求められたナタマイシンの指定に係る食品健康影響評価(平成15年10月20日厚生労働省発食安第1020001号)については、第4回(平成16年1月9日)、第14回(平成16年11月16日)及び第17回(平成17年1月26日)添加物専門調査会(座長:福島昭治)において審議され、結果がとりまとめられた。

また、審議結果については、幅広く国民に意見・情報を募った後に、食品安全委員会に報告することとなった。

2. ナタマイシンの指定に係る食品健康影響評価についての意見・情報の募集について

上記品目に関する「審議結果(案)」を食品安全委員会ホームページ等に公開し、意見・情報を募集する。

1) 募集期間

平成17年2月24日(木)開催の食品安全委員会(第84回会合)終了後、平成17年3月23日(水)までの4週間。

2) 受付体制

電子メール(ホームページ上)、ファックス及び郵送

3) 意見・情報提供等への対応

いただいた意見・情報等をとりまとめ、添加物専門調査会の座長の指示のもと、必要に応じて専門調査会を開催し、審議結果をとりまとめ、食品安全委員会に報告する。

ナタマイシン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（案）

1 はじめに

ナタマイシンは、ストレプトマイセス・ナタレンシス (*Streptomyces natalensis*) の培養により生成されるポリエンマクロライド系抗生物質であり、かび及び酵母の生育を特異的に阻害する。

現在、ナタマイシンは 50 カ国以上で、食品添加物としてチーズ等への使用が認められている。欧州連合 (EU) では、ハード、セミハード及びセミソフト・チーズ^{注 1}等の表面処理用として使用が認められており、最大量で 1 mg/dm² 表面 (1 dm²=100 cm²) で、かつ 5 mm の深さで存在しないこととされている。米国ではチーズへの使用が認められており、使用量は最終製品で 20 ppm 以下とされている。コーデックスにおけるチーズ一般規格においても、チーズ表面への使用が認められている。

ナタマイシンは医薬品としても用いられ、我が国では、平成 15 年から日本薬局方に収載されている。

FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議 (JECFA) は 1976 年の第 20 回会合でヒトにおける消化管への影響に基づき、ナタマイシンの ADI を 0 ~ 0.3 mg/kg 体重/日と設定し¹⁾、2001 年の WHO Food Additive Series: 48 において、ADI に変更のないことが確認されている²⁾。

2 背景等

厚生労働省は、平成 14 年 7 月の薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会での了承事項に従い、JECFA で国際的に安全性評価が終了し、一定の範囲内で安全性が確認されており、かつ、米国及び EU 諸国等で使用が広く認められていて国際的に必要性が高いと考えられる食品添加物 46 品目については、企業等からの指定要請を待つことなく、指定に向けた検討を開始する方針を示している。これに該当するナタマイシンについては、指定の要請もあったことから、食品安全基本法に基づき、食品安全委員会に食品健康影響評価が依頼されたものである (平成 15 年 10 月 20 日、関係書類を接受)。

注 1 ハード、セミハード及びセミソフトチーズとは、Codex のチーズ一般規格の表示にある特定規定に従う物性を有するもので、細菌熟成のものをいう。一般的な形態は円形又は長方形であり、ワックス若しくはフィルム等により、その製品特性に適した包装がなされている。

3 添加物指定の概要

マイコトキシンを産生する有害な真菌 (*Penicillium* 属、*Aspergillus* 属など) のチーズ表面における生育を防止するため、今般、ナタマイシンについて、ハード、セミハード・チーズに、チーズの表面積 100 平方 cm 当たり 1 mg 以下、かつ当該チーズの深さ 5 mm の部位で存在してはならない旨規定し、JECFA や日本薬局方等の規格を参考に規格を定めた上で、新たに添加物として指定しようとするものである。

4 物理化学的性質等

名称：ナタマイシン（別名：ピマリシン）

英名：Natamycin、Pimaricin

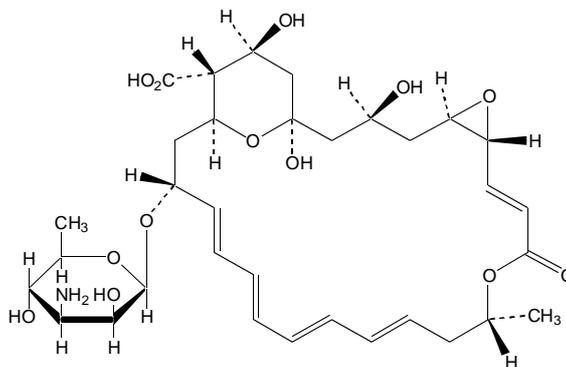
化学名：(1*R**,3*S**,5*R**,7*R**,8*E*,12*R**,14*E*,16*E*,18*E*,20*E*,22*R**,24*S**,25*R**,26*S**)-22-(3-Amino-3,6-dideoxy-β-D-mannopyranosyloxy)-1,3,26-trihydroxy-12-methyl-10-oxo-6,11,28-trioxatricyclo[22.3.1.0^{5,7}]octacos-8,14,16,18,20-pentaene-25-carboxylic acid

化学式：C₃₃H₄₇NO₁₃

分子量：665.7

CAS 番号：7681-93-8

性状：白～乳白色の結晶状粉末で、ほとんど無臭
有機溶媒（氷酢酸、ジメチルホルムアミドなど）に可溶、メタノールにやや溶解し、脂肪油、鉱油及び水にはほとんど不溶



ナタマイシンは、被覆剤との組み合わせ、あるいは噴霧 / 浸漬によりチーズ表面に使用される。

5 我が国の医療分野における使用状況

ナタマイシン（ピマリシン）は、我が国において、外用剤（5%点眼液及び1%眼軟膏）が医薬品として承認されており、角膜真菌症の治療に用いられる。

その他、ポリエンマクロライド系の類薬としては、ナイスタチン（内服）及びアムホテリシン B（内服、静注等）が使用されており、それぞれ、消化管カンジダ症、深在性感染症及び消化管におけるカンジダ異常増殖の治療に用いられる。

6 安全性に関する検討

(1) 毒性

急性毒性

マウス、ラット、モルモット、ウサギ及びイヌへの単回経口投与による LD₅₀ は 450 ~ 4,670 mg/kg 体重であった^{3), 4), 5)}。

短期毒性

ラットにナタマイシン（50～70 mg/kg 体重/日）を5～10週間反復経口投与したところ、発育抑制はみられず、また血液学的及び病理組織学的な変化は認められなかった。150 mg/kg 体重/日の9週間反復投与では、多少の発育抑制がみられ、500 mg/kg 体重/日の投与では30%のラットが2週間以内に死亡した³⁾。

ラット（雌雄各20匹）にナタマイシン（0、125、500、2,000及び8,000 ppm（約0、10、45、190及び750 mg/kg 体重））を94～96日間混餌投与した結果、2,000及び8,000 ppm 投与群で発育が遅れ、摂餌量が減少したが、血液検査結果及び器官重量は正常範囲にあった⁵⁾。

ビーグル犬にナタマイシン（0、312、625、1,250及び5,000 ppm）を7週間混餌投与したところ、5,000 ppm 投与群で下痢、嘔吐及びほぼ完全な摂餌忌避が観察され、4日後に投与中止された。625及び1,250 ppm 投与群では下痢がみられたが、その頻度と重度は次第に減少した。1,250 ppm 投与群では摂餌忌避が発生した⁵⁾。

ビーグル犬（雌雄各2匹）にナタマイシン（0、375及び750 ppm（約0、12.5及び25 mg/kg 体重））を90日間混餌投与した結果、750 ppm 投与群で下痢によると思われるわずかな体重の減少及び平均摂餌量の減少がみられたが、これらの所見は毒性影響とは考えられなかった⁶⁾。

長期毒性

ラット（雌雄各35～40匹）にナタマイシン（0、125、250、500、1,000及び8,000 ppm（0、18、38、75、142及び750 mg/kg 体重/日））を2年間（8,000 ppm 投与群については3ヶ月）混餌投与した。8,000 ppm 投与群では、3ヶ月経過後の平均体重及び摂餌量が対照群に比べ減少したが、特に有害反応はみられなかった。1,000 ppm 投与群で総摂餌量の減少と軽度の成長の遅れがあったが、連続した2世代で繁殖あるいは授乳能力に影響はなく、児の離乳時の平均体重は対照群に比べて低かった。500 ppm 以下の投与群では2年以上の反復投与に十分耐えた^{5), 7)}。

ビーグル犬（雌雄各3匹）にナタマイシン（0、125、250及び500 ppm）を2年間混餌投与した結果、250 ppm 投与群で1匹死亡し（投与とは無関係）、500 ppm 投与群の雄で初期の体重増加のわずかな減少がみられた。血液学的検査等に異常はみられず、ナタマイシン投与によると考えられる影響はみられていない⁵⁾。なお、試験中にジステンパーへの感染や妊娠が認められた。

繁殖毒性

ラットにナタマイシン（0及び1,000 ppm）を混餌投与し、181及び223日後に交配させ、また、別のラットを48、184及び260日間投与後に交配させて得た児

に親と同じ飼料を与え、107 日齢で交配させた。ナタマイシン投与群の児は離乳時に対照群の児よりも平均体重が低かったが、54 交配組の試験結果では、妊娠及び哺育状態、出生率、生存児数は対照群と同じか上回った。本試験における児の異常発生は低かった⁸⁾。

ラットへのナタマイシン (0、5、15、50 及び 100 mg/kg 体重/日) の 11 週間混餌投与による 3 世代繁殖試験の 100 mg/kg 体重/日投与群で、死産児数の増加、出産児数の減少及び生後 21 日生存児数の低下がみられ、児の体重は F0 及び F1 の 2 産目の児 (F1b、F2b) 並びに F2 の 1 産目、2 産目の児 (F3ab) で減少した。5、15 及び 50 mg/kg 体重/日投与群では生殖発生に及ぼす影響はみられなかった⁹⁾。

3 世代繁殖試験の F1 の 2 産目の児 (F2b) の 10 匹の雄ラットにナタマイシン無添加飼料を与え、成熟時にナタマイシン (0、5、15、50 及び 100 mg/kg 体重/日) を強制経口投与により 7 日間与え、2 匹の未処理の雌と交配させた。交配後 13 日で屠殺、検査した結果、着床数、生存及び死亡胚数に差はなく、繁殖能への影響を示す所見は得られなかった⁸⁾。

催奇形性

ラット 3 世代試験の F1 の 2 産目の雌 (F2b) 20 匹を成熟後、未処理の雄と交配させた。当該雌に妊娠 6 ~ 16 日の間、強制経口投与により親動物と同用量のナタマイシン (0、5、15、50 及び 100 mg/kg 体重/日) を与え、妊娠 20 日に屠殺、検査したところ、妊娠数、生存数、死亡胎児数、胎児の内臓及び骨格所見に対照群との差はなかった⁹⁾。

雌ウサギ (各群 10 ~ 12 匹) に妊娠 6 ~ 18 日の間、強制経口投与によりナタマイシン (0、5、15 及び 50 mg/kg 体重/日) を与え、妊娠 29 日に検査した結果、母体、着床及び胎児所見に有害影響は検出されず、胎児の内臓及び骨格所見には対照群との差はなかった¹⁰⁾。

ダッチ・ウサギ (各群 15 匹) に妊娠 6 ~ 18 日間、強制経口投与によりナタマイシン (0、5、15 及び 50 mg/kg 体重/日) を与え、妊娠 29 日に検査した結果、母動物の一般状態、行動及び体重に影響はなく、妊娠所見、着床数、吸収胚数、生存及び死亡胎児数に統計的な差はみられなかった。15 mg/kg 体重/日投与群の生存胎児の平均体重は対照群より低かった。胎児の内臓所見には投与の影響はみられず、15 及び 50 mg/kg 体重/日投与群の胎児で過剰胸骨分節の発現頻度の上昇がみられたが、奇形の発現頻度の上昇は認められなかった¹¹⁾。

本試験で認められた骨格変異の発現率の上昇は、催奇形性を示す所見ではないが、無毒性量 (NOAEL) は 5 mg/kg 体重/日と考えられる。しかしながら、JECFA における評価²⁾ではウサギの難吸収性物質に対する腸管における特異な感受性及び抗生物質投与の妥当性も踏まえ、本試験結果から ADI を導くことは適切ではないとしている。

発がん性

ラット（雌雄各 35 ~ 40 匹）にナタマイシン（0、125、250、500 及び 1,000 ppm（0、18、38、75 及び 142 mg/kg 体重/日））を 2 年間混餌投与した。2 年後の生存ラットは全投与群で 50% 以上であった。1,000 ppm 投与群で、雌雄の平均体重は対照群に比べ約 10% 減少し、摂餌量は、雄で最初の 1 年間で対照群より約 1 g/日、雌で 2 年間を通じて平均で約 1 g/日少なかった。ヘモグロビン、ヘマトクリット、総白血球数、白血球百分比及び器官重量に投与による影響はみられなかった。剖検における肉眼的検査及び顕微鏡検査では、腫瘍の発生増加あるいは他の病変発生の増加は認められなかった⁷⁾。

一般薬理

イヌにナタマイシン（0、375 及び 750 ppm（約 0、12.5 及び 25 mg/kg 体重））を 90 日間混餌投与したところ、血液検査、尿検査、心電図、眼科学的検査、剖検及び顕微鏡検査において投与による影響はみられなかった⁶⁾。

遺伝毒性

ナタマイシン及び Delvocid（水にナタマイシンを 50% 懸濁した液）について、Rec-Assay あるいは復帰突然変異試験（S9mix の有無、0.2 mol/L までの亜硝酸塩との組み合わせで評価）が行われ、Delvocid に亜硝酸塩約 0.2 mol/L を添加した試験で軽微な陽性反応がみられたが、Delvocid の存在によるものではないとされた他、いずれも陽性反応は観察されていない^{12), 13)}。

ナタマイシン（0、5、15、50 及び 100 mg/kg 体重/日）を混餌投与したラット 3 世代試験で出生した F1、F2、F3 の雌雄各 5 匹にコルヒチン（1.0 mg/kg）を屠殺 3 ~ 4 時間前に投与し、骨髓細胞を用いて染色体標本を作製したところ、染色体異常の誘発は認められていない⁹⁾。

ナタマイシンの細菌（*Salmonella typhimurium*（TA98、TA100、TA1535、TA1537、TA1538））を用いた復帰突然変異試験（15 ~ 5,000 mg/plate）¹⁴⁾及びマウスリンパ腫 L5178Y アッセイによる遺伝毒性試験（7.8 ~ 96 mg/mL）¹⁵⁾において、S9mix の有無にかかわらず遺伝毒性は認められなかった。

チャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞を用いた染色体異常試験（S9mix 存在下：50 ~ 200 mg/mL、S9mix 非存在下：10 ~ 30 mg/mL）において、S9mix の有無にかかわらず構造異常は認められなかった。なお、ナタマイシン処理群では倍数体の発生頻度の増加が認められた¹⁶⁾。

以上のデータを総合的に判断すると、ナタマイシンは生体にとって特段問題となる遺伝毒性はないものと考えられる。

ヒトにおける観察

ヒトへのナタマイシン（300 ~ 400 mg）の経口投与により、時折悪心、嘔吐

及び下痢が発生したが、末梢血液の変化は観察されなかった¹⁷⁾。

全身性糸状菌症の患者（10名）へのナタマイシン（25～1,000 mg/日）の13～334日間経口投与による臨床データが報告されている。32歳男性のケースでは、200～1,000 mg/日を投与したところ、血液検査、尿検査等では変化は認められず、800 mg/日以下で認められた副作用は軽度の下痢のみであった。ナタマイシンの600～1,000 mg/日の投与では悪心、嘔吐及び下痢が一様に発生するとされている¹⁸⁾。

アレルギー試験

ナタマイシンの製造に平均5年間従事した作業員73名にアレルギー反応の履歴はなく、皮膚又は皮内投与を実施した71名にアレルギー反応は発生しなかった¹⁹⁾。湿疹患者102名での反復パッチ・テストで感作の可能性は示されなかった²⁰⁾。

分解物の試験

擬似胃液、0.5%クエン酸及び尿中でナタマイシンの分解物(ナタマイシンに関連するテトラエンであり、主としてアグリコン2量体及び/又は脱炭酸化合物)が生成する^{21), 22)}。約50%のナタマイシンが擬似胃液中で1時間で分解した²³⁾。

ア) 急性毒性

ナタマイシン懸濁液（1%又は5%）をクエン酸、光、水酸化ナトリウム、過酸化水素あるいは紫外線で処理したもの（分解率0～100%）のマウス腹腔内投与によるLD₅₀は、分解率0%のものは150～250及び170 mg/kg体重で、その他のもの（分解率5～100%）は200～800 mg/kg体重以上であった²⁴⁾。

ナタマイシンとその分解物（塩酸マイコサミン、アポナタマイシン、ジナタマイシノライドジオール）をマウスに腹腔内投与したところ、分解物のLD₅₀はいずれもナタマイシンよりも大きな値であった²⁵⁾。

イ) 短期毒性

ラット（雌雄各15匹）にナタマイシン（500 ppm）又は酸分解ナタマイシン（5%溶液（約14%の活性が残るまで0.5%クエン酸に懸濁したもの））を98日間混餌投与したところ、死亡はなく、体重増加、血液学的検査、腎及び肝重量及び器官の顕微鏡検査に投与による影響はみられなかった²⁶⁾。

ラットへのナタマイシン（0.5及び5%）懸濁液で処理した（25 mL/1,000 cm²チーズ）チーズ（フレッシュ及びオールド・チーズ）の7週間給餌では、心臓、脾臓、腎臓及び肝臓の重量は投与の影響を受けなかったが、投与群の肺と胸腺は対照群よりも小さく、高用量（360 ppm投与）群で副腎の重量がやや増加した。肉眼的及び顕微鏡的観察からは投与に起因するとみられる差はなかった²⁷⁾。

ウ) 遺伝毒性

アポナタマイシン、ジナタマイシノライドジオール及び塩酸マイコサミンについて Rec-Assay あるいは復帰突然変異試験が行われ、遺伝毒性は認められていない^{12), 13)}。

(2) 体内動態

ラットへの¹⁴C-ナタマイシン (50 mg/kg 体重) 経口投与後の分布を測定した結果、大部分は消化管に存在し、肝・腎・脂肪にかすかな分布が認められた。この結果はナタマイシンの吸収はわずかで、大部分が未吸収のまま糞中に排泄されることを示している。一方、放射活性は胃・小腸・結腸には検出されたが、抗生物質活性は結腸には検出されなかったことから、ナタマイシンは盲腸と結腸の菌叢によって非活性物質に分解されると考えられた²⁾。

正常及び胆管結紮ラットに放射能ラベルしたナタマイシン (10 mg/kg) を経口投与した結果では、ほとんどの放射活性 (93 ~ 103%) は糞中に回収され、尿中排泄は正常動物では $1.98 \pm 0.51\%$ で、胆管結紮ラットでは正常動物より総排泄量当たり約 5% 多く尿中に排泄された。0.1 及び 1 mg/kg 投与の場合も同様の結果であった。これらのことから、吸収は 5 ~ 7% 以下で、約 90% のナタマイシンが吸収されずに糞中に排出されると考えられた。薄層クロマトグラフによる分析では、胃と腸のナタマイシンは、ほとんどが未変化体であったが、盲腸では急速な分解により親水性の高い物質がつくられていた。なお、10 mg/kg の分解物を腹腔内投与した場合、投与放射能の約 60% が尿中から回収された²⁸⁾。

ナタマイシンをチーズのプラスチック被覆剤中に 0.75 ~ 0.88 mg/kg 含むもの、ゼラチン・カプセル中に 1.00 ~ 1.03 mg/kg 含むもの、又は 1% デンプン溶液に 0.95 ~ 1.0 mg/kg 含むもののイヌへの経口投与では、大部分の放射能が 24 時間以内に糞中に排泄され、尿中へは投与量の 4% 以下であった。¹⁴C-ナタマイシン (5 mg) の静脈注射では、ほぼ等量のナタマイシンが糞と尿で測定された。これは吸収されたナタマイシンが胆汁排泄されることを示している²⁾。

ヒトのボランティアにナタマイシンを経口投与後、尿サンプルの汚染によるとされる初期の偶発的な陽性結果を除き、尿中にナタマイシンは検出されなかった²⁹⁾。また、18 名のボランティアに 125 ~ 500 mg のナタマイシンを経口投与したところ、血清中にナタマイシンは検出されなかった³⁰⁾。

(3) 微生物の耐性^{注 2}

ナタマイシンは、ポリエーテル系抗菌性物質であり、細胞膜のステロール (特にエルゴステロール) との間の相互作用により、メンブレン-ポリエー

注 2 一般に、環境条件や化学物質などに対する抵抗性。抗生物質に対する細菌の抵抗力など。

複合体を形成し、細胞膜に歪みを生じさせ膜機能を障害することにより、細胞内の原形質成分が漏出し、生育阻害を生じさせる。そのため、細胞膜にステロールを含有している真菌に対しては、抗菌活性を有するが、細胞膜にステロールを含有しない細菌又は放線菌には不活性である³⁰⁾。なお、ある種の皮膚糸状菌は耐性を有するとの報告やナタマイシンを含有する培地から *Aspergillus nidulans* のピマリシン耐性変異株が選択されたとの報告³¹⁾がある。一方、10年以上にわたり食品製造においてナタマイシンの使用による耐性菌問題は存在しないとの報告もある³²⁾。また、臨床上的使用において耐性が発生したという記録はない。

ポリエンマクロライド系のナタマイシン、ナイスタチン及びアムホテリシン B の間の交差耐性^{注 3}を示唆する報告もある³³⁾が、一般にナタマイシンは、アムホテリシン B 及びナイスタチンに交差耐性を示さないとされている^{2), 34), 35)}。

耐性に関して、ナタマイシンの使用により真菌の耐性を選択することは、まれであり、かつ、耐性が選択されたとしても、細胞膜の脆弱化が生じ、耐性真菌が通常的环境において生育することは容易ではないと考えられる。また、現在医療現場で用いられている類薬との交差耐性について、医療上問題となったというような報告は得られていない。

7 国際機関等における評価

(1) JECFA における評価

ナタマイシンは胃腸でほとんど吸収されず、動物試験において認められた唯一の有害な影響は、摂餌量の減少及び体重増加抑制である。イヌはラットよりも感受性が高いと考えられ、イヌにおいてこれらの影響は 10 mg/kg 体重/日の投与量レベルでみられた。ヒトでは穏やかな胃腸症状が約 5 mg/kg 体重/日で認められる。繁殖毒性、催奇形性、発がん性及び遺伝毒性の適切な試験において有害な反応は示されていない。分解物については、食品中で生成する物質が胃の酸性状態で生成される物質と同一であることが示唆されることから、ナタマイシン投与による試験の結果は、分解物の作用も反映している。また、アレルギー反応の報告もない。

以上から、JECFA は 1976 年の第 20 回会合¹⁾でヒトにおける消化管への影響に基づき、ナタマイシンの ADI を 0 ~ 0.3 mg/kg 体重と設定している。また 2001 年の WHO Food Additive Series: 48³⁹⁾において、ADI に変更のないことが確認されている。

耐性については、第 20 回会合報告(付記 4)³⁶⁾において、以下のとおり考察されている。

ナタマイシンは主に外用の抗真菌薬として使われており、まれに消化管カンジ

注 3 ある薬物に対して形成された耐性が、他の薬物にもみられること。

ダ症の治療に経口で用いられるが、細菌に対して抗菌活性を示さず、通常の腸内細菌叢へも影響は示さない。水に不溶であって、消化管から吸収されない。アレルギー反応について報告はない。

医療用の抗生物質を食品へ使用することに関する問題点は、以下のとおり。

- (1) 抗生物質（特にテトラサイクリン又はストレプトマイシン等）が経口摂取された場合、腸内細菌叢に対して、高レベルな耐性菌を出現させ、治療薬としての効果が失効すること。
- (2) 特定グループ（テトラサイクリン系等）のある抗生物質がそのグループの他の抗生物質に対して交差耐性を伴うこと。
- (3) 抗生物質及び耐性を選択しやすい薬物に対する耐性を同時に伝達すること（多剤耐性）。
- (4) 非病原性のものから病原性を有するグラム陰性菌に耐性を伝達し、抗生物質の有効性を減弱させること。

ナタマイシンでは、これらの影響は、わずか、又は全くみられない。ナタマイシンは細菌のコントロールには使われておらず、まれにわずかにかび及び酵母に耐性を生じさせるが、これは選択によるものである。

ポリエン抗真菌薬間の交差耐性は比較的まれであり、特にナタマイシンへの耐性が関連のポリエン系に対する耐性を伴うことはめったにない。ナイスタチン及びアムホテリシンの交差耐性が観察されているが、ナタマイシン耐性株の *in vitro* における選択はそのような交差耐性は伴っていない。

細菌間の耐性の伝達は、異なる細胞膜を持っている酵母及びかびでは起こらない。

通常の医療用抗生物質の食品への使用についての異議は、ナタマイシンにはほとんど適合しないことは明らかである。

(2) EU 食品科学委員会 (SCF) における評価³⁷⁾

SCF は、ヒトや動物用の医薬品に用いられる抗生物質は、一般に食品に使うべきではないと強く主張しており、その理由は JECFA (第 20 回会合報告書) によるものと同様である。SCF は、ウサギを用いた催奇形性試験、ラットを用いた多世代繁殖試験、ナタマイシンの長期試験及び分解物についての 90 日間試験を含めた入手可能な毒性データを検討し、チーズ及びソーセージへのナタマイシンの現在の使用に関しては、適切であり問題はないとしている。ナタマイシンも主要な分解物も消化管から吸収されず、ナタマイシンがヒトの腸内細菌叢に重要な影響を与えるという証拠はなく、ナタマイシンの微生物学的特性に関して、SCF は J.C.Gould 教授にアドバイスを受け、次のような結論を受け入れた：

- (a) 抗菌域が比較的狭い；
- (b) 突然変異による高度耐性株の出現は認められていない；
- (c) ポリエン系を用いて治療を受けた患者において、耐性が生じたというこ

とは示されていない。

- (d) ポリエン系抗生物質との交差耐性は非常に限られている；
- (e) 真菌の集団中における耐性株の分布は認められていない。

SCF は、ポリエン系に対する実験的な耐性は真菌では容易には生じず、通常環境において生じた変異株が生育することは困難であるとしており、以下のように結論している。

- 1 ナタマイシンのヒト用医薬品としての使用は、限られてはいるが重要であるので、一般的に使用される添加物や食料品として受け入れられない。
- 2 好気性条件で熟成されたナチュラルチーズ（セミハード）全体のリンド^{注4}の表面処理としての使用及び市場に出る前に熟成が必要なある種のソーセージのケーシングへの使用は、以下の条件で受け入れられる。
 - (i) 本物質は最終製品にのみ適用される；
 - (ii) 市販時の食品中のナタマイシン残存量は、ケーシングやリンドの表面に対して 1 mg/dm² (1 dm²= 100 cm²) を超えず、5 mm 以上の深さに存在しない。
- 3 これらの食品のケーシングへのナタマイシンの使用は適切な表示によって明確に示されなければならない。
- 4 治療用途の範囲が著しく増大した場合には、この立場の見直しを行うべきである。

(3) 欧州医薬品審査庁 (EMEA) における評価³⁸⁾

1998 年における EMEA における評価では、イヌ 2 年間反復投与毒性試験の結果に基づき、NOAEL を 250 ppm (6.25 mg/kg 体重/日) とし、安全係数 100 を適用して ADI を 0.06 mg/kg 体重/日と評価している。

動物種	試験期間	投与方法	投与量	NOAEL	備考
ヒト (全身性糸状菌症)	13-334 日間	経口	25 ~ 1,000 mg/日	200 mg/日 (体重 60 kg として 3 mg/ kg/日)	JECFA (1976) ADI= 0.3 mg/kg/日
イヌ	2 年間	混餌	0、125、250、500 ppm	250 ppm (6.25 mg/kg/日相当)	EMEA (1998) ADI= 0.06 mg/kg/日

8 一日摂取量の推計等

平成 13 年度の我が国における 1 人 1 年当たりのチーズの摂取量 1.9 kg (食料需

注 4 チーズの熟成により生じるチーズ外面を覆う低水分の半閉鎖性の層

給表³⁹⁾による)から、チーズに最大 20 mg/kg 使用すると、1 日体重 kg 当たりのナタマイシン摂取量は 0.002 mg となる (体重: 50 kg)。

9 評価結果

ナタマイシンは消化管からはほとんど吸収されず、動物試験において認められた体重増加抑制を伴う摂餌量の低下は、本物質の難吸収性及び腸管での局所性の刺激に基づく下痢に起因するものと考えられる。また、本物質は生体にとって特段問題となるような遺伝毒性はないものと考えられ、発がん性も認められない。

本物質の分解物について、食品中で生成する分解物は胃の酸性条件下で生成する分解物と同様であると考えられ、分解物を用いた試験から有害影響はないものと考えられる。

ヒトについては、経口投与による臨床データが存在し、600 mg/ヒト/日以上で悪心、嘔吐及び下痢が一樣に認められており、ナタマイシンの摂取による主な毒性影響は、動物試験で認められた所見と同様、消化管への影響であると考えられる。

なお、イヌを用いた 90 日間及び 2 年間反復投与試験には、明らかな飼育環境上の問題が認められ、また、ウサギを用いた催奇形性試験において認められた所見は、催奇形性を示す所見ではないことやウサギの腸管への影響の感受性等を考慮すると、これらの試験結果から ADI を設定することは適切ではないと考えられる。

JECFA では、1976 年の第 20 回会合でヒトにおける消化管への影響に基づき、ナタマイシンの ADI を 0 ~ 0.3 mg/kg 体重と設定しており、2001 年には ADI に変更のないことが確認されている。

以上から、ナタマイシンの NOAEL は、ヒトにおける観察結果に基づき、消化管への影響を根拠に 200 mg/ヒト/日 (体重 60 kg として 3 mg/kg 体重/日) と考えられることから、本物質の ADI は、安全係数を 10 として 0.3 mg/kg 体重/日と評価した。

ADI	0.3 mg/kg 体重/日
(ADI 設定根拠資料)	ヒトにおける観察
(投与方法)	経口投与
(NOAEL 設定根拠所見)	消化管への影響 (悪心、嘔吐、下痢)
(NOAEL)	200 mg/ヒト/日 (3 mg/kg 体重/日)
(安全係数)	10

ナタマイシンは、ポリエンマクロライド系の抗真菌薬であり、我が国では角膜真菌症の治療を目的に外用で用いられている。ポリエンマクロライド系は、細胞膜のステロール (特にエルゴステロール) との間の相互作用により、細胞膜に歪みを生じさせ膜機能を障害することにより、かび及び酵母といった真菌の生育を特異的に阻害すると考えられ、細胞膜にステロールを含有しない細菌は生育阻害を受けない。

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。

- ・一般的にどのような抗菌性物質も、自然界で変異によって生じる耐性菌を選択する可能性はある。
- ・しかしながら、ナタマイシンの使用により耐性菌の出現及びその他のポリエン系との交差耐性が、医療上問題になったとの報告はない。
- ・また、本物質は、一般細菌やウイルスに作用点を持たないため、これらの微生物で耐性菌が出現することにより医療上の問題に発展していく可能性は、ほとんどないと考えられる。
- ・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、現時点における微生物学的な評価や海外における使用経験等の知見から判断して、ナタマイシンの医薬品（抗真菌薬）としての使用範囲は限られているが、その重要性を考慮し、無制限に広く食品に使用される添加物としては受け入れられないが、抗真菌作用を目的として特定食品の最終製品の表面処理にのみ限定し、適切に使用される場合にあっては、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、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。

【引用文献】

- 1) Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Toxicological Evaluation of certain food additives (1976).
- 2) NATAMYCIN (WHO Food Additives Series 48/2001 資料).
- 3) Struyk AP, Hoette I, Drost G, Waisvisz JM, van Eek T, Hoogerheide JC. Pimaricin, a new antifungal antibiotics. In: Antibiotics Ann: 878-885 (1957-1958). Medical Encyclopedia, Inc., New York.
- 4) Anonymous. Data on cheese. Summary of the results of acute and chronic toxicity tests. Unpublished report from Royal Netherlands Fermentation Ind. Delft, The Netherlands, submitted to the WHO (1965).
- 5) Levinskas GJ, Ribelin WE, Shaffer CB. Acute and chronic toxicity of pimaricin. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* (1966) 8: 97-109.
- 6) Eeken CJ, Aboulwafa MJE, Birtwhistle RDR, Hall DWR. Three months study in dogs of the toxicity of natamycin by addition to the food. Gb documentation archive no 12.401 (1984).
- 7) Levinskas GJ, Bushey C, Kinde ML, Stackhouse DW, Vindone LBl. Two-year feeding to rats. Unpublished report from the Central Medical Dept., American Cyanamid Co., submitted to the WHO (1963).

- 8) Levinskas GJ. Successive Generation Studies. Unpublished report from the Central Medical Dept., American Cyanamid Co., submitted to the WHO (1963).
- 9) Cox GE, Bailey DE, Morgareidge K. Unpublished report (No.1-1052) from Food and Drug Research Laboratories Inc., submitted to the WHO (1973).
- 10) Bailey DE, Morgareidge K. Teratogenicity test with pimaricin. Unpublished report (No.1-1052) from Food and Drug Research Laboratories Inc., submitted to the WHO (1974).
- 11) Knickerbocker M. Tetralogic evaluation of pimaricin in dutch belted rabbits. Food and Drug Research Laboratories Study nr 5906 (Gb documentation archive nr 11.095) (1979).
- 12) Khoudokormoff B. Potential carcinogenicity of some food preservatives in the presence of traces of nitrite. *Mutat. Res.* (1978) 53: 208-209.
- 13) Khoudokormoff B. Short-term microbial tests on mutagenicity of natamycin and its products of degradation. (Gb Documentation archive nr 10.545) (1983).
- 14) Dillon DM. Natamycin: Testing for mutagenic activity with *Salmonella typhimurium* TA1535, TA1537, TA1538, TA98 and TA 100. (1992) IRI Project No. 753474. Inveresk Research International Report No. 9280.
- 15) Riach CG, Willington SE. Natamycin: Mouse Lymphoma mutation assay. (1993) IRI Project No. 753495. Inveresk Research International Report No. 9284.
- 16) Leddy IA. Natamycin: Chromosomal aberrations assay with Chinese hamster ovary cells in vitro. (1993) IRI Project No. 753500. Inveresk Research International Report No. 9282.
- 17) WHO Technical Report Series No. 430, 1969, the 12th Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives.
- 18) Newcomer VD, Sternberg TH, Wright ET, Reisner RM, McNall EG, Sorensen LJ. The treatment of systematic decrease with orally administered pimaricin: Preliminary report. *Ann. NY. Acad Sci.* (1960) 89: 240-246.
- 19) Malten KE. Report of an investigation concerning possible allergic side effects of pimaricin in humans. Unpublished report from the Instituut voor Geneeskunde en Maatschappij, Nijmegen, submitted to the WHO by Gist-Brocades NV, Delft, The Netherlands (1967).
- 20) Malten KE. Report on investigation into possible sensitizing side effects of pimaricin in human beings. Unpublished report from the Instituut voor Geneeskunde en Maatschappij, Nijmegen, submitted to the WHO by Gist-Brocades NV, Delft, The Netherlands (1968).
- 21) Brick H. Natamycin (pimaricin). New high-molecular decomposition products with intact lactone-ring. Unpublished report submitted to the WHO by Gist-Brocades NV, Delft, The Netherlands (1975).

- 22) Brick H. Natamycin (review article); Analytical profiles of drug substances (1981) 10: 513-561.
- 23) Morgenstern AP, Muskens GJAM. Further data on the toxicity of the decomposition products of pimaricin. Unpublished report submitted to the WHO by Gist-Brocades NV, Delft, The Netherlands (1975).
- 24) Ottens H. Unpublished report submitted to the WHO by Royal Netherlands Fermentation Industries, Delft, The Netherlands (1965).
- 25) van Eeken CJ, Wubs W. (1-11-76) Acute intraperitoneal toxicity of natamycin and its decomposition compounds in Mice. Project 7904 (Gb documentation archive no 15.465) (1976).
- 26) Hutchison EB *et al.* Acid-degrade pimaricin: ninety-day repeated feeding to rats. Unpublished report by American Cyanamid Co., submitted to the WHO (1966).
- 27) Wieriks J. Pimaricin on cheese: a toxicity test of 7 weeks in rats. Unpublished report from KNGFS-Research of the by Royal Netherlands Fermentation Industries submitted to the WHO (1966).
- 28) Meier AM, Hespe W. Het metabolisme van pimaricine in rat. II: Onderzoek naar de resorptie, ontleding in maag-darmkanaal en eliminatie met behulp van pimaricine-¹⁴C (Gb documentation archive no 20.504) (1979).
- 29) van Wijk L. De excretie met de urine van oraal ingenomen pimaricine. (Gb documentation archive no 7409) (1967).
- 30) Raab WP. Natamycin (pimaricin). Its properties and possibilities in medicine. Georg Thieme Publishers, Stuttgart (1972).
- 31) Ziogas BN, Sisler HD, Kusby WR. Sterol content and other characteristics of pimaricin-resistant mutants of *Aspergillus nidulans*. Pesticide Biochem. Physiol. (1983) 20: 320-329.
- 32) Khoudokormoff B, Petru M. On the possible development of antibiotic resistance amongst by American Cyanamid Co., submitted to the WHO (1974).
- 33) Athar MA, Winner HI. The development of resistance by *Candida* species to polyene antibiotics *in vitro*. *J. Med. Microbiol.* (1971) 4: 505-517.
- 34) Sorensen LJ, McNall EG, Sternberg TH. The development of strains of *Candida albicans* and *Coccidioides immitis* which are resistant to amphotericin B. In: Antibiotics Ann:920-923. Medical Encyclopedia, New York, NY (1959).
- 35) Hejzlar M, Vymola F. Comparative study of pimaricin and fungicidin activity *in vitro*. *J. Hyg. Epidem. (Praha)* (1970) 14: 211.
- 36) Evaluation of certain food additives. WHO Technical Report Series No.599 Twentieth Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (1976) (Annex 4: Notes on the use of therapeutic and antimicrobial substances in food).
- 37) Report of the Scientific Committee for Food of Natamycin (Opinion expressed 31

October 1979).

38) NATAMYCIN SUMMARY REPORT (The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products Veterinary Medicines Evaluation Unit EMEA/MRL/342/98-FINAL) February 1998.

39) 食料需給表 平成 13 年度、農林水産省総合食料局 (平成 15 年 3 月)

ナタマイシン安全性試験結果

濃度	投与期間	供試動物	動物数 / 群	投与量又は餌中濃度	結果 NOAEL 又は LOAEL	文献 No.
急性毒性	単回	マウス			LD ₅₀ : 1,500 mg/kg 体重	4
	単回	ラット			LD ₅₀ : 1,500 mg/kg 体重	
	単回	ラット			LD ₅₀ : 雄 2,730 mg/kg 体重、雌 4,670 mg/kg 体重	5
	単回	モルモット			LD ₅₀ : 450 mg/kg 体重	3
	単回	雄ウサギ			LD ₅₀ : 1,420 mg/kg 体重	5
	単回	イヌ			LD ₅₀ : 1,000 mg/kg 体重	4
短期毒性	5-10 週間	ラット		50 ~ 70 mg/kg 体重/日	発育、血液学的又は病理組織組織学的に影響なし。 NOAEL : 70 mg/kg 体重/日	3
	9 週間	ラット		150 mg/kg 体重/日	多少の発育抑制がみられた。 LOAEL : 150 mg/kg 体重/日	
	2 週間	ラット		500 mg/kg 体重/日	30%のラットが死亡した。 LOAEL : 500 mg/kg 体重/日	
	94-96 日間	ラット	雌雄各 20	0、125、500、2,000、8,000 ppm (約 0、10、45、190、750 mg/kg 体重/日)	2,000、8,000 ppm 投与群で発育の遅れ、摂餌量の減少。血液検査、器官重量は正常範囲内。 NOAEL : 45 mg/kg 体重/日	5
	7 週間	イヌ		0、312、625、1,250、5,000 ppm (体重の記載なし)	5,000 ppm 投与群で下痢、嘔吐、摂餌忌避のため 4 日で中止。1,250 ppm 投与群で摂餌忌避。625、1,250 ppm 群で下痢がみられた。	
	90 日間	イヌ	雌雄各 2	0、375、750 ppm (約 0、12.5、25 mg/kg 体重/日)	750 ppm 投与群で下痢によると思われるわずかな体重、平均摂餌量の減少がみられた。 NOAEL : 25 mg/kg 体重/日	
長期毒性	2 年間 (8,000 ppm 群は 3 ヶ月)	ラット	雌雄各 35 ~ 40	0、125、250、500、1,000、8,000 ppm (0、18、38、75、142、750 mg/kg 体重/日)	8,000 ppm 投与群で 3 ヶ月後の体重及び摂餌量が減少したが、特に有害反応はなかった。1,000 ppm 投与群で総摂餌量の減少と軽度の緩やかな成長の遅れがあった。500 ppm 以下の投与量では、ラットは 2 年以上の反復投与に耐えた。 NOAEL : 75 mg/kg 体重/日	5 7
	2 年間	イヌ	雌雄各 3	0、125、250、500 ppm (体重の記載なし)	500 ppm 投与群の雄で初期の体重増加のわずかな減少がみられた。血液学的検査等に異常はみられていない。	5
繁殖毒性	多世代	ラット	F0 : 雌 10、雄 5、	0、1,000 ppm	投与群の児は離乳時に対照群の児よりも平均体重が低かった。	8
	11 週間	ラット	雄 10、雌 20	0、5、15、50、100 mg/kg 体重/日	100 mg/kg 体重/日投与群で、死産児数の増加、出産児数の減少及び生後 21 日生存児数の低下がみられ、児の体重は F0、F1 の 2 産目の児 (F1b、F2b) 並びに F2 の 1、2 産目の児 (F3ab) で減少した。NOAEL : 50 mg/kg 体重/日	9
	7 日間	ラット	雄(3 世代試験の F2) 10、雌(未処理) 2	0、5、15、50、100 mg/kg 体重/日	着床数、生存及び死亡胚数に差はなく、繁殖能への影響を示す所見は得られなかった。 NOAEL : 100 mg/kg 体重/日	8

識 標	投与期間	供試 動物	動物数 /群	投与量又は 餌中濃度	結果 NOAEL 又は LOAEL	文献 No.
催 奇 形 性	妊娠6～15日	ラット	雌(3世代試 験のF2)20	0、5、15、50、100 mg/kg 体重/日	妊娠数、生存数、死亡胎児数、胎児の内臓及び骨 格所見に対照群との差はなかった。 NOAEL：100 mg/kg 体重/日	9
	妊娠6～18日	ウサギ	雌各 10 ～12	0、5、15、50 mg/kg 体重/日	母体、着床及び胎児所見有害影響は検出されず、 胎児の内臓及び骨格所見に対照群と差はなかつ た。 NOAEL：50 mg/kg 体重/日	10
	妊娠6～18日	ウサギ	雌各 15	0、5、15、50 mg/kg 体重/日	15、50 mg/kg 体重/日投与群の胎児で過剰胸骨分 節の発現頻度の上昇がみられたが、奇形の発現頻 度の上昇は認められなかった。 NOAEL：5 mg/kg 体重/日	11
発 がん 性	2年間	ラット	雌雄各 35～40	0、125、250、500、 1,000 ppm (0、18、38、75、 142 mg/kg 体重/日)	1,000 ppm 投与群の雌雄で平均体重が対照群に比 べて約 10%減少した。剖検における肉眼的検査 及び顕微鏡検査では、腫瘍の発生増加あるいは他 の病変発生の増加は認められなかった。 NOAEL：75 mg/kg 体重/日	7
一 般 薬 理	90日間	イヌ	雌雄各2	0、375、750 ppm (約 0、12.5、25 mg/kg 体重/日)	血液検査、尿検査、心電図、眼科学的検査、剖検 及び顕微鏡検査において投与による影響はみら れなかった。	6
ヒ ト に お け る 観 察			不明	300～400 mg/ヒト/ 日	時折悪心、嘔吐及び下痢が発生。末梢血液の変化 は観察されなかった。	17
			2,500 以 上	不明	刺激感受性又は有害反応なし。	
			不明	400 mg/ヒト/日～	600 mg/日以上で一時的な悪心又は鼓腸。	
	13～180日間	(全身性 糸状菌症 患者)	10	50～1,000 mg/ヒト/ 日	600～1,000 mg/ヒト/日の投与で悪心、嘔吐、下痢 が一樣に発生。	18
遺 伝 毒 性	Rec-Assay (Kada) インキュベーション 24時間 (37)	<i>Bacillus subtilis</i> , H17 由 来 M45 変異株		1% 0.5 µL/paper disk	ナタマイシン分解物(0.5%)も含め、陰性であつ た。	12
	Rec-Assay (Kada) インキュベーション 24時間 (37)	<i>Bacillus subtilis</i> , H17 由 来 M45 変異株		0.1～1.0% 50 µL/paper disk	ナタマイシン分解物(0.5%)も含め、paper disks によるスポットテストで陰性であった。	13
	Ames インキュベーション 1又は2日間 (37)	TA98, TA100, TA1535, TA1538 WP2trp ⁻ WP1uvrA ⁻		0.04～1.0% (50%懸濁液)	S9mix 有無にかかわらず変異原性は示さなかつ た。	13
		ラット	雌雄各5 (3世代試験 の子)	3世代試験の投与量：0、5、 15、50、100 mg/kg 体重/日	屠殺3～4時間前にコルヒチン 1.0 mg/kg を投与。 染色体異常の誘発は認められなかった。	9

試験種	投与期間	供試動物	動物数 / 群	投与量又は餌中濃度	結果 NOAEL 又は LOAEL	文献 No.
	Ames	TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA1538	/	15 ~ 5,000 µg/plate	S9mix の有無にかかわらず、変異原性は認められなかった。	14
		マウスリンパ腫 L5178Y	/	7.8 ~ 96 µg/mL	S9mix の有無にかかわらず、遺伝毒性は認められなかった。	15
	染色体異常試験	CHO 細胞	/	S9mix 存在下 : 50 ~ 200 µg/mL、 S9mix 非存在下 : 10 ~ 30 µg/mL	S9mix の有無にかかわらず、ナタマイシンが染色体構造異常を誘発するという証拠は得られなかった。ナタマイシン処理群では倍数体の発生頻度が増加した。	16