



府食第162号
平成18年 3月 8日

食品安全委員会
委員長 寺田 雅昭 殿

動物用医薬品専門調査会
座長 三森 国敏

・ ツラスロマイシンの食品健康影響評価について

平成17年8月1日付け厚生労働省発食安第0801009号をもって、厚生労働大臣から食品安全委員会委員長に意見を求められたツラスロマイシンの残留基準設定に係る食品健康影響評価について、当専門調査会において審議を行った結果は別添のとおりですので報告します。

(別添)

動物用医薬品評価書

ツラスロマイシンの食品健康影響評価について

2006年3月

食品安全委員会 動物用医薬品専門調査会

目次

	頁
〈目次〉	1
〈審議の経緯〉	
〈食品安全委員会委員名簿〉	
〈食品安全委員会動物用医薬品専門調査会専門委員名簿〉	2
〈ツラスロマイシンの食品健康影響評価について〉	
1. 薬剤の概要	3
2. 毒性試験の概要	
2-1. 吸収・分布・代謝・排泄	
(1) 吸収・排泄	4
(2) 代謝	5
2-2. 毒性試験	
(1) 急性毒性試験	6
(2) 亜急性毒性試験	7
(3) 慢性毒性試験	8
(4) 発がん性試験	9
(5) 繁殖毒性試験及び催奇形性試験	9
(6) 遺伝毒性試験	10
(7) その他特殊試験	11
(8) 微生物学的影響に関する特殊試験	12
(9) ヒトにおける知見について	14
3. 食品健康影響評価について	14
4. 参考文献	19

〈審議の経緯〉

平成17年8月1日	厚生労働大臣から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8月4日	第106回食品安全委員会（要望事項説明）
平成17年9月26日	第35回動物用医薬品専門調査会
平成17年10月19日	第38回動物用医薬品専門調査会
平成17年11月9日	第40回動物用医薬品専門調査会
平成17年12月16日	第42回動物用医薬品専門調査会
平成17年12月22日	
ー 平成18年1月18日	国民からの意見情報の募集
平成18年2月24日	第47回動物用医薬品専門調査会
平成18年3月8日	動物用医薬品専門調査会座長から食品安全委員会委員長へ報告

〈食品安全委員会委員〉

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

〈食品安全委員会動物用医薬品専門調査会専門委員〉

H17. 9. 30まで

座 長	三森 国敏	津田 洋幸
座長代理	井上 松久	寺本 昭二
	青木 宙	長尾 美奈子
	明石 博臣	中村 政幸
	江馬 眞	林 眞
	大野 泰雄	藤田 正一
	菅野 純	
	嶋田 甚五郎	
	鈴木 勝士	

H17. 10. 1から

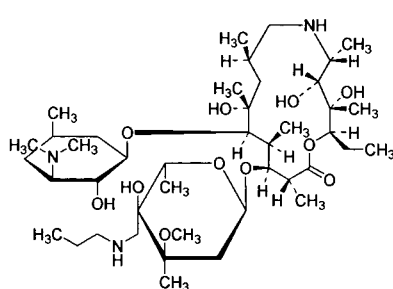
座 長	三森 国敏	津田 修治
座長代理	井上 松久	寺本 昭二
	青木 宙	長尾 美奈子
	明石 博臣	中村 政幸
	江馬 眞	林 眞
	大野 泰雄	藤田 正一
	小川 久美子	吉田 緑
	渋谷 淳	
	嶋田 甚五郎	
	鈴木 勝士	

ツラスロマイシンの食品健康影響評価について

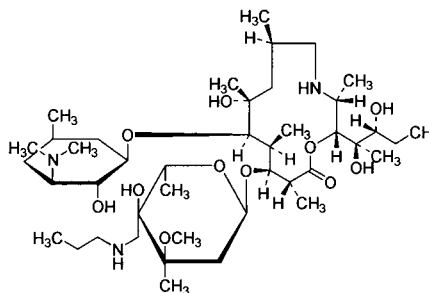
1. 薬剤の概要

(1) 物質名⁽¹⁾

ツラスロマイシン(Tulathromycin)



217500-96-4



280755-12-6

分 子 式 : $C_{41}H_{79}N_3O_{12}$

分 子 量 : 806.08

常温における性状 : 白色の結晶性粉末

融 点 : 190~192°C

溶 解 度 : >380 mg/mL (pH <8.3)、330 mg/mL (pH 8.6)

蒸 気 圧 : nonvolatile

(2) 効能・効果⁽¹⁾

ツラスロマイシンは半合成のマクロライド系抗生物質で2種の構造異性体(Cas. No. 217500-96-4 および 280755-12-6)の平衡混合物である。溶液中で動的に平衡している場合の異性体比は約9:1とされている。

ツラスロマイシンの作用機序は、他のマクロライド系抗生物質と同様に、細菌細胞のリボソームの50Sサブユニットに結合してたん白質合成を阻害するものであり、静菌的に作用すると考えられている。

ウシあるいはブタの肺炎の起因菌に対して有効性が認められていることから、動物用医薬品としては、これらの肺炎の治療薬として用いられている。

(3) その他⁽¹⁾

本剤は、国内における承認はないが、米国、EU等でウシ、ブタの細菌性肺炎の治療を目的として使用されている。米国、EU欧州における用法・用量は、ツラスロマイシンとして2.5 mg/kgの用量をウシには皮下、ブタには筋肉内への単回投与である。休薬期間は米国ではウシ:18日、ブタ:5日、欧州ではウシ:49日、ブタ:33日である。なお、FDA(2005年)、EMA(2003年)においてすでに評価されており、それぞれ15、10.97 µg/kg 体重/日のADIが設定されている。

2. 毒性試験の概要

2-1. 吸収・分布・代謝・排泄

(1) 吸収・排泄

【ウシにおける投与試験】

ウシ(約 6-8 カ月齢雌及び去勢雄計 42 頭^a)にツラスロマイシン 2.5mg/kg 体重を単回皮下投与し、最長 360 時間後までの血漿、及び最も高濃度の残留が想定されている肺について、12、24、72、144、240、360 時間後に各 6 頭から組織が採取され薬物動態が検討されている。血漿中の T_{max} は 0.5-1.8 時間、 C_{max} は 0.36-1.3 μ g/mL、 $T_{1/2}$ は 58-99 時間であった。一方、肺組織中の T_{max} は 24 時間、 C_{max} は 4.1 μ g/g、 $T_{1/2}$ は 184 時間であった。⁽²⁾

ウシ(約 5-6 カ月齢雌及び去勢雄計 18 頭^b)にツラスロマイシン 2.5mg/kg 体重を単回皮下あるいは静脈内投与し、最長 144 時間あるいは 336 時間後までの血漿、及び最も高濃度の残留が想定されている肺について 168、360 時間後に各 4 頭から組織が採取され薬物動態が検討されている。皮下投与時の血漿中の T_{max} は 0.25 時間、 C_{max} は 0.41 μ g/mL、 $T_{1/2}$ は 92 時間であった。静脈投与時の血漿中の T_{max} は投与直後、 C_{max} ^c は 2.0 μ g/mL、 $T_{1/2}$ は 65 時間であった。一方、肺組織中の濃度は 168 時間後に皮下投与で 2.4 μ g/g、静脈内投与で 2.2 μ g/g、360 時間後に皮下投与で 1.2 μ g/g、静脈内投与で 0.7 μ g/g であった。⁽³⁾

ウシ(約 4-7 週齢の雌雄計 18 頭^d)にツラスロマイシン 2.5mg/kg 体重を単回皮下あるいは静脈内投与し、最長 168 時間あるいは 336 時間後までの血漿、及び最も高濃度の残留が想定されている肺について 168、336 時間後に雌雄各 2 頭から組織が採取され薬物動態が検討されている。皮下投与時の血漿中の T_{max} は 0.25 時間、 C_{max} は 0.41 μ g/mL、 $T_{1/2}$ は 87 時間であった。静脈投与時の血漿中の T_{max} は投与直後、 C_{max} ^e は 5.98 μ g/mL、 $T_{1/2}$ は 96 時間であった。一方、肺組織中の濃度は 168 時間後に皮下投与で 1.7 μ g/g、静脈内投与で 1.5 μ g/g、360 時間後に皮下投与で 0.9 μ g/g、静脈内投与で 0.8 μ g/g であった。⁽⁴⁾

ウシ(約 5-7 カ月齢の雌及び去勢雄計 10 頭^f)に ¹⁴C 標識ツラスロマイシン 2.5mg/kg 体重を単回皮下投与し、1-4 及び 14、24、35、47 日^gに尿及び糞が採取され、総放射活性の測定が実施されている。排泄物中の総放射活性はいずれも 24 時間以内にピークとなった。また、5 日以内に尿から投与量の約 24.1%、糞から約 23.7%、合計約 47.8%が排泄され、35 日後では尿と糞を併せて約 62.8%、47 日後では約 68.7%が排泄された。⁽⁵⁾

【ブタにおける投与試験】

ブタ(約 2-3 カ月齢雌雄各 21 頭^h)にツラスロマイシン 2.5mg/kg 体重を単回筋肉内投与し、最長 360 時間後までの血漿、及び最も高濃度の残留が想定されている肺について、12、24、72、144、240、360 時間後に雌雄各 3 頭から組織が採取され薬物動態が検討されている。血漿中の T_{max} は 0.5 時間、 C_{max} は 0.58 μ g/mL、 $T_{1/2}$ は 91 時間であった。一方、肺組織中の T_{max} は 24 時間、 C_{max} は 3.47 μ g/g、 $T_{1/2}$ は 142 時間であった。⁽⁶⁾

^a 未処理対照群 6 頭を含む

^b 未処理対照群 2 頭を含む

^c C_0

^d 未処理対照群 2 頭を含む

^e C_0

^f 未処理対照群雌及び去勢雄各 1 頭を含む

^g 投与群は 35 日までは 8 頭、47 日は 4 頭について、対照群は雌雄各 1 頭の 2 頭について採取。

^h 未処理対照群 3 頭を含む

ブタ(約2-3ヵ月齢雌雄各11頭)にツラスロマイシン2.5mg/kg体重を単回筋肉内あるいは静脈内投与し、最長168時間あるいは360時間後までの血漿、及び最も高濃度の残留が想定されている肺について168時間後に雌雄各2頭、360時間後に雌雄各3頭から組織が採取され薬物動態が検討されている。筋肉内投与時の血漿中の T_{max} は0.25時間、 C_{max} は0.616 μ g/mL、 $T_{1/2}$ は75.6時間であった。静脈投与時の血漿中の T_{max} は投与直後、 C_{max}^j は9.68 μ g/mL、 $T_{1/2}$ は67.5時間であった。一方、肺組織中の濃度は168時間後に筋肉内投与で1.38 μ g/g、静脈内投与で1.44 μ g/g、360時間後に筋肉内投与で0.78 μ g/g、静脈内投与で0.77 μ g/gであった。⁽⁷⁾

ブタ(雑種;体重36.0kg計14頭)を用いて、対照群2頭、ツラスロマイシン投与群には2.5mg/kgを各6頭に単回強制経口または筋肉内投与し、最長168時間までの血漿及び最も高濃度の残留が想定されている肺について組織が採取され薬物動態が検討されている。筋肉内投与時の血漿中の T_{max} は0.917時間、 C_{max} は711ng/mL、 $T_{1/2}$ は61.5時間、AUCは14.0 μ g/h/mLであった。経口投与時の各パラメーターは暴露量が低く、変動も大きいため測定できなかったとされているが、測定された血漿試料中濃度の比較からは経口吸収率は10%以下と推定されている。一方、肺組織中の濃度は168時間後に筋肉内投与で1.58 μ g/gであった。経口投与では3頭(3/6)で検出され0.13 μ g/g^kであった。⁽⁸⁾

ブタ(雑種;体重36.0kg計6頭)を用いて、対照群2頭、ツラスロマイシン投与群には2.5mg/kgを4頭に単回強制経口し、最長336時間までの尿及び糞を採取した。また、336時間後に最も高濃度の残留が想定されている肺について組織が採取された。尿中の排泄は24時間までの分画が最も高く平均濃度は0.45 μ g/mLであり、糞中の排泄は24-48時間までの分画が最も高く平均濃度は68.7 μ g/gであった。尿及び糞中からの未変化体回収率は約30-50%であった。肺組織中の濃度は336時間後では2頭(2/4)で検出され、0.09 μ g/g^lであった。⁽⁸⁾

ブタ(雌及び去勢雄計18頭^m)に¹⁴C標識ツラスロマイシン2.5mg/kg体重を単回筋肉内投与し、1-5及び12、23、35日ⁿの尿及び糞が採取され、総放射活性の測定が実施されている。排泄物中の放射活性は尿中で24時間以内、糞中で3日以内にピークを示した。また、5日以内に尿から投与量の約27.5%、糞から約43.5%、合計で約71.0%が排泄され、35日までに尿と糞を併せ約95.8%以上が排泄された。⁽⁹⁾

(2) 代謝

【ウシにおける体内分布】⁽¹⁰⁾

ウシ(約5-7ヵ月齢の雌及び去勢雄計26頭ⁿ)に¹⁴C標識ツラスロマイシン2.5mg/kg体重を単回皮下投与し、投与後36または48日までの筋肉、脂肪、肝臓、腎臓及び注射部位について組織が採取され、総放射活性、未変化体、残留マーカー^pが測定された。組織中濃度は注射部位を除き調査されたいずれの時点においても肝臓で最も高く、ついで腎臓、脂肪、筋肉の順であったが経時的に減少し、36日の時点で筋肉、48日の時点で脂肪で検出限界未満となった。48日での肝及び腎での残留量は1.2mg eq/gであった。投与

ⁱ 未処理対照群各1頭を含む

^j C_0

^k 3頭の定量下限値以下の値を0として計算

^l 2頭の定量下限値以下の値を0として計算

^m 未処理対照群の雌及び去勢雄各1頭を含む

ⁿ 投与群は23日までは8頭、35日は4頭について、対照群は雌雄各1頭の2頭について採取。

^o 未処理対照群の雌及び去勢雄各1頭を含む

^p 組織の酸消化によってツラスロマイシン及びその主な代謝物から生じる共通のフラグメントを残留マーカーとしている

0.5 から 48 日までの間に摘出した組織中の未変化体と総残留物の比率の平均は肝が 0.40、腎臓が 0.62、投与部位が 0.77、筋肉が 0.71、残留マーカ―と総残留物の比率は順に肝が 0.61、腎臓が 0.78、脂肪が 0.46、筋肉が 0.79 であった。注射部位については投与直後(0.5 日)の時点では最も高い残留が認められたが、5 日目以降は肝臓より低くなり、その後経時的に減少した。

【ブタにおける体内分布】⁽¹¹⁾

ブタ(約 2-3 カ月齢の雌及び去勢雄計 18 頭⁹⁾)に ¹⁴C 標識ツラスロマイシン 2.5mg/kg 体重を単回筋肉内投与し、最長 36 日までの筋肉、皮膚/脂肪、肝臓、腎臓及び注射部位について組織が採取され、総放射活性、未変化体、残留マーカ―[†]の測定が実施されている。組織中濃度は注射部位を除き調査されたいずれの時点においても腎臓で最も高く、ついで肝臓、皮膚/脂肪、筋肉の順であったが経時的に減少し、皮膚/脂肪、筋肉については 36 日の時点で検出限界未満となったが、腎臓及び肝臓ではそれぞれ未変化体が 0.255 mg/kg 及び 0.210 mg/kg 残留していた。未変化体と総残留物の比率は順に肝が 0.96、腎臓が 1.02、筋肉が 0.96、皮膚/脂肪が 0.18、残留マーカ―と総残留物の比率は順に肝が 0.94、腎臓が 0.83、筋肉が 0.86、皮膚/脂肪が 0.28 であった。注射部位については 4 日の時点を除き最も高い残留が認められたが、経時的に減少した。

【ウシにおける代謝物】⁽¹²⁾

体内分布試験⁽⁵⁾、⁽¹⁰⁾で検討された各組織及び胆汁、尿及び糞中の代謝物の同定が実施されている。いずれの試料においても主要な残留放射活性は未変化体によるものであり、筋肉、肝臓で約 66%、腎臓で約 77%、脂肪では約 36%を占めた。主な代謝物はツラスロマイシンの脱クラディノース環体であったが、その含有量は最大で糞中の約 8.76%であった。胆汁中で認められたツラスロマイシンの脱プロピル体(約 16.3%)を除き、その他の代謝物の割合はいずれも低かった。

【ブタにおける代謝物】⁽¹²⁾

体内分布試験⁽⁹⁾、⁽¹¹⁾で検討された各組織及び胆汁、尿及び糞中の代謝物の同定が実施されている。いずれの試料においても主要な残留放射活性は未変化体によるものであり、6-9 割を占めた。その他の代謝物の割合はいずれも低かった。

2-2.毒性試験

(1)急性毒性試験

Sprague-Dawley 系ラット(雌雄各 3 匹/群)を用いた試験において、経口投与では 2000 mg/kg 体重までの単回投与で死亡は認められなかった。静脈内投与では 11.3 mg/kg 体重では単回投与で死亡は認められなかったが、33.8 mg/kg 体重では全例が死亡した。⁽¹³⁾

ビーグル犬(雌雄各 2 匹/群)を用いた試験において、経口投与では 1000 mg/kg 体重まで、静脈内投与では 30 mg/kg 体重までの単回投与で死亡は認められなかった。⁽¹⁴⁾

⁹ 未処理対照群 2 頭を含む

[†] 組織の酸消化によってツラスロマイシン及びその主な代謝物から生じる共通のフラグメントを残留マーカ―としている

⁸ 構造異性体 Cas. No. 217500-96-4 を投与

¹ 30mg/kg 体重の静脈投与については 1 頭

(2)亜急性毒性試験

【ラットを用いた1ヵ月間亜急性毒性試験】⁽¹⁵⁾

Sprague-Dawley 系ラット(雌雄各 10 匹/群)を用いた強制経口(0、10、50、200 mg/kg 体重/日)投与^uにおける1ヵ月間の亜急性毒性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。対照群にはクエン酸緩衝水が投与された。なお、試験期間中に死亡例は認められなかった。

一般的な臨床症状観察、体重変化、摂餌量では、特に投与に起因した異常は認められなかった。

血液学的検査では、200mg 投与群で単球及び好酸球の増加が認められた。

臓器重量では、200mg 投与群の雄で相対肝臓重量の低値が認められた。

血液生化学的検査では、200mg 投与群の雄で AST、ALT の高値が認められた。

尿検査、眼検査、剖検及び病理組織学的検査では特に投与に起因した異常は認められなかった。

本試験における NOAEL は 50mg/kg 体重/日であった。

【ラットを用いた3ヶ月間亜急性毒性試験】⁽¹⁶⁾

Sprague-Dawley 系ラット(雌雄各 20 匹/群)を用いた強制経口(0、5、15、100mg/kg 体重/日)投与における3ヵ月間の亜急性毒性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。対照群にはクエン酸緩衝脱イオン水が投与された。なお、試験期間中に死亡例は認められなかった。

一般的な臨床症状観察、体重変化、摂餌量、血液学的検査では、特に投与に起因した異常は認められなかった。

血液生化学的検査では、15mg 投与群雄で AST、ALT、の高値、100mg 投与群の雌雄で AST、ALT、雌でコハク酸脱水素酵素(SDH)の高値、雄で総たん白質、アルブミン及びグロブリンの低値が認められた。

尿検査、眼検査、臓器重量、剖検及び病理組織学的検査では特に投与に起因した異常は認められなかった。100mg 投与群について8種類の肝チトクロム P450 系酵素の活性が測定されたが、いずれも対照群と差は認められなかった。

本試験における NOAEL は 5mg/kg 体重/日であった。

また、本試験の衛星群^vを用いて、肺組織中のツラスロマイシン濃度が測定されている。肺組織中のツラスロマイシン濃度は高投与量でより高い値が認められた。経時的には投与開始後 30 日までの増加率が高く、その後試験終了時までの増加は緩やかであった。

【イヌを用いた1ヵ月間亜急性毒性試験】⁽¹⁷⁾

ビーグル犬(雌雄各4頭/群)を用いた強制経口投与(0、5、15、50mg/kg 体重/日)による1ヵ月間の亜急性毒性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。対照群にはクエン酸緩衝脱イオン水が投与された。

一般的な臨床症状観察では、対照群を含めて軟便が認められたが、50 mg 投与群の3頭で頻度が高かった。

体重変化、摂餌量、血液学的検査では、特に投与に起因した異常は認められなかった。

血液生化学的検査では、50 mg 投与群の雌雄で ALT、雄で AST の上昇が認められ、雄では総たん白質、グロブリンの軽度な低値が認められた。

^u 構造異性体 Cas. No. 217500-96-4 を投与

^v 予備的に本試験群と平行して同様に被験物質処理された群。

尿検査には特に異常は認められなかった。

臓器重量では、50 mg 投与群の雌で絶対及び相対腎臓重量に高値が認められた。

血圧が 50 mg 投与群の雌で低下した。

心拍数、呼吸数、体温、心電図、眼検査、臓器重量、剖検及び病理組織学的検査では特に投与に起因した異常は認められなかった。

本試験における NOAEL は 15 mg/kg 体重/日であった。

【イヌを用いた 3 ヶ月間亜急性毒性試験】⁽¹⁸⁾

ビーグル犬 (雌雄各 4 頭/群)を用いた強制経口投与(0、5.7、17.0、56.7 mg/kg 体重/日) による 3 ヶ月間の亜急性毒性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。なお、対照群にはクエン酸緩衝脱イオン水が投与された。

試験期間中、56.7mg 投与群の 1 頭が誤投与により死亡した他に死亡例は認められなかった。

一般的な臨床症状観察では、対照群を含めて軟便が認められたが、56.7 mg 投与群の雌雄で頻度が高かった。

体重変化、摂餌量、血液学的検査では、特に投与に起因した異常は認められなかった。

血液生化学的検査では、17mg 投与群の雌 1 頭で AST、56.7 mg 投与群の雌雄で ALT、AST の上昇が認められた。

尿検査には特に異常は認められなかった。

心拍数、呼吸数、体温、血圧、心電図に特に投与に起因した異常は認められなかった。

眼検査では 17mg 投与群の雌雄各 1 例で、限局性で片側性の小さな銀色点が複数、網膜の壁紙(タペタム)結合部付近に認められた。この所見に対応する病理組織学的異常は認められなかった。また、この変化は対照群を含め、他の投与群では認められなかった。

臓器重量、剖検及び病理組織学的検査では特に投与に起因した異常は認められなかった。投与終了後、9 種類の肝チトクロム P450 系酵素の活性が測定されたが、いずれも対照群と差は認められなかった。投与終了時の肺組織中のツラスロマイシン濃度は、高用量群でより高かった。

本試験における NOAEL は 5.7mg/kg 体重/日であった。

(3)慢性毒性試験

【イヌを用いた 1 年間慢性毒性試験】⁽¹⁹⁾

ビーグル犬 (雌雄各 4 頭/群)を用いた強制経口投与(0、2、5、25 mg/kg 体重/日)による 1 年間の慢性毒性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。なお、対照群にはクエン酸緩衝脱イオン水が投与された。なお、試験期間中により死亡例は認められなかった。

一般的な臨床症状観察では、投与群で散発的な流涎が認められたが、5 mg 以上投与群でわずかに頻度が高く、特に雌で顕著であった。

体重変化、摂餌量、血液学的検査では、特に投与に起因した異常は認められなかった。

血液生化学的検査は投与 12、31、85、176、273、357 日目に行われており、25 mg 投与群の雌で ALT、AST の上昇が認められた。雄においては AST が 85 日目以降に上昇傾向を示し、176 日目で有意であった。

尿検査には特に異常は認められなかった。

心拍数、呼吸数、体温、血圧、心電図、眼検査に特に投与に起因した異常は認められなかった。

臓器重量では 25mg 投与群で精巣の絶対重量の増加が認められた。

剖検及び病理組織学的検査では特に投与に起因した異常は認められなかった。

本試験における NOEL は 2mg/kg 体重/日であった。

なお、25mg 投与群の初回投与及び 1 年間の投与終了後 24 時間の AUC の比較では、1 年間の投与終了時で 6 倍程度高い値が認められ、長期投与による蓄積が認められたが、2mg 投与群では初回及び 1 年間の投与終了後の血漿中濃度はともに低く、蓄積は確認されなかった。投与終了時の肺組織中のツラスロマイシン濃度は、投与量順に 0.75、4.02、321µg/g で高投与量群でより高かったが、先の 3 ヶ月間亜急性毒性試験の知見と比較してさらなる蓄積は認められなかった。

(4)発がん性試験

発がん性試験については実施されていなかった。

(5)繁殖毒性試験及び催奇形性試験

【ラットを用いた 2 世代繁殖試験】⁽²⁰⁾

Sprague-Dawley 系ラットを用いた強制経口 (0、15、50、100 mg/kg 体重/日)投与による 2 世代繁殖試験が実施されている。被験物質の投与及び交配は次の要領で実施された。

F₀ 世代では、雌雄各 30 匹/群に交配開始前に最低 70 日投与し、さらに交配、妊娠、ほ育期間を通じ、F₁ 離乳後の剖検時まで投与した。F₁ 世代は離乳時に雌雄各 30 匹/群を交配のため選抜した。F₁ 動物には F₀ と同様に交配開始前に最低 70 日投与し、さらに交配、妊娠、ほ育期間を通じ、F₂ 離乳後の剖検時まで投与した。F₂ 児動物は離乳時に剖検された。

一般的な臨床症状観察では、特に被験物質の投与に伴う異常は認められなかった。体重増加抑制が F₀ および F₁ 世代の 100 mg 投与群の雄で散発的に認められ、雌では F₁ 世代の 50mg 投与群で妊娠 0-4 日、100mg 投与群で妊娠 0-20 日に認められた。摂餌量は F₀ および F₁ 世代の 100 mg 投与群の雄で散発的に低下が認められた。血液生化学的検査は F₀ 世代の 9 週と 18 週で実施されたが、総たん白質の低値が 50mg 以上投与群の雄の 9 及び 18 週、AST の高値が 50mg 以上投与群の雄の 18 週、及び BUN の低値が 50mg 以上投与群の雄の 9 週と雌の 18 週及び 15mg 以上の全投与群の雄の 18 週で認められた。肝臓の絶対及び相対重量の減少が F₀ 世代雌雄の 15mg 以上の全投与群にみられ、F₁ 世代においても相対重量が雄の 15mg 以上の全投与群と雌の 50mg 以上投与群で減少した。病理組織学的検査では、肝臓を含め検査したいずれの臓器にも異常は認められなかった。

繁殖に関する影響のパラメーター(受胎率、交尾率、同居から交尾までの日数、妊娠率、分娩率、発情周期)には、F₀、F₁ とともに投与の影響は認められなかった。

F₁ 及び F₂ 新生児の性比、生存出生児数、分娩後生存率、性成熟までの日数に被験物質投与の影響は認められなかった。離乳時の F₁、F₂ 児の剖検及び臓器重量に被験物質の投与による影響は認められなかった。

本試験における親動物の一般毒性に対する LOAEL は 15 mg/kg 体重/日であり、生殖発生毒性に対する NOAEL は 100mg/kg 体重/日以上であった。

【ラットを用いた催奇形性試験】⁽²¹⁾

Sprague-Dawley 系ラット(22 匹/群)を用いた強制経口 (0、15、100、200mg/kg 体重/日)投与による催奇形性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。被験物質の投与は、妊娠 6 日から 17 日の間行い、

妊娠 20 日に帝王切開した。対照群にはクエン酸媒体を投与した。

母動物に死亡は認められず、一般的な臨床症状観察でも被験物質の投与に伴う影響は認められなかった。100mg 以上の投与群で、体重減少はみられなかったが、妊娠 6-9 及び 9-12 日の間で摂餌量の減少が認められた。

試験実施機関の背景データの範囲内の変化ではあったが、100mg 以上投与群で、総吸収胚率、着床後胚死亡率の有意の増加、腹当たり生存胎児率の有意の低下が認められた。15mg 以上投与群で雌雄の胎児体重の有意の低下がみられた。黄体数、着床前胚死亡数、着床数および性比に投与の影響は認められなかった。また、胎児の外表、内臓および骨格観察においても奇形や変異の発現率に影響は認められなかった。

以上の結果から、本試験の母動物に対する NOAEL は 15 mg/kg 体重/日、胎児に対する LOAEL は 15 mg/kg 体重/日であった。また、催奇形性は認められなかった。

【ウサギを用いた催奇形性試験】⁽²²⁾

ニュージーランドホワイト種のウサギ(22 匹/群)を用いた強制経口 (0、5、15、50mg/kg 体重/日)投与による催奇形性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。被験物質の投与は、妊娠 7 日から 20 日の間行い、妊娠 29 日に帝王切開した。対照群にはクエン酸媒体を投与した。

一般的な臨床症状観察では被験物質の投与による影響は認められなかった。50mg 投与群で、体重減少はみられなかったが、妊娠 7-10 日の間で摂餌量の減少が認められた。

生存胎児数、早期/後期吸収胚数、着床数、黄体数、胎児体重及び胎盤重量に投与の影響は認められなかった。また、胎児の外表、内臓および骨格観察においても奇形や変異の発現率に影響は認められなかった。

以上の結果から、本試験の母動物に対する NOAEL は 15 mg/kg 体重/日、胎児に対する NOAEL は 50 mg/kg 体重/日であった。また、催奇形性は認められなかった。

(6)遺伝毒性試験

変異原性に関する各種の *in vitro* 及び *in vivo* 試験の結果を次表にまとめた。

【変異原性に関する各種試験の結果一覧】

in vitro 試験

試験	対象	投与量	結果
Ames 試験	<i>S. typhimurium</i> TA1535, TA1537, TA98, TA100, <i>E. coli</i> WP2 <i>uvrA</i> (23)	0.02～50 µg/plate(-S9)	陰性 ¹
		0.02～50 µg/plate(+S9)	陰性 ²
		0.05～15 µg/plate(-S9)	陰性 ³
		0.05～50 µg/plate(+S9)	陰性 ⁴
染色体異常試験	ヒト末梢血リンパ球 (24)	608～1810 µg/mL (-S9 ; 3hr+21hr)	陰性 ⁵
		1450～3520 µg/mL (+S9 ; 3hr+21hr)	陰性 ⁶
		198～1084 µg/mL (-S9 ; 24hr)	陰性 ⁷
前進突然変異試験	CHO(K1-BH4/ <i>Hprt</i>) (25)	500, 1000, 2000, 3000, 4000, 5000 µg/mL	陰性 ⁸

		(-S9 ; 5hr+7days)	
		500, 1000, 2000, 3000, 4000, 5000 µg/mL (+S9 ; 5hr+7days)	陰性 ⁹
		500, 1000, 2000, 3000, 4000, 5000 µg/mL (+S9 ; 5hr+7days)	陰性 ⁹
		5000, 6000 µg/mL (+S9 ; 5hr+7days)	陰性 ⁹
	L5178Y マウスリンパ腫細胞(Tk) (26)	100~300 µg/mL(-S9)	陰性 ¹⁰
		300~500 µg/mL(-S9)	陰性 ¹¹
		400~1000 µg/mL(+S9)	陰性 ¹²

- 1 2µg/plate(TA1535)、5µg/plate(TA1537、TA98、TA100)、10µg/plate(*E. coli*)以上の用量で菌の生育阻害が認められた。
- 2 5µg/plate(TA1535、TA100)、10µg/plate(TA1537、TA98)、50µg/plate(*E. coli*)以上の用量で菌の生育阻害が認められた。
- 3 5µg/plate(TA1535、TA1537、TA98、TA100)、15µg/plate(*E. coli*)以上の用量で菌の生育阻害が認められた。
- 4 5µg/plate(TA1535、TA100)、15µg/plate(TA1537、TA98、*E. coli*)以上の用量で菌の生育阻害が認められた。
- 5 1810µg/mL では溶媒対照と比較して細胞生存率が50%に低下した。
- 6 3520µg/mL では溶媒対照と比較して細胞生存率が56%に低下した。
- 7 1084µg/mL では溶媒対照と比較して細胞生存率が66%に低下した。
- 8 2000µg/mL 以上では細胞毒性が認められた。
- 9 いずれの用量においても細胞毒性は認められなかった。
- 10 300µg/mL では溶媒対照と比較して細胞生存率が50%に低下した。
- 11 425µg/mL 以上では溶媒対照と比較して細胞生存率の著しい低下が認められた。
- 12 800µg/mL 以上では溶媒対照と比較して細胞生存率の著しい低下が認められた。

上記のように、*in vitro* の試験においては Ames 試験、ヒトリンパ球を用いた染色体異常試験、ほ乳類培養細胞を用いた前進突然変異試験のいずれも代謝活性化の有無にかかわらず陰性を示した。

in vivo 試験

試験系	試験対象	投与量	結果
小核試験	ラット骨髓	500, 1000, 2000mg/kg 体重 /日 ^w , 強制経口 3 日間	陰性 (27)

上記の通り、げっ歯類を用いた *in vivo* の小核試験でも陰性であった。

以上のように、*in vitro*、*in vivo* の複数の試験でいずれも陰性であることから、ツラスロマイシンは遺伝毒性を有さないものと考えられる。

(7) その他特殊試験

【皮膚感作性試験】

モルモット(10 匹)にプロピレングリコールに溶解した 5%のツラスロマイシン、プロピレングリコール溶解 5%ツラスロマイシンとフロイント完全アジュバントのエマルジョン、フロイント完全アジュバントのみをそれぞれ皮下接種し、1 週間後にプロピレングリコールで湿らせたツラスロマイシンを投与部位をカバーするようにパッチで 1 日間局所投与した。さらに 2 週間後にプロピレングリコールで湿らせたツラスロマイシン、もしくはプロピレングリコールのみで投与部位とは別の部位を攻撃した。24、48

^w 構造異性体 Cas. No. 217500-96-4 を投与

時間後の評価時点で、9/10 で陽性反応が認められ、ツラスロマイシンはモルモットにおいて接触感作性物質であることが示唆された。⁽²⁸⁾

このモルモットの皮膚で認められたアレルギー反応は細胞性免疫に関するものであるが、食物アレルギーで主として問題となるのは液性免疫で、特にアナフィラキシー等の重篤な障害をもたらす I 型アレルギーとは性質が異なっている。

経口投与におけるアレルギーについては、動物における種々の経口投与の毒性試験の知見が報告されているが、特にアレルギー様反応は認められていない。ただし、一般に動物におけるアレルギー反応の知見をそのままヒトに外挿することは難しいと考えられている。一方、マクロライド系抗生物質については、ヒト臨床における比較的長い使用歴がある。臨床におけるアレルギー様の副作用として、エリスロマイシンの例では発疹、掻痒、じんましん、血管浮腫等が知られているが、その頻度はまれであると報告されている⁽²⁹⁾。さらに、マクロライド間の比較では 15 員環のマクロライドはエリスロマイシンよりもまれと報告されている⁽³⁰⁾。アレルギーの惹起は用量依存的であると考えられるが、臨床使用と比較して食品を介した暴露量は著しく少ないことが想定され、食品を介して生体にとって問題となるアレルギー反応が生じる可能性は無視できる程度であると考えられる。

(8) 微生物学的影響に関する特殊試験

①ヒトの腸内細菌に対する最小発育阻止濃度 (MIC)⁽³¹⁾

ヒトの腸内細菌叢を構成する細菌種のうち、*Escherichia coli*、*Proteus mirabilis*、*Enterococcus* spp.、*Lactobacillus* spp.、*Bacteroides* spp.、*Fusobacterium* spp.、*Peptostreptococcus* spp.、*Bifidobacterium* spp.、*Clostridium* spp.、*Eubacterium lentum* それぞれ 10 菌株について測定されたツラスロマイシンに対する MIC は次の通りであった。

MIC の要約

		1/100 接種濃度 (10^{4-7} CFU/spot)		標準接種濃度 (10^{6-9} CFU/spot)	
		MIC ₅₀	MIC ₉₀	MIC ₅₀	MIC ₉₀
<i>Escherichia coli</i>	10	2	4	4	4
<i>Proteus mirabilis</i>	10	>128	>128	>128	>128
<i>Enterococcus</i> spp	10	1	4	2	8
<i>Lactobacillus</i> spp.	10	4	128	4	128
<i>Bacteroides</i> spp	10	64	>128	64	>128
<i>Fusobacterium</i> spp	10	2	4	2	4
<i>Peptostreptococcus</i> spp.	10	16	128	32	>128
<i>Bifidobacterium</i> spp.	10	0.5	8	1	16
<i>Clostridium</i> spp	10	16	32	32	32
<i>Eubacterium lentum</i>	10	16	>128	32	>128

調査された範囲では *Bifidobacterium* spp. が最も感受性が高い細菌種であり、その 10^{6-8} CFU/spot における MIC₅₀ 値は 1 µg/mL であった。

②in vitro gut model における感受性細菌の最小発育阻止濃度 (MIC)^{(32),(33)}

2~20 µg/mL のツラスロマイシンを Cooked meat 培地に加え、適当な塩濃度、約 pH2 の条件下でペプシン処理し、さらに約 pH7 に調整し、胆汁酸塩及びパンクレアチン処理することにより、ヒト消化管内の食物の通過をシミュレートした溶液に、*Bifidobacterium*、*Fusobacterium* (それぞれ 2 菌株) を約 10^{5-6} cfu/mL で加え、約

35℃で 18 時間培養したときの菌の生存状態が検討されている。この擬似消化管溶液中においては、20μg/mL までのツラスロマイシンは細菌の増殖に影響を与えなかった。

③ヒト糞便に対するツラスロマイシンの結合活性の検討

6 名(男女各 3 名)から採取された糞便を混合し 0.01M の CaCl_2 に 1/150～1/5 で希釈して滅菌した溶液に、25ppm の ^{14}C 標識ツラスロマイシンを添加した時の糞便に対するツラスロマイシンの結合活性が検討されている。混合液を遠心分離した上清に回収された放射活性は 1/150 希釈では約 88%であったが濃度とともに減少し、1/5 希釈では 47%に低下した。1/5 希釈における吸着係数は $K_d=8.5$ と計算されている。⁽³⁴⁾

また、別の試験において、健常男性 4 名から採取された糞便を混合し 0.01M の CaCl_2 で 1/10 に希釈して滅菌した溶液に、 ^{14}C 標識ツラスロマイシンを添加した時の糞便に対するツラスロマイシンの結合活性が検討されている。この試験においてはさらに 20 及び 37℃における結合活性の差も検討された。混合液を遠心分離した上清に回収された放射活性は 20℃で約 37～43%^xで $K_d=17$ 、37℃で 24～28%で $K_d=32$ とされている。⁽³⁵⁾

この条件では、ツラスロマイシンはヒトの体温に近い 37℃でよりヒト糞便溶液に対しより高い結合活性を示した。

④糞便と pH の細菌の増殖に対する影響

マイクロタイターブロス法(0.031～128μg/mL のツラスロマイシンを含み、約 pH7.1 または 7.4 及び約 pH6.5 に調整された培養培地または 3%糞便懸濁培地を 96 穴マイクロタイタープレートに満たし、 5×10^5 cfu/mL 菌液を各穴に添加し培養)により、種々の濃度のツラスロマイシンを含んだ培地及び糞便懸濁培地で 3 種(*E. coli*、*Enterococcus*、*Bifidobacterium* ; 各 4 菌株)の細菌を培養し、MIC を測定した。さらに各プレート穴中の培養液を寒天培地に移植し、寒天培地上にコロニーが得られなかった元のタイタープレートに添加されていたツラスロマイシン濃度を増殖阻止濃度(CPG)とした。CPG はタイタープレートにおける培養によって静菌的な作用によって増殖が認められなかった場合でも、抗菌剤を含まない寒天培地における培養によって発育することが想定され、MIC よりも高い値となると考えられる。

	<i>Escherichia coli</i>		<i>Enterococcus</i>		<i>Bifidobacterium</i>	
	平均	範囲	平均	範囲	平均	範囲
MIC(pH7.1 or 7.4)	5	4-8	6	4-8	4.3	≤0.031-16
MIC(pH6.5)	128	128->128	128	128->128	16.3	0.062-64
培地 CPG(pH7.1 or 7.4)	68	8->128	14	4-32	7.0	0.125-16
培地 CPG(pH6.5)	128	128->128	128	128->128	18.3	0.125-64
糞便懸濁培地 CPG(pH7.1 or 7.4)	128	128->128	128	128->128	40.5	2->128
糞便懸濁培地 CPG(pH6.5)	128	>128	128	>128	40.0	8->128

*平均 CPG の算出に際しては>128 は 128 として扱われた

全ての菌で培地培養後の CPG よりも糞便懸濁培地培養後の CPG が高い値を示し、糞便懸濁培地では抗菌活性が低下することが示唆された。特に、先の MIC₅₀ 検討試験において最も感受性の高かった *Bifidobacterium* については MIC が 0.5、0.5、2、8 であった 4 菌株が使用されたが、培地培養後の CPG に対する糞便懸濁培地培養後の CPG は平均値で約 2-6 倍、個別の比較では 2-16 倍高い値を示し、糞便に対する結合により抗菌活性が低下することが示唆された。

^x 4, 20, 24 時間時点の 3 点の値。

また、*Bifidobacterium* の pH については 7 よりも 6.5 において、*in vitro* の MIC が 4 倍程度の活性低下を示した⁽³⁶⁾。

Fusobacterium については 10 菌株について pH の影響が検討されたが、MIC₅₀ は 2(pH7)から 8(pH6.6)に変化し、4 倍の低下が認められた⁽³⁷⁾。

マクロライド系の抗生物質は非イオン型の時に細菌細胞によく取り込まれることが知られており、一般にアルカリ性で抗菌作用が増強される。逆に酸性側の pH においては抗菌作用が低下することが知られており、ツラスロマイシンは NH 基を 2 つ有するため、この傾向が強いと推定されている。

⑤ブタにおける *in vivo* の知見

Salmonella enterica serovar Typhimurium でブタを攻撃後、10 または 15mg/kg 体重のツラスロマイシンを筋肉内に単回投与し、28 日までの糞を採取した。本試験の ST 株の MIC は 1.56μg/mL であったが、各投与群とも対照群との間で糞中のサルモネラ排出量に影響は認められなかった⁽³⁸⁾。投与後 3 日間のブタの糞中のツラスロマイシン濃度は 2.5mg/kg 体重の筋肉内投与において 10~70μg/g であることが確認されており⁽⁹⁾、ツラスロマイシンはブタの消化管内では著しく抗菌活性が低下することが示唆された。

これらのように、*in vitro* の試験において、ツラスロマイシンは糞便等への吸着が示唆され、実際 *in vitro* の抗菌活性は糞便等の存在下では低下した。pH についても、特性上、生体内の pH 条件下では *in vitro* の MIC 測定試験で認められたものよりも抗菌活性が低下する可能性が高いと思われる。さらに、ブタの試験において、攻撃試験時の *Salmonella* 排泄に *in vitro* で求められた MIC より数十倍と推定される濃度のツラスロマイシン存在下でも影響は認められておらず、*in vitro* において示された種々の要因による抗菌活性低下は *in vivo* においても認められることが示唆された。

(9)ヒトにおける知見について

【ヒトにおけるマクロライドの毒性影響】⁽³⁹⁾

ツラスロマイシンのヒト臨床における使用歴はないが、マクロライド系の抗生物質は古くからヒト臨床において利用されている。

マクロライド系の抗生物質による重篤な副作用はまれにしか起こらないとされているが、エリスロマイシンでは胆汁うっ滞性肝炎があるとされ、初期の特徴は悪心、嘔吐、腹痛とされている。その他、経口、静脈投与で特に高用量の場合には腹痛、悪心、嘔吐、下痢を呈することがあるとされる。エリスロマイシンについては米国 NTP においてマウスを用いた発がん性試験が実施されているが、発がん性は認められなかったとされている。

また、ツラスロマイシンと同じ 15 員環マクロライドであるアジスロマイシンの臨床試験及び市販後の副作用調査で頻度が高かったのは血液検査値(特に肝酵素)の変動、消化管への影響(下痢、軟便等)であった。

^{(40),(41),(42)}

3. 食品健康影響評価について

【薬物動態について】

ツラスロマイシンの対象動物における血漿中半減期は 58-99 時間と比較的緩やかな減少を示し、イヌの 1 年間慢性毒性試験においては 25mg/kg 体重/日の投与では投与終了時に投与開始時と比較して AUC の高値が認められ、5mg の投与では投与開始時との比較は出来なかったが AUC の上昇が示唆された。

しかし、2mg の投与では投与開始時及び投与終了時の血漿中濃度は共に低く、低用量の投与では1年間の長期投与においても蓄積は認められなかった。また報告された試験の多くで、筋肉、脂肪、肝臓、腎臓よりも、肺において最も高い濃度の残留が認められているが、報告された各種の毒性試験において、特に肺に対する毒性所見は認められなかった。

【繁殖毒性及び催奇形性について】

生殖発生毒性についてはラットを用いた2世代繁殖試験、ラット、ウサギを用いた催奇形性試験が実施されている。2世代繁殖試験（0、15、50、100mg/kg 体重/日）においては、受胎率、交尾率、同居から交尾までの日数、妊娠率、分娩率、発情周期等の生殖に関する指標や、新生児の性比、生存出生児数、分娩後生存率、性成熟までの日数等の発生に関する指標のいずれにも被験物質の投与による影響は認められなかった。一方、一般毒性については、肝臓の絶対及び相対重量の減少がF₀ 雌雄の全投与群で認められ、F₁ でも雄の全投与群で相対重量の減少が認められたため、NOAEL が得られなかったと判断され、LOAEL は15mg/kg 体重/日と考えられた。また、催奇形性についてはラット（0、15、100、200mg/kg 体重/日）、ウサギ（0、5、15、50mg/kg 体重/日）共に認められなかったが、ラットにおいて15mg の用量において雌雄の胎児重量に低値が認められたため、NOAEL は得られなかったと判断され、LOAEL は15mg/kg 体重/日と考えられた。

【遺伝毒性／発がん性について】

発がん性試験については実施されていない。

しかしながら、ツラスロマイシンは*in vitro* のAmes 試験、染色体異常試験、前進突然変異試験(CHO/Hprt、マウスリンフォーマ Tk)、*in vivo* の小核試験(ラット骨髄)のいずれにおいても陰性であり、遺伝毒性はないと考えられる。また、亜急性、慢性毒性のいずれの試験においても前腫瘍性病変あるいは増殖性病変は認められていない。さらに、マクロライド系の抗生物質については比較的長いヒト臨床における使用歴があるが、副作用として腫瘍の発生は知られておらず、代表的な薬剤であるエリスロマイシンの発がん性試験では発がん性は認められていない。

これらのことから、発がん性試験を欠いていてもADIの設定は可能であると判断された。

【毒性学的影響のエンドポイントについて】

亜急性あるいは慢性毒性試験において、最も低い用量で被験物質投与の影響が認められたと考えられる指標は、イヌの1年間慢性毒性試験における散発的な流涎でNOEL 2mg/kg 体重/日であった。しかしながら、この影響の程度はごくわずかで、統計学的には検証できていない。また、頻度に差はあるが対照群を含めて認められており、被験物質投与に用いられた媒体のpHが弱酸性であることの影響があるものと思われる。さらには、関連した病変、特に消化管に病変は認められておらず、慢性毒性影響の評価指標としては適切でないと考えられる。このため、慢性毒性試験で毒性影響と認められた指標は血液生化学的検査におけるいくつかのパラメーターの変化で、NOAEL は5mg/kg 体重/日であると判断された。一方、ラットの2世代繁殖試験及び催奇形性試験において、それぞれ肝臓重量の減少及び胎児体重の低下が最低用量群で認められたため、NOAEL が確定できず、いずれもLOAEL は15mg/kg であった。なお、催奇形性はラット、ウサギ共に認められなかった。

【微生物学的影響について】

ツラスロマイシンの微生物学的影響について利用可能な知見は、*in vitro* のMIC₅₀ のみであった。

Bacteroides、*Bifidobacterium*、*Clostridium*、*Eubacterium*、*Fusobacterium*、*Peptostreptococcus* 等の偏性嫌気性菌、*Enterococcus*、*E. coli*、*Lactobacillus*、*Proteus* の通性嫌気性菌、それぞれ 10 菌株を用いて MIC₅₀ が求められており、最も低い MIC₅₀ が報告されたのは *Bifidobacterium* で、MIC₅₀ は 1μg/mL であった。結腸内容物に 220g、細菌が暴露される分画に 90%(吸収率から推定)、安全係数に 1、ヒト体重に 60kg を適用し、単純に微生物学的影響を試算すると、

$$\text{ADI (mg/kg 体重/日)} = \frac{0.001 \text{ (mg/mL)} \times 220 \text{ (g)}}{0.9 \times 1 \times 60 \text{ (kg)}} = 0.004 \text{ mg/kg 体重/日}$$

となる。

しかしながら、ツラスロマイシンについては、同時に次のような *in vitro* における糞便等への結合、糞便結合状態における抗菌活性の低下、pH の変化による抗菌活性の低下について、それぞれ試験が計画・実施されている。また、これら影響が *in vivo* においても認められる可能性についてブタにおける試験結果を用いて考察されている。

- ① 肉培地をペプシン、パンクレアチン処理した溶液では 20μg/mL までのツラスロマイシンは *Bifidobacterium*、*Fusobacterium* の増殖を妨げなかった。^{(32),(33)}
- ② 糞便とツラスロマイシンを混合した場合、可溶分画のツラスロマイシン量は 20℃で 50%未満に低下した。37℃では 30%未満に低下した。^{(34),(35)}
- ③ 糞便とツラスロマイシンを混合した場合、混合しないものと比較して CPG は 2-16 倍の高値を示した。⁽³⁶⁾
- ④ pH が 7.0 から 6.5 に低下すると、抗菌活性が 1/4 程度に低下した。⁽³⁷⁾
- ⑤ ブタにおいて、*in vitro* の MIC が 1.56μg/mL のサルモネラが、少なくとも数十 μg/g を超えるツラスロマイシンを含むと考えられる糞便中で影響を受けなかった。^{(9),(38)}

これらのように、少なくとも *in vitro* の試験において、食物や糞便等との共存によりツラスロマイシンの抗菌活性が低下すること、その理由の一つと考えられる糞便とツラスロマイシンの結合が複数の試験で確認され、さらに pH の変化によっても抗菌活性が低下することが確認されている。生体内の条件下では、食物や糞便との結合による遊離体の減少が考えられ、さらにマクロライド、特にツラスロマイシンは構造上生体内の pH で抗菌力が低下することから、結合しなかった遊離体についても抗菌力の減弱が推定され、*in vitro* の MIC 測定試験で認められたものよりも抗菌活性が著しく低下する可能性が高いと考えられる。さらに、ブタの試験において、*in vitro* で求められた MIC より数十倍程度高い濃度のツラスロマイシンが消化管中に存在していても、サルモネラを指標とした微生物学的影響は認められず、*in vitro* で認められた諸条件による抗菌活性低下の現象は、*in vivo* においても認められることが示唆されている。

微生物学的影響について VICH ガイドライン 36 では、対象物質に抗菌活性が認められるか、その物質が結腸内に入るか、結腸内に入る場合微生物学的活性が残っているか、を検討することとし、これらが認められない場合はこれ以上の評価を行う必要はないとしている。ツラスロマイシンの場合、*in vitro* の糞便との共存培養や豚の腸管において抗菌活性が低下することが確認されているが、提出されたデータからは結腸内における抗菌活性消失の確認はできないと考えられ、微生物学的影響そのものを無視することはできないとされた。

抗菌活性の低下に関する知見を定量的に評価することはできないものの、ヒト腸管内では *in vitro* の条件と比較して、控えめに見ても 1/10 程度に抗菌活性が低下するものと考えられる。抗菌活性の低下を考慮した微生物学的 ADI の試算値は 0.04mg/kg 体重/日程度である。

【一日摂取許容量(ADI)の設定について】

ツラスロマイシンについては、遺伝毒性発がん性を示さないと考えられることから、ADI を設定することが可能である。

毒性学的影響について最も低い用量で被験物質投与に関連した毒性影響が認められたと考えられる指標は、慢性毒性についての NOAEL 5 mg/kg 体重/日であった。この知見から ADI を設定する場合、種差 10、個体差 10 の安全係数 100 を考慮し、0.05 mg/kg 体重/日となる。一方、ラットの 2 世代繁殖試験及び催奇形性試験において、それぞれ肝臓重量及び胎児体重に影響が認められたことから、いずれの試験でも LOAEL 15mg/kg 体重/日が得られている。これらの知見から ADI を設定する場合は、種差 10、個体差 10 の安全係数 100 に加え、さらに追加の安全係数 10 を考慮し、0.015mg/kg 体重/日と設定される。最も長期の慢性毒性試験で NOAEL が得られているが、これとは質的に異なる生殖発生毒性試験で毒性影響が認められ、こちらがより感度の高い指標となることから、毒性学的影響から導かれる ADI は 0.015mg/kg 体重/日を採用するのが適当と判断された。

一方、微生物学的影響については、現時点で利用可能なデータからは、定量的な評価は困難であるが、毒性学的影響から導かれる ADI と比較して十分安全域にあると考えられた。

【食品健康影響評価について】

以上より、ツラスロマイシンの食品健康影響評価については、ADI として次の値を採用することが適当と考えられる。

ツラスロマイシン 0.015 mg/kg 体重/日

本評価書中で使用した略号については次にならった

ADI	一日許容摂取量
ALT	アラニンアミノトランスフェラーゼ
AP	アルカリフォスファターゼ
AST	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
AUC	血中薬物濃度－時間曲線下面積
BUN	血液尿素窒素
cAMP	サイクリック AMP
CHL	チャイニーズハムスター肺由来細胞株
CHO	チャイニーズハムスター卵巣由来細胞株
C _{max}	最高血(漿)中濃度
CPK	クレアチンフォスフォキナーゼ
AST	グルタミン酸オキサロ酢酸トランスアミナーゼ
ALT	グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ
Hb	ヘモグロビン(血色素)
Ht	ヘマトクリット
LOAEL	最小毒性量
LOEL	最小作用量
MCH	平均赤血球血色素量
MCHC	平均赤血球血色素濃度
MCV	平均赤血球容積
MIB	最小殺菌濃度
MIC	最小発育阻止濃度
MLA	マウスリンフォーマ試験
NOAEL	無毒性量
NOEL	無作用量
T _{1/2}	消失半減期
TBIL	総ビリルビン
Tcho	総コレステロール
TDI	耐容一日摂取量
TG	トリグリセリド
T _{max}	最高血(漿)中濃度到達時間

<出典>

1. Draxxin™ (tulathromycin) injectable solution for cattle and swine: CMC technical section
(unpublished) : ファイザー社 社内資料
2. Plasma and lung pharmacokinetics of a single 2.5 mg/kg dose of subcutaneously administered CP-472,295(e)
[Study # 1530N-60-00-359] (unpublished) : ファイザー社 社内資料
3. The bioavailability of CP-472,295(e) via subcutaneous administration in ruminant calves
[Study # 1530N-60-00-363] (unpublished) : ファイザー社 社内資料
4. The bioavailability of CP-472,295(e) via subcutaneous administration in pre-ruminant calves
[Study # 1530N-60-00-362] (unpublished) : ファイザー社 社内資料
5. Analysis of total [¹⁴C] residues in bile, blood, intestinal samples, mesenteric lymph nodes, intestinal contents and excreta and metabolic profiling of selected excreta from calves medicated with a single subcutaneous dose of [¹⁴C] CP-472,295(e) at 2.5 mg/kg body weight (B.W.)
[Study # 1535N-60-99-296] (unpublished) : ファイザー社 社内資料
6. Plasma and lung pharmacokinetics of a single 2.5 mg/kg dose of CP-472,295(e) intramuscularly administered to pigs
[Study # 1520N-03-00-189] (unpublished) : ファイザー社 社内資料
7. The bioavailability of CP-472,295(e) after intramuscular administration in pigs
[Study # 1520N-03-00-188] (unpublished) : ファイザー社 社内資料
8. Excretion and pharmacokinetics of CP-472,295(e) in swine urine/feces and plasma/lung, respectively, following an oral gavage or intramuscular dose at 2.5 mg/kg body weight
[Study # 1521E-60-01-194] (unpublished) : ファイザー社 社内資料
9. Analysis of total [¹⁴C] residues in bile, blood, intestinal samples, mesenteric lymph nodes, intestinal contents and excreta and chromatographic profiling of metabolites in excreta from pigs medicated with a single intramuscular dose of [¹⁴C] CP-472,295(e) at 2.5 mg/kg B.W.
[Study # 1525N-60-00-177] (unpublished) : ファイザー社 社内資料
10. Radiotracer residue depletion study in edible tissues and injection site of cattle treated subcutaneously with [¹⁴C]-CP-472,295(e)
[Study # 1535N-60-99-294] (unpublished) : ファイザー社 社内資料
11. Radiotracer total residue study in edible tissues of swine treated intramuscularly with [¹⁴C]CP-472,295(e)
[Study # 1525N-60-99-175] (unpublished) : ファイザー社 社内資料
12. The metabolic profile of ¹⁴C- CP-472,295(e) in cattle and swine bile, urine, feces, and edible tissues and edible tissues
[Study # 1576N-60-00-209] (unpublished) : ファイザー社 社内資料
13. CP-472,295; Single dose oral and intravenous toxicity studies in rats
[Study # 97-1507-03] (unpublished) : ファイザー社 社内資料
14. CP-472,295; Single dose oral and intravenous toxicity study in beagle dogs
[Study # 97-1507-04] (unpublished) : ファイザー社 社内資料
15. CP-472,295; One month oral toxicity study in Sprague-Dawley rats
[Study # 98-1507-09] (unpublished) : ファイザー社 社内資料
16. CP-472,295(e); 3 month oral toxicity study in Sprague-Dawley rats
[Study # 99-1507-15] (unpublished) : ファイザー社 社内資料
17. CP-472,295; 1 month oral toxicity study in beagle dogs
[Study # 98-1507-08] (unpublished) : ファイザー社 社内資料

18. CP-472,295(e); 3 month oral toxicity study in beagle dogs
[Study # 99-1507-14] (unpublished) : ファイザー社 社内資料
19. CP-472,295(e); 1 year oral toxicity study in beagle dogs
[Study # 00-1507-29] (unpublished) : ファイザー社 社内資料
20. CP-472,295; An oral (gavage) two-generation reproductive toxicity study of CP-472,295(e) in rats
[Study # 99-1507-16] (unpublished) : ファイザー社 社内資料
21. CP-472,295; A study of the effects of CP-472,295(e) on embryo/fetal development in rats
[Study # 00-1507-30] (unpublished) : ファイザー社 社内資料
22. CP-472,295; A study of the effects of CP-472,295(e) on embryo/fetal development in rabbits
[Study # 99-1507-17] (unpublished) : ファイザー社 社内資料
23. Genetic toxicology report CP-472,295; Microbial reverse mutation assays
[Study # 97-1507-06] (unpublished) : ファイザー社 社内資料
24. Genetic toxicology report CP-472,295; *In vitro* cytogenetic assays
[Study # 98-1507-10] (unpublished) : ファイザー社 社内資料
25. Genetic toxicology report CP-472,295(e); Mammalian mutation assays
[Study # 00-1507-31] (unpublished) : ファイザー社 社内資料
26. CP-472,295; L5178Y TK⁺ mouse lymphoma forward mutation assay with a confirmatory assay with CP-472,295(e)
[Study # 01-1507-32] (unpublished) : ファイザー社 社内資料
27. Genetic toxicology report CP-472,295; Rat micronucleous assay
[Study # 98-1507-11] (unpublished) : ファイザー社 社内資料
28. A dermal sensitization study in guinea pigs with CP-472,295 – maximization design –
[Study # 00-1507-24] (unpublished) : ファイザー社 社内資料
29. JM Dewdney, et. al. (1991); Risk assessment of antibiotic residues of β -lactams and macrolides in food products with regard to their immuno-allergic potential
Fd Chem. Toxic (29), No.7, 477-483
30. Periti P, et. al.(1993); Adverse effects of macrolides antibacterials
Drug Safety (9), No.5, 346-64
31. Activity of CP-472,295(e) against 100 bacterial strains of human gut origin: determination minimum inhibitory concentration (MIC)
[Study # 1671N-03-00-217] (unpublished) : ファイザー社 社内資料
32. Effect of CP-472,295(e) on *Bifidobacterium* and *Fusobacterium* strains of human gut origin following passage through a simple *in vitro* gut model
[Study # 1671N-03-01-231] (unpublished) : ファイザー社 社内資料
33. Effect of CP-472,295(e) on *Bifidobacterium* and *Fusobacterium* strains of human gut origin following passage through a simple *in vitro* gut model
[Study # 1671N-03-01-240] (unpublished) : ファイザー社 社内資料
34. Adsorption/desorption of ¹⁴C-CP-472,295(e) in soils, cattle and human feces
[Study # 1A72N-60-00-203] (unpublished) : ファイザー社 社内資料
35. Binding of [¹⁴C] CP-472,295(e) to human feces - effect of temperature on the sorption coefficient (K_d)
[Study # 53056/54866] (unpublished) : ファイザー社 社内資料
36. Effect of fecal binding and pH on antibacterial activity of CP-472,295(e): comparative MIC determinations
[Study # 1671N-03-01-226] (unpublished) : ファイザー社 社内資料

37. Effect of pH on the minimum inhibitory concentration (MIC) of CP-472,295(e) against *Fusobacterium* strains of human gut origin
[Study # 1671N-03-01-232] (unpublished) : ファイザー社 社内資料
38. Evaluation of CP-472,295 and CP-524,200 in pigs infected with *Salmonella typhimurium*
[Study # 98-RJY-002] (unpublished) : ファイザー社 社内資料
39. William 2001; 抗微生物薬 グッドマン・ギルマン 薬理書(下) 薬物治療の基礎と臨床 第10版; 廣川書店
40. 梅崎倫也 他(2005); Azithromycinの使用成績調査
日本化学療法学会雑誌 : 2005, 53(5), 313-325
41. 青木宏二 他(2005); 小児を対象としたazithromycinの市販後調査
日本化学療法学会雑誌 : 2005, 53(6), 371-383
42. 青木宏二 他(2005); 成人を対象としたazithromycinの市販後調査
日本化学療法学会雑誌 : 2005, 53(7), 421-430

	旧	新
1	p.3 (3) その他 L1、2 「欧州」	→ 「EU」
2	p.6【ブタにおける代謝物】 L1 (資料53, 40)	→ ⑨、⑪
3	p.15【毒性学的影响のエンドポイントについて】 亜急性あるいは慢性毒性試験において、最も低い用量で被験物質投与の影響が認められたと考えられる指標は、イヌの1年間慢性毒性試験における散発的な流涎であった。……慢性毒性試験で毒性影響と認められた指標は血液生化学的検査におけるいくつかのパラメーターの変化で、NOAELは5mg/kg体重/日であった。	亜急性あるいは慢性毒性試験において、最も低い用量で被験物質投与の影響が認められたと考えられる指標は、イヌの1年間慢性毒性試験における散発的な流涎でNOEL 2mg/kg体重/日であった。……このため、慢性毒性試験で毒性影響と認められた指標は血液生化学的検査におけるいくつかのパラメーターの変化で、NOAELは5mg/kg体重/日であると判断された。
4	p.17【一日摂取許容量(ADI)の設定について】 毒性学的影响について最も低い用量で被験物質投与に関連した毒性影響が認められたと考えられる指標は、慢性毒性についてのNOAEL 5 mg/kg体重/日であった。この知見からADIを設定する場合、種差10、個体差10の安全係数100を考慮し、0.05 mg/kg体重/日となる。一方、ラットの2世代繁殖試験及び催奇形性試験において、それぞれ肝臓重量及び胎児体重に影響が認められたことから、いずれの試験でもLOAEL 15mg/kg体重/日が得られている。これらの知見からADIを設定する場合は、種差10、個体差10の安全係数100に加え、さらに追加の係数10を考慮し、0.015mg/kg体重/日と設定される。最も長期の慢性毒性試験でNOAELが得られているが、これとは質的に異なる生殖発生毒性試験で毒性影響が認められNOAELが得られていない。生殖発生毒性試験のLOAEL 15mg/kg体重/日に定法に従って追加の安全係数10を加味し1000を適用した場合、こちらがより感度の高い指標となることから、毒性学的影响から導かれるADIは0.015mg/kg体重/日を採用するのが適当と判断された。	毒性学的影响について最も低い用量で被験物質投与に関連した毒性影響が認められたと考えられる指標は、慢性毒性についてのNOAEL 5 mg/kg体重/日であった。この知見からADIを設定する場合、種差10、個体差10の安全係数100を考慮し、0.05 mg/kg体重/日となる。一方、ラットの2世代繁殖試験及び催奇形性試験において、それぞれ肝臓重量及び胎児体重に影響が認められたことから、いずれの試験でもLOAEL 15mg/kg体重/日が得られている。これらの知見からADIを設定する場合は、種差10、個体差10の安全係数100に加え、さらに追加の安全係数10を考慮し、0.015mg/kg体重/日と設定される。最も長期の慢性毒性試験でNOAELが得られているが、これとは質的に異なる生殖発生毒性試験で毒性影響が認められNOAELが得られていない。生殖発生毒性試験のLOAEL 15mg/kg体重/日に定法に従って追加の安全係数10を加味し1000を適用した場合、こちらがより感度の高い指標となることから、毒性学的影响から導かれるADIは0.015mg/kg体重/日を採用するのが適当と判断された。

ツラスロマイシンの残留基準設定に係る食品健康影響評価に関する審議結果（案）に関する御意見・情報の募集結果について

1. 実施期間 平成17年12月22日～平成18年1月18日
2. 提出方法 インターネット、ファックス、郵送
3. 提出状況 1通（1通に複数意見の記載あり）
4. 主な御意見の概要及びそれに対する動物用専門調査会の回答

	御意見・情報の概要	専門調査会の回答
1	○発がん性試験を実施していない場合の評価要件について ツラスロマイシンは発がん性試験が実施されていません。しかし、遺伝毒性試験の結果とマクロライド系抗生物質のひとつであるエリスロマイシンに発がん性が認められないとの試験結果から、発がん性試験を欠いていても ADI の設定は可能と判断されています。 このように何らかの試験結果を欠いている際に、申請者へデータを要求するのか、もしくは申請者から提出された他のデータや関連薬剤の情報から ADI を設定するのかということについて、現在は明確な判断基準が示されていません。提出されたデータが評価要件を満足するものかについてその都度議論する方法では、評価の一貫性を維持できない可能性があります。 以上のことから、発がん性試験を欠いている場合に ADI を設定できると判断する条件について、明確にしてください。	○ツラスロマイシンについては遺伝毒性が疑われないこと、同系統の複数の薬剤が古くからヒトにおいて使用され、発がんや不可逆的な毒性影響が認められていないこと、同系統の薬剤において発がん性が認められないこと、また本剤の亜急性毒性において発がん性に結び付くような所見が認められないこと等、毒性の種類と程度を総合的に考慮して、評価が可能であると判断しています。類似の条件が十分満たされている場合には、今後同様の評価が可能と考えています。
2	○微生物学的 ADI の算出について ツラスロマイシンの微生物学的影響について、最も感受性の高い Bifidobacterium の MIC₅₀ から JECFA の算出式を用いて 0.004 mg/kg 体重/日の ADI が求められていますが、今回はこれに、糞便成分への結合等による抗菌活性の低下(1/10 程度)を考慮して、最終的に微生物学的 ADI を 0.04mg /kg 体重/日程度であるとしています。しかし、JECFA の算出式はこの式で完結したものであり、得られた ADI について係数を適用することの前例はありません。ヒト腸管内における抗菌活性低下の影響を考慮する場合には、JECFA の ADI 算出式におけるバイオアベイラビリティの数値に当てはめて算出すべきであると考えます。 今回のツラスロマイシンのように、腸管内での糞便成分との結合等による抗菌活性低下に関する知見を ADI に反映させた事例はみられず、また EMEA の評価においても採用されていません。この事例が、今後同様な知見が得られた場合の前例となることから、数値の設定根拠、判断基準について明確にしてください。	○ツラスロマイシンについては、糞便成分への結合や pH の変化によって <i>in vivo</i> においても抗菌活性が低下することを示唆する信頼に足る科学的データが提出されており、これらを考慮することが必要かつ適当であると考えています。その程度については、評価書にも記載しましたように、得られたデータを安全側にみて 10 を採用しています。
3	○VICH のガイドラインについて 微生物学的影響に関する記述において VICH ガイドライン 36 が引用されていますが、食品安全委員会ではこれまで微生物学的 ADI について JECFA の算出式を採用してきました。今後、食品安全委員会が VICH ガイドラインに沿って評価を実施する意向か、考え方をお聞かせください。	○ VICH のガイドラインは日本、米国、EU の 3 極で合意されているところですので、これに基づいて実施された試験については評価の対象とすべきものと考えています。なお、実際の評価については、提出された試験の内容に基づいて検討していくことになります。