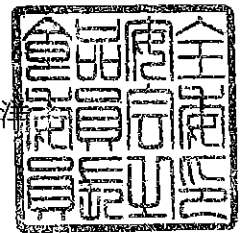




府食第728号
平成27年9月15日

農林水産大臣
林 芳正 殿

食品安全委員会
委員長 佐藤 洋



食品健康影響評価の結果の通知について

平成27年3月10日付け26消安第6024号をもって貴省から当委員会に意見を求められたツラスロマイシンを有効成分とする牛の注射剤（ドラクシンC）の承認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は別添のとおりです。

記

ツラスロマイシンを有効成分とする牛の注射剤（ドラクシンC）が適切に使用される限りにおいては、食品を通じてヒトの健康に影響を与える可能性は無視できると考えられる。

なお、本製剤の使用に当たっては、ツラスロマイシンを有効成分とする牛の注射剤（ドラクシンC）の承認に係る薬剤耐性菌に関する食品健康影響評価において、リスクの程度は低度であると評価されていることに留意する必要がある。

動物用医薬品評価書

ツラスロマイシンを有効成分とする牛の注射剤
(ドラクシン C)

2015年9月

食品安全委員会

目次

	頁
○ 審議の経緯	2
○ 食品安全委員会委員名簿	2
○ 食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会専門委員名簿	2
○ 要 約	3
I. 評価対象動物用医薬品の概要	4
1. 主剤	4
2. 効能・効果	4
3. 用法・用量	4
4. 添加剤等	4
5. 開発の経緯	4
II. 安全性に係る知見の概要	4
1. ヒトに対する安全性	4
2. 残留試験	5
(1) 残留試験 (牛①)	5
(2) 残留試験 (牛②)	6
3. 牛に対する安全性	7
(1) 安全性試験	7
(2) 投与部位忍容性試験	7
(3) 子牛における安全性試験	8
(4) 臨床試験 ①	8
(5) 臨床試験 ②	8
III. 食品健康影響評価	9
・別紙：検査値等略称	10
・参照	11
<別添>・動物用医薬品評価書 ツラスロマイシン(第3版)	

〈審議の経緯〉

- 2015年 3月 11日 農林水産大臣から製造販売の承認に係る食品健康影響評価について要請（26 消安第 6024 号）、関係書類の接受
- 2015年 3月 17日 第 553 回食品安全委員会（要請事項説明）
- 2015年 5月 27日 第 102 回肥料・飼料等専門調査会
- 2015年 8月 4日 第 572 回食品安全委員会（報告）
- 2015年 8月 5日 から 9月 3 日まで 国民からの意見・情報の募集
- 2015年 9月 9日 肥料・飼料等専門調査会座長から食品安全委員会委員長へ報告
- 2015年 9月 15日 第 577 回食品安全委員会（報告）
（同日付け農林水産大臣に通知）

〈食品安全委員会委員名簿〉

- | (2015年6月30日まで) | (2015年7月1日から) |
|----------------|---------------|
| 熊谷 進 (委員長*) | 佐藤 洋 (委員長) |
| 佐藤 洋 (委員長代理*) | 山添 康 (委員長代理) |
| 山添 康 (委員長代理*) | 熊谷 進 |
| 三森 国敏 (委員長代理*) | 吉田 緑 |
| 石井 克枝 | 石井 克枝 |
| 上安平 洌子 | 堀口 逸子 |
| 村田 容常 | 村田 容常 |

* : 2012年7月2日から

〈食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会専門委員名簿〉

- (2013年10月1日から)
- 津田 修治 (座長*)
- 今井 俊夫 (座長代理*)
- 荒川 宜親 戸塚 恭一
- 池 康嘉 中山 裕之
- 石原 加奈子 細川 正清
- 今田 千秋 宮島 敦子
- 桑形 麻樹子 宮本 亨
- 小林 健一 山田 雅巳
- 下位 香代子 山中 典子
- 高橋 和彦 吉田 敏則

* : 2013年10月10日から

〈第 102 回肥料・飼料等専門調査会専門参考人名簿〉

唐木 英明

要 約

ツラスロマイシンを有効成分とする牛の注射剤（ドラクシン C）の製造販売の承認に係る食品健康影響評価について、動物用医薬品製造販売承認申請書等を用いて実施した。

本製剤の主剤であるツラスロマイシンについては、既に日本において 0.015 mg/kg 体重/日の ADI が設定されている。

本製剤に含まれている添加剤については、その使用状況、既存の毒性評価及び本製剤の用法・用量を考慮すると、本製剤の含有成分として摂取した場合のヒトへの健康影響は無視できると考えられる。

牛の残留試験結果から、ツラスロマイシンは、肝臓、腎臓等で投与 46 日後においても検出されたが、時間の経過に伴い減少することが確認された。

また、牛に対する安全性試験及び臨床試験では、常用量の投与において、可逆的な投与部位反応がみられただけであった。

以上のことから、本製剤が適切に使用される限りにおいては、食品を通じてヒトの健康に影響を与える可能性は無視できると考えられる。

なお、本製剤の使用に当たっては、ツラスロマイシンを有効成分とする牛の注射剤（ドラクシン C）の承認に係る薬剤耐性菌に関する食品健康影響評価において、リスクの程度は低度であると評価されていることに留意する必要がある。

I. 評価対象動物用医薬品の概要

1. 主剤

主剤はツラスロマイシンである。本製剤 1 mL 中にツラスロマイシンが 100.0 mg(力価)含まれている。(参照 1)

2. 効能・効果

有効菌種は、マンヘミア・ヘモリチカ、パスツレラ・ムルトシダ、ヒストフィルス・ソムニ、マイコプラズマ・ボビス及びウレアプラズマ・ディバーサムである。

適応症は、牛（生後 13 か月を超える雌の乳牛(食用に供するために搾乳されなくなったものを除く。)を除く。)の細菌性肺炎である。(参照 1)

3. 用法・用量

体重 1 kg 当たりツラスロマイシンとして 2.5 mg(力価)を単回皮下注射する。(参照 1)

4. 添加剤等

本製剤には、緩衝剤、安定剤、pH 調整剤及び溶剤が使用されている¹。(参照 1)

5. 開発の経緯

ツラスロマイシンは、マクロライド系抗生物質であるエリスロマイシンを前駆物質とした半合成のマクロライド系抗生物質である。ツラスロマイシンは、牛及び豚の細菌性呼吸器疾患の原因菌であるグラム陰性菌及びマイコプラズマに対して抗菌活性を有することが確認されたことから、牛及び豚の細菌性呼吸器疾患の治療及び予防を目的とする動物用医薬品として開発が進められた。

EU 及び米国において、ツラスロマイシンを有効成分とする動物用医薬品が、牛及び豚の細菌性呼吸器疾患の治療薬として承認されて以降、EU 及び米国を含め世界 60 か国で承認されている。日本においては、豚の細菌性肺炎を適応症として注射剤が承認されている。(参照 2)

今回、日本において本製剤の製造販売の承認申請に伴い、農林水産省から食品健康影響評価が要請された。

II. 安全性に係る知見の概要

1. ヒトに対する安全性

本製剤の主剤であるツラスロマイシンは、ヒト用医薬品としては国内外で使用されていない。

EMA (2002 年) 及び FDA (2005 年) において、ADI はそれぞれ 0.011 及び 0.015 mg/kg 体重/日と設定されている。EMA では、2015 年に ADI を 0.05 mg/kg 体重/日に変更している。(参照 3、4、5)

¹ 本製剤の添加剤については、「食品安全委員会の公開について」(平成 15 年 7 月 1 日内閣府食品安全委員会決定)に基づき、「企業の知的財産等が開示され、特定の者に不当な利益若しくは不利益をもたらすおそれがある」ことから、本評価書には具体的な物質名を記載していない。

日本においては、ADIは0.015 mg/kg 体重/日と設定されている。(参照 6)

本製剤に使用されている添加剤のうち、緩衝剤及び pH 調整剤はいずれも食品添加物として使用されており、JECFA においてもいずれも ADI を制限しない物質と評価されている。安定剤は医薬品添加物として使用されている。溶剤は、JECFA において ADI が設定されているもの及び医薬品の溶解等に用いるものである。

以上のことから、本製剤に含まれている添加剤は、その使用状況、既存の毒性評価及び本製剤の用法・用量を考慮すると、ヒトへの健康影響は無視できると考えられる。

2. 残留試験

(1) 残留試験 (牛①)

牛 (ホルスタイン種雄及び交雑種雌、4~8 か月齢、体重 151~197 kg、雌雄各 2 頭/時点) にツラスロマイシンを単回皮下投与 (2.5 mg/kg 体重) し、投与 4、10、18、26、36 及び 46 日後の組織中ツラスロマイシン濃度を測定した。組織試料は、酸処理を用い、LC-MS/MS を用いて分析し、生成される共通フラグメント (残留マーカー) の測定値から、換算式を用いて各組織中のツラスロマイシン相当濃度を算出した。

結果を表 1 に示した。投与 4 日後では、最も高い残留濃度は肝臓 (6.40 µg/g) で認められ、次いで腎臓 (5.15 µg/g) 及び投与部位周辺筋肉 (1.35 µg/g) であった。投与部位に関する組織を除く各組織中残留濃度は、時間の経過に伴い減少した。(参照 2、7、8)

表 1 牛のツラスロマイシン単回皮下投与後の組織中残留濃度^a (µg/g)

試料 (n=4)	投与後時間 (日)					
	4	10	18	26	36	46
肝臓	6.40	6.23	4.45	2.19	1.50	1.21
腎臓	5.15	3.97	1.43	<0.03~ 1.02	0.33	0.21
小腸	0.91	0.59	0.31	<0.03~ 0.19	0.06	<0.03~ 0.05
筋肉	0.56	0.27	0.08	<0.03~ 0.05	<0.03	<0.03
脂肪	0.41	0.21	0.11	<0.03~ 0.15	<0.03~ 0.05	<0.03~ 0.03
投与部位筋肉 ^b	1.25	0.50	1.67	<0.03~ 0.17	<0.03~ 0.03	<0.03~ 0.16
投与部位周辺筋肉 ^c	1.35	0.72	0.93	<0.03~ 0.31	<0.03~ 0.05	<0.03~ 0.23
投与部位 500 g 相当 ^d	1.20	0.63	1.04	<0.03~ 0.21	<0.03~ 0.05	0.08

^a : 組織中濃度の平均値を示した。定量限界未満の個体が含まれる試料については、平均値を算出せず範囲で示した。

定量限界 : 0.03 µg/g

b : 注射針刺入位置を中心に 100~104 g 採取

c : 投与部位筋肉採取後の周辺部筋肉を 400~404 g 採取

d : 注射針刺入位置を中心に採取した筋肉 500 g に相当する試料。(投与部位筋肉と投与部位周辺筋肉をそれぞれ均一化した後に 1:4 の比率で混合して調整)

(2) 残留試験 (牛②)

牛 (ホルスタイン種去勢雄及び交雑種雌、4~8 か月齢、体重 151~194 kg、去勢雄及び雌各 2 頭/時点) にツラスロマイシンを単回皮下投与 (2.5 mg/kg 体重) し、投与 4、10、18、26、36 及び 46 日後の組織中ツラスロマイシン濃度を測定した。組織試料は、酸処理を用い、LC-MS/MS を用いて分析し、生成される共通フラグメント (残留マーカー) の測定値から、換算式を用いて各組織中のツラスロマイシン相当濃度を算出した。

結果を表 2 に示した。投与 4 日後では、最も高い残留濃度は肝臓 (7.78 µg/g) で認められ、次いで腎臓 (7.12 µg/g) 及び投与部位周辺筋肉 (1.21 µg/g) であった。各組織中残留濃度は、時間の経過に伴い減少した。(参照 2、8、9)

表 2 牛のツラスロマイシン単回皮下投与後の組織中残留濃度^a (µg/g)

試料 (n=4)	投与後時間 (日)					
	4	10	18	26	36	46
肝臓	7.78	6.37	4.10	2.53	1.65	1.01
腎臓	7.12	3.40	1.93	0.78	0.51	0.34
小腸	1.13	0.73	0.52	0.19	0.15	0.08
筋肉	0.90	0.32	0.12	0.04	<0.03	<0.03
脂肪	0.30	0.24	0.21	0.08	<0.03~0.18	<0.03
投与部位筋肉 ^b	1.01	0.73	0.37	0.34	<0.03~0.04	<0.03~ 0.48
投与部位周辺筋肉 ^c	1.21	0.50	0.28	0.22	<0.03~0.04	<0.03~ 0.09
投与部位 500 g 相当 ^d	0.91	0.53	0.29	0.21	<0.03~ 0.03	<0.03~ 0.14

a : 組織中濃度の平均値を示した。定量限界未満の個体が含まれる試料については、平均値を算出せず範囲で示した。

定量限界 : 0.03 µg/g

b : 注射針刺入位置を中心に 100~104 g 採取

c : 投与部位筋肉採取後の周辺部筋肉を 400~404 g 採取

d : 注射針刺入位置を中心に採取した筋肉 500 g に相当する試料。(投与部位筋肉と投与部位周辺筋肉をそれぞれ均一化した後に 1:4 の比率で混合して調整)

3. 牛に対する安全性

(1) 安全性試験

牛（肉用交雑種、約 8 か月齢、体重 194～274 kg、去勢雄及び雌各 3 頭/群）に本製剤を 1 週間に 1 回、計 3 回皮下投与（0、2.5(常用量)、7.5(3 倍量)及び 12.5 mg/kg 体重(5 倍量)/回）し、安全性試験が実施された。投与部位は左頸部（試験第 0 日）、右頸部（試験第 7 日）、左肩部（試験第 14 日）とした。

投与 21 日後までを観察期間として一般症状の観察、摂餌量測定、血液学的検査及び血液生化学的検査を行い、試験 21 日又は 22 日に剖検及び病理組織学的検査を行った。

一般症状として、被験物質の全投与群において、投与直後に一過性の頭部を振る動作がみられたが、投与 4 時間後以降はみられなかった。また、投与部位の腫脹が対照群を含めた全投与群にみられた。

摂餌量について、7.5 及び 12.5 mg/kg 体重/回投与群において、一過性の減少がみられた。

被験物質に関連した病理組織学的所見は皮下投与部位に限られ、うっ血、浮腫、出血、血栓（12.5 mg/kg 体重/回投与群の 1 例）、亜急性炎症、肉芽腫性炎症及び線維増生であった。2.5 mg/kg 体重投与群においてみられた所見の頻度と重症度は、7.5 及び 12.5 mg/kg 体重投与群と比較し低かった。これらの組織学的所見は刺激性のある物質が皮下投与された際にみられる典型的な反応であり、可逆的なものと考えられた。

以上の結果より、投与部位に可逆的影響がみられたが、本製剤の常用量の臨床使用における牛の安全性に問題はないと考えられた。（参照 2、10）

(2) 投与部位忍容性試験

牛（肉用交雑種、去勢雄、約 7 か月齢、体重 220～248 kg、8 頭/時点）に本製剤 10 mL を頸部片側に、また生理食塩水 10 mL を反対側の頸部に皮下投与し、投与部位の忍容性試験が実施された。群構成は、試験 0、7 及び 21 日に投与する群とした。

投与後、一般症状及び投与部位反応を観察し、試験 35 日に投与部位の剖検及び病理組織学的検査を行った。

一般症状として、全投与群に異常所見はみられなかった。

投与部位反応として、全投与群において、投与 1～2 日後にはほぼ全頭でみられたが、最長期間観察した試験 0 日投与群では、投与後 31 日には全頭で反応が消失していた。生理食塩水の投与部位には、異常はみられなかった。

剖検では、各投与群において投与部位の皮下組織に赤色から黄褐色又は黄色の変色部位がみられたが、試験 0、7 及び 21 日投与群においてそれぞれ 1、2 及び 8 頭にみられた。

投与部位の組織学的所見は、浮腫、出血、血栓、亜急性炎症及び線維増生であった。試験 0 及び 7 日投与群の所見は、試験 21 日投与群と比較して頻度及び重症度が低かった。これらの組織学的所見は、刺激性のある物質が皮下投与された際にみられる典型的な反応であり、可逆性変化と考えられた。

以上の結果より、投与 35 日後には 8 頭中 1 頭のみに変化がみられただけであり、本製剤の皮下投与による投与部位反応は可逆的で一過性のものと考えられた。（参

照 2、11)

(3) 子牛における安全性試験

牛（肉用交雑種、雌雄、13～27 日齢、体重 38.5～59.5 kg、雌雄各 4 頭/群）に本製剤を単回皮下投与（0：生理食塩水、2.5(常用量)及び 7.5 mg/kg 体重(3 倍量)）し、安全性試験が実施された。

一般症状の観察、血液生化学的及び血液学的検査を行い、投与 7 日後に剖検、病理組織学的検査を行った。

剖検及び病理組織学的検査において、被検物質投与群の半数で投与部位に浮腫及び化膿性炎症並びに一部の症例では真皮の損傷が認められたが、これらの病変は軽微又は軽度から中等度で回復過程にあり、可逆的なものと考えられた。

その他に、本製剤の投与に関連すると考えられる異常はみられなかった。

以上の結果より、本製剤の常用量投与群において投与部位に可逆的反応がみられたが、本製剤の常用量の臨床使用における牛の安全性において問題となる影響はないと考えられた。(参照 2、12)

(4) 臨床試験 ①

国内の 7 施設において、細菌性肺炎を自然発症した牛（乳用種、肉用種及び交雑種、2 週～4 か月齢、体重 40～168 kg、92 頭）を用いた臨床試験が実施された。本製剤投与群には頸部皮下に本製剤を単回投与（2.5 mg/kg 体重）した。

投与 14 日後まで、一般状態等について観察を行った。

投与 1 日後に 26 頭の投与部位に腫脹がみられたが、投与 14 日後には全て消失していた。投与部位における一過性の腫脹以外は、本製剤の投与に起因する有害事象はみられなかった。

以上のことから、本製剤の臨床適用において牛に対する安全性に問題はないと考えられた。(参照 2、13)

(5) 臨床試験 ②

本試験は、獣医師が肺炎症状を呈する牛に第一次選択薬を投与し、その治療効果が十分に認められなかった症例に本製剤を投与して実施された。

国内の 2 施設において、第一次選択薬を投与したが、その治療効果が十分に認められなかった牛（乳用種、肉用種及び交雑種、2 週～6 か月齢、体重 51～110 kg、25 頭）に本製剤を頸部皮下に単回投与（2.5 mg/kg 体重）した。

投与 14 日後まで一般状態等について観察を行った。

投与 1 日後に 6 頭の投与部位に一過性の腫脹がみられた。試験期間中一度でも投与部位に腫脹がみられた牛は 7 頭であったが、投与 14 日後には全て消失していた。投与部位における一過性の腫脹以外は、本製剤の投与に起因する有害事象はみられなかった。

以上のことから、本製剤の臨床適用において牛に対する安全性に問題はないと考えられた。(参照 2、14)

Ⅲ. 食品健康影響評価

本製剤の主剤であるツラスロマイシンについては、既に日本において 0.015 mg/kg 体重/日の ADI が設定されている。

本製剤に含まれている添加剤については、その使用状況、既存の毒性評価及び本製剤の用法・用量を考慮すると、本製剤の含有成分として摂取した場合のヒトへの健康影響は無視できると考えられる。

牛の残留試験結果から、ツラスロマイシンは、肝臓、腎臓等で投与 46 日後においても検出されたが、時間の経過に伴い減少することが確認された。

また、牛に対する安全性試験及び臨床試験では、常用量の投与において、可逆的な投与部位反応がみられたただけであった。

以上のことから、本製剤が適切に使用される限りにおいては、食品を通じてヒトの健康に影響を与える可能性は無視できると考えられる。

なお、本製剤の使用に当たっては、ツラスロマイシンを有効成分とする牛の注射剤（ドラクシン C）の承認に係る薬剤耐性菌に関する食品健康影響評価において、リスクの程度は低度であると評価されていることに留意する必要がある。

<別紙：検査値等略称>

略称	名称
ADI	一日摂取許容量
EM(E)A	欧州医薬品審査庁
FDA	米国食品医薬品庁
LC-MS/MS	液体クロマトグラフィータンデム質量分析
JECFA	FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議

<参照>

1. ズエティス・ジャパン株式会社：ドラクシン C 動物用医薬品製造販売承認申請書（未公表）
2. ズエティス・ジャパン株式会社：ドラクシン C 動物用医薬品製造販売承認申請添付資料の概要（未公表）
3. FDA：Code of Federal Regulation Title 21. Chapter I, SubChapter E, Part 556, Subpart B, Sec. 556.745 Tulathromycin.
4. EMEA：Committee for Veterinary Medical Products, TULATHROMYCIN, Summary Report (1), 2002
5. EMA：European public MRL assessment report (EPMAR), Tulathromycin (modification of the microbiological ADI and MRLs in bovine and porcine species), 2015
6. 食品安全委員会：「食品健康影響評価の結果の通知について」（平成 18 年 3 月 9 日付府食第 182 号）
7. ズエティス・ジャパン株式会社：ドラクシン C 動物用医薬品製造販売承認申請添付資料 15-1：PC-5145 の牛における残留試験（未公表）
8. ズエティス・ジャパン株式会社：ドラクシン C 動物用医薬品製造販売承認申請添付資料 15-3：PC-5145 の牛における残留試験～牛の臓器・組織中ツラスロマイシン分析法の確立試験～（未公表）
9. ズエティス・ジャパン株式会社：ドラクシン C 動物用医薬品製造販売承認申請添付資料 15-2：PC-5145 の牛における組織中残留試験（未公表）
10. ズエティス・ジャパン株式会社：ドラクシン C 動物用医薬品製造販売承認申請添付資料 9-1：牛における CP-472,295(e) 10%注射液の安全性試験（未公表）
11. ズエティス・ジャパン株式会社：ドラクシン C 動物用医薬品製造販売承認申請添付資料 9-2：牛における CP-472,295(e) 10%注射液皮下投与時の注射部位忍容性（未公表）
12. ズエティス・ジャパン株式会社：ドラクシン C 動物用医薬品製造販売承認申請添付資料 9-3：反芻子牛における CP-472,295(e) 10%注射液の安全性試験（未公表）
13. ズエティス・ジャパン株式会社：ドラクシン C 動物用医薬品製造販売承認申請添付資料 14-1：国内野外条件下における牛の細菌性肺炎に対する PC-5145 投与の有効性および安全性（未公表）
14. ズエティス・ジャパン株式会社：ドラクシン C 動物用医薬品製造販売承認申請添付資料 14-2：細菌性肺炎罹患牛の第一次選択薬無効症例に対する PC-5145 投与の有効性（未公表）

別添

動物用医薬品評価書

ツラスロマイシン
(第3版)

2015年8月

食品安全委員会

目次

	頁
○審議の経緯	3
○食品安全委員会委員名簿	4
○食品安全委員会動物用医薬品専門調査会専門委員名簿	4
○食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会専門委員名簿	5
○要約	6
I. 評価対象動物用医薬品の概要	7
1. 用途	7
2. 有効成分の一般名	7
3. 化学名	7
4. 分子式	7
5. 分子量	7
6. 構造式	8
7. 開発の経緯及び使用状況等	8
II. 安全性に係る知見の概要	8
1. 薬物動態試験	8
(1) 薬物動態試験 (牛・吸収)	8
(2) 薬物動態試験 (牛・分布)	9
(3) 薬物動態試験 (牛・代謝物)	10
(4) 薬物動態試験 (牛・排泄)	10
(5) 薬物動態試験 (豚・吸収)	10
(6) 薬物動態試験 (豚・分布)	12
(7) 薬物動態試験 (豚・代謝物)	13
(8) 薬物動態試験 (豚・排泄)	13
2. 残留試験	14
(1) 残留試験 (牛) ①	14
(2) 残留試験 (牛) ②	15
(3) 残留試験 (豚) ①	16
(4) 残留試験 (豚) ②	17
3. 急性毒性試験	18
4. 亜急性毒性試験	18
(1) 1 か月間亜急性毒性試験 (ラット)	18
(2) 3 か月間亜急性毒性試験 (ラット)	19
(3) 1 か月間亜急性毒性試験 (イヌ)	19
(4) 3 か月間亜急性毒性試験 (イヌ)	20
5. 慢性毒性試験	20
(1) 1 年間慢性毒性試験 (イヌ)	20

6. 発がん性試験	21
7. 生殖発生毒性試験	21
(1) 二世世代繁殖毒性試験 (ラット)	21
(2) 発生毒性試験 (ラット)	22
(3) 発生毒性試験 (ウサギ)	22
8. 遺伝毒性試験	23
9. 微生物学的影響に関する試験	24
(1) ヒトの腸内細菌に対する最小発育阻止濃度	24
(2) <i>in vitro</i> gut model における感受性細菌の最小発育阻止濃度 (MIC)	25
(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	25
(4) 糞便と pH の細菌の増殖に対する影響	26
(5) 豚における <i>in vivo</i> の知見	26
10. その他の特殊試験 (皮膚感作試験)	27
11. ヒトにおける知見 (ヒトにおけるマクロライド系抗生物質の影響)	28
Ⅲ. 食品健康影響評価	28
1. 薬物動態及び残留試験について	28
2. 毒性学的影響について	28
(1) 繁殖毒性及び発生毒性について	28
(2) 遺伝毒性/発がん性について	29
(3) 毒性学的 ADI について	29
3. 微生物学的影響について	29
(1) 微生物学的 ADI について	29
4. ADI の設定について	31
5. 食品健康影響評価について	31
・別紙 1: 検査値等略称	32
・参照	33

〈審議の経緯〉

第1版関係（インポートトレランス申請関係）

2005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
2005年	8月	4日	第106回食品安全委員会（要請事項説明）
2005年	9月	26日	第35回動物用医薬品専門調査会
2005年	10月	19日	第38回動物用医薬品専門調査会
2005年	11月	9日	第40回動物用医薬品専門調査会
2005年	12月	16日	第42回動物用医薬品専門調査会
2006年	12月	22日	第125回食品安全委員会（報告）
2006年	12月	22日	より2006年1月18日 国民からの意見情報の募集
2006年	2月	24日	第47回動物用医薬品専門調査会
2006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
2006年	3月	9日	第134回食品安全委員会（報告） 同日付で食品安全委員会委員長から厚生労働大臣に通知
2006年	11月	30日	残留基準設定に関する告示を公布

第2版関係（承認申請関係）

2009年	11月	20日	厚生労働大臣より残留基準設定に係る食品健康影響評価について要請（厚生労働省発食安1120第2号） 関係書類の接受
2009年	11月	26日	第311回食品安全委員会（要請事項説明）
2010年	1月	21日	第35回肥料・飼料等専門調査会
2010年	8月	26日	第345回食品安全委員会（報告）
2010年	10月	22日	肥料・飼料等専門調査会座長から食品安全委員会委員長へ報告
2010年	10月	28日	第353回食品安全委員会（報告） 同日付で食品安全委員会委員長から厚生労働大臣に通知

第3版関係（承認申請関係）

2015年	3月	10日	厚生労働大臣より残留基準設定に係る食品健康影響評価について要請（厚生労働省発食安0310第1号） 関係書類の接受
2015年	3月	17日	第553回食品安全委員会（要請事項説明）
2015年	5月	27日	第102回肥料・飼料等専門調査会
2015年	7月	30日	肥料・飼料等専門調査会座長から食品安全委員会委員長へ報告
2015年	8月	4日	第572回食品安全委員会（報告） （同日付で厚生労働大臣に通知）

〈食品安全委員会委員名簿〉

(2006年6月30日まで)

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

(2006年12月20日まで)

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

(2009年6月30日まで)

見上 彪 (委員長)
小泉 直子 (委員長代理*)
長尾 拓
野村 一正
畑江 敬子
廣瀬 雅雄**
本間 清一

* : 2007年2月1日から

** : 2007年4月1日から

(2011年1月6日まで)

小泉 直子 (委員長)
見上 彪 (委員長代理*)
長尾 拓
野村 一正
畑江 敬子
廣瀬 雅雄
村田 容常

* : 2009年7月9日から

(2012年6月30日まで)

小泉 直子 (委員長)
熊谷 進 (委員長代理*)
長尾 拓
野村 一正
畑江 敬子
廣瀬 雅雄
村田 容常

* : 2011年1月13日から

(2015年6月30日まで)

熊谷 進 (委員長*)
佐藤 洋 (委員長代理*)
山添 康 (委員長代理*)
三森 国敏 (委員長代理*)
石井 克枝
上安平 冽子
村田 容常

* : 2012年7月2日から

(2015年7月1日から)

佐藤 洋 (委員長)
山添 康 (委員長代理)
熊谷 進
吉田 緑
石井 克枝
堀口 逸子
村田 容常

〈食品安全委員会動物用医薬品専門調査会専門委員名簿〉

(2005年9月30日まで)

三森 国敏 (座長)
井上 松久 (座長代理)
青木 宙
明石 博臣
江馬 眞
大野 泰雄
菅野 純
嶋田 甚五郎
鈴木 勝士
津田 洋幸

寺本 昭二
長尾 美奈子
中村 政幸
林 眞
藤田 正一

(2007年2月11日まで)

三森 国敏 (座長)
井上 松久 (座長代理)
青木 宙
明石 博臣
江馬 眞
大野 泰雄
小川 久美子
渋谷 淳
嶋田 甚五郎
鈴木 勝士

津田 修治
寺本 昭二
長尾 美奈子
中村 政幸
林 眞
藤田 正一
吉田 緑

(2007年9月30日まで)

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

(2008年3月31日まで)

三森 国敏	(座長)		
井上 松久	(座長代理)		
青木 宙		寺本 昭二	
今井 俊夫		頭金 正博	
今田 由美子		戸塚 恭一	
江馬 眞		中村 政幸	
小川 久美子		林 眞	
下位 香代子		山崎 浩史	
津田 修治		吉田 緑	
寺岡 宏樹			

(2009年9月30日まで)

三森 国敏	(座長)		
井上 松久	(座長代理)		
青木 宙		寺本 昭二	
今井 俊夫		頭金 正博	
今田 由美子		戸塚 恭一	
江馬 眞		中村 政幸	
小川 久美子		能美 健彦	
下位 香代子		山崎 浩史	
津田 修治		吉田 緑	
寺岡 宏樹			

〈食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会専門委員名簿〉

(2011年9月30日まで)

唐木 英明	(座長)		
酒井 健夫	(座長代理)		
青木 宙	高橋 和彦		
秋葉 征夫	舘田 一博		
池 康嘉	津田 修治		
今井 俊夫	戸塚 恭一		
江馬 眞	細川 正清		
桑形 麻樹子	宮島 敦子		
下位 香代子	元井 葎子		
高木 篤也	吉田 敏則		

(2013年9月30日まで)

唐木 英明	(座長)		
津田 修治	(座長代理)		
青木 宙	高橋 和彦		
秋葉 征夫	舘田 一博		
池 康嘉	戸塚 恭一		
今井 俊夫	細川 正清		
江馬 眞	宮島 敦子		
桑形 麻樹子	山中 典子		
下位 香代子	吉田 敏則		

(2013年10月1日から)

津田 修治	(座長*)		
今井 俊夫	(座長代理*)		
荒川 宜親	戸塚 恭一		
池 康嘉	中山 裕之		
石原 加奈子	細川 正清		
今田 千秋	宮島 敦子		
桑形 麻樹子	宮本 亨		
小林 健一	山田 雅巳		
下位 香代子	山中 典子		
高橋 和彦	吉田 敏則		

* : 2013年10月10日から

〈第102回肥料・飼料等専門調査会専門参考人名簿〉

唐木 英明

要 約

マクロライド系抗生物質である「ツラスロマイシン」について、各種試験成績等を用いて食品健康影響評価を実施した。なお、今回、薬物動態（牛）及び残留（牛）の試験成績が新たに提出された。

評価に用いた試験成績は、薬物動態試験（牛及び豚）、残留試験（牛及び豚）、急性毒性試験（ラット及びイヌ）、亜急性毒性試験（ラット及びイヌ）、慢性毒性試験（イヌ）、生殖発生毒性試験（ラット及びウサギ）、遺伝毒性試験、微生物学的影響に関する試験等の成績である。

ツラスロマイシンについては、遺伝毒性に関する各種の *in vitro* 及び *in vivo* 試験においていずれも陰性であること、並びに発がん性試験は行われていないが、亜急性及び慢性毒性のいずれの試験においても前腫瘍性病変又は増殖性病変は認められていないことから、ツラスロマイシンは、遺伝毒性及び発がん性を示さないと考えられ、ADI の設定は可能であると判断された。

各種動物における毒性試験の結果、毒性学的 ADI は、ラットの二世世代繁殖毒性試験及び発生毒性試験における肝臓重量の減少及び胎児体重の低下に基づく LOAEL 15 mg(力価)/kg 体重/日に、安全係数として種差 10、個体差 10、追加の安全係数 10 を考慮した 0.015 mg/kg 体重/日と考えられた。

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、抗菌活性の低下に関する定量的な評価は困難であるものの、*in vitro* の MIC₅₀ の最も低い値から算出された微生物学的 ADI の試算値は、ヒトの腸管内における抗菌活性の低下を考慮すると 0.04 mg/kg 体重/日程度と考えられた。

毒性学的 ADI の 0.015 mg/kg 体重/日は、微生物学的 ADI の試算値の 0.04 mg/kg 体重/日と比較してより低い値であり、微生物学的影響についても十分な安全域を確保していると考えられることから、ADI 設定に当たっては、毒性学的 ADI の 0.015 mg/kg 体重/日を採用することが適当であると考えられた。

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 0.015 mg/kg 体重/日を設定した。

I. 評価対象動物用医薬品の概要

1. 用途

抗菌剤

2. 有効成分の一般名

和名：ツラスロマイシン

英名：Tulathromycin

3. 化学名

ツラスロマイシン A

CAS (217500-96-4)

和名：(2R,3S,4R,5R,8R,10R,11R,12S,13S,14R)-13-[(2,6-ジデオキシ-3-C-メチル-3-O-メチル-4-C-[(プロピルアミノ)メチル]- α -L-ribo-ヘキソピラノシル)オキシ]-2-エチル-3,4,10-トリヒドロキシ-3,5,8,10,12,14-ヘキサメチル-11-[[3,4,6-トリデオキシ-3-(ジメチルアミノ)- β -D-xylo-ヘキソピラノシル]オキシ]-1-オキサ-6-アザシクロペンタデカン-15-オン

英名：(2R,3S,4R,5R,8R,10R,11R,12S,13S,14R)-13-[(2,6-Dideoxy-3-C-methyl-3-O-methyl-4-C-[(propylamino)methyl]- α -L-ribo-hexopyranosyl]oxy]-2-ethyl-3,4,10-trihydroxy-3,5,8,10,12,14-hexamethyl-11-[[3,4,6-trideoxy-3-(dimethylamino)- β -D-xylo-hexopyranosyl]oxy]-1-oxa-6-azacyclo-Pentadecan-15-one

ツラスロマイシン B

CAS (280755-12-6)

和名：(2R,3R,6R,8R,9R,10S,11S,12R)-11-[[2,6-ジデオキシ-3-C-メチル-3-O-メチル-4-C-[(プロピルアミノ)メチル]- α -L-ribo-ヘキソピラノシル)オキシ]-2-[(1R,2R)-1,2-ジヒドロキシ-1-メチルブチル]-8-ヒドロキシ-3,6,8,10,12-ペンタメチル-9-[[3,4,6-トリデオキシ-3-(ジメチルアミノ)- β -D-xylo-ヘキソピラノシル]オキシ]-1-オキサ-4-アザシクロトリデカン-13-オン

英名：(2R,3R,6R,8R,9R,10S,11S,12R)-11-[[2,6-Dideoxy-3-C-methyl-3-O-methyl-4-C-[(propylamino)methyl]- α -L-ribo-hexopyranosyl]oxy]-2-[(1R,2R)-1,2-dihydroxy-1-methylbutyl]-8-hydroxy-3,6,8,10,12-pentamethyl-9-[[3,4,6-trideoxy-3-(dimethylamino)- β -D-xylo-hexopyranosyl]oxy]-1-oxa-4-azacyclotridecan-13-one

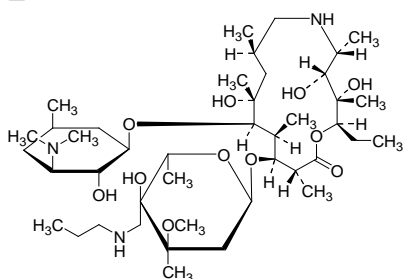
4. 分子式

C₄₁H₇₉N₃O₁₂

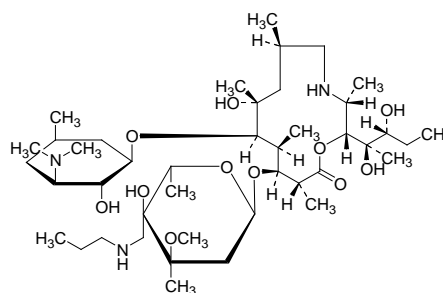
5. 分子量

806.08

6. 構造式



ツラスロマイシン A
217500-96-4



ツラスロマイシン B
280755-12-6

7. 開発の経緯及び使用状況等

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（ツラスロマイシン A 及びツラスロマイシン B）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タンパク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。

牛及び豚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、牛及び豚の細菌性呼吸器疾患治療及び予防を目的とする動物用医薬品として開発された。

ツラスロマイシンは、ヒト用医薬品としては、国内外とも使用されていない。国内では、ツラスロマイシンを有効成分とする動物用医薬品として、豚の細菌性肺炎を適応症とした注射剤が承認されており、休薬期間は 28 日間である。EU 及び米国等でも牛及び豚に使用されている。EU 及び米国における用法・用量は、ツラスロマイシンとして 2.5 mg(力価)/kg 体重の用量を牛には皮下、豚には筋肉内への単回投与である。休薬期間は EU では牛 : 49 日、豚 : 33 日、米国では牛 : 18 日、豚 : 5 日である。(参照 1)

ツラスロマイシンは EMEA (2002 年) 及び FDA (2005 年) において既に評価されており、それぞれ 0.011 及び 0.015 mg/kg 体重/日の一日摂取許容量 (ADI) が設定されている。EMA では、2015 年に ADI を 0.05 mg/kg 体重/日に変更している。(参照 44) 日本においても、2006 年に食品安全委員会において 0.015 mg/kg 体重/日の ADI が設定されている。(参照 45)

今回、ツラスロマイシンを有効成分とする牛の注射剤が製造販売承認申請されたことに伴い、厚生労働省から残留基準の設定について、食品健康影響評価が要請された。

II. 安全性に係る知見の概要

1. 薬物動態試験

(1) 薬物動態試験 (牛・吸収)

牛 (約 6~8 ヶ月齢、雌及び去勢雄計 42 頭¹⁾) にツラスロマイシンを単回皮下投与 (2.5 mg(力価)/kg 体重) し、薬物動態について検討した。血漿については、最長投与 360 時

¹ 無投与対照群 6 頭を含む。

間後まで経時的に採取した。また、最も高濃度の残留が想定されている肺について、投与 12、24、72、144、240 及び 360 時間後に各 6 頭から組織を採取した。

血漿中の T_{max} は 0.5~1.8 時間、 C_{max} は 0.36~1.3 $\mu\text{g/mL}$ 、 $T_{1/2}$ 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 $\mu\text{g/g}$ 、 $T_{1/2}$ は 184 時間であった。(参照 2)

牛 (約 5~6 ヶ月齢、雌及び去勢雄計 18 頭²⁾) にツラスロマイシンを単回皮下 (2.5 mg(力価)/kg 体重) 及び静脈内投与 (2.5 mg(力価)/kg 体重) し、薬物動態について検討した。血漿については、各投与群で最長投与 144 時間及び 336 時間後まで経時的に採取した。また、最も高濃度の残留が想定されている肺については、各投与群で投与 168 及び 360 時間後に各 4 頭から組織を採取した。

皮下投与時の血漿中 T_{max} は 0.25 時間、 C_{max} は 0.41 $\mu\text{g/mL}$ 、 $T_{1/2}$ は 92 時間であった。静脈内投与時の血漿中 T_{max} は投与直後、 C_{max} ³⁾ は 2.0 $\mu\text{g/mL}$ 、 $T_{1/2}$ は 65 時間であった。一方、肺組織中濃度は投与 168 時間後に皮下投与で 2.4 $\mu\text{g/g}$ 、静脈内投与で 2.2 $\mu\text{g/g}$ 、投与 360 時間後に皮下投与で 1.2 $\mu\text{g/g}$ 、静脈内投与で 0.7 $\mu\text{g/g}$ であった。(参照 3)

牛 (約 4~7 週齢、雌雄計 18 頭⁴⁾) にツラスロマイシンを単回皮下 (2.5 mg(力価)/kg 体重) 及び静脈内投与 (2.5 mg(力価)/kg 体重) し、薬物動態について検討した。血漿については、各投与群で最長投与 168 時間及び 336 時間後まで経時的に採取した。また、最も高濃度の残留が想定されている肺については、各投与群で投与 168 及び 336 時間後に雌雄各 2 頭から組織を採取した。

皮下投与時の血漿中 T_{max} は 0.25 時間、 C_{max} は 0.41 $\mu\text{g/mL}$ 、 $T_{1/2}$ は 87 時間であった。静脈内投与時の血漿中 T_{max} は投与直後、 C_{max} ⁵⁾ は 5.98 $\mu\text{g/mL}$ 、 $T_{1/2}$ は 96 時間であった。一方、肺組織中濃度は投与 168 時間後には皮下投与で 1.7 $\mu\text{g/g}$ 、静脈内投与で 1.5 $\mu\text{g/g}$ 、投与 360 時間後には皮下投与で 0.9 $\mu\text{g/g}$ 、静脈内投与で 0.8 $\mu\text{g/g}$ であった。(参照 4)

(2) 薬物動態試験 (牛・分布)

牛 (約 5~7 ヶ月齢、雌及び去勢雄計 26 頭⁶⁾) に ¹⁴C 標識ツラスロマイシンを単回皮下投与 (2.5 mg/kg 体重) し、投与 36 及び 48 日後までの筋肉、脂肪、肝臓、腎臓及び注射部位について組織を採取し、総放射活性、未変化体及び残留マーカー⁷⁾を測定した。

組織中濃度は注射部位を除き調査したいずれの時点においても肝臓で最も高く、次いで腎臓、脂肪、筋肉の順であったが経時的に減少し、投与 36 日後の時点で筋肉、投与 48 日後の時点で脂肪が検出限界未満となった。投与 48 日後の肝臓及び腎臓における残留量は 1.2 及び 0.25 $\mu\text{g eq/g}$ であった。投与 0.5 から 48 日後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臓が 0.40、腎臓が 0.62、投与部位が 0.77、筋肉が 0.71、残留マーカーと総残留物の比率は肝臓が 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 (投与 0.5 日後) の時点では最も高

²⁾ 無投与対照群 2 頭を含む。

³⁾ C_0

⁴⁾ 無投与対照群 2 頭を含む。

⁵⁾ C_0

⁶⁾ 無投与対照群の雌及び去勢雄各 1 頭を含む。

⁷⁾ 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。

い残留が認められたが、投与 5 日以降は肝臓より低くなり、その後経時的に減少した。
(参照 5)

ツラスロマイシンの牛血漿タンパク結合について検討した。10%リン酸溶液で pH 7.4 に調整した牛の血漿に、¹⁴C 標識ツラスロマイシン (比放射能 : 1422 kBq/mg) を 0.1、0.5 及び 1 µg (力価) /mL となるように加え試料溶液とし、6 時間、37°C で平衡透析後、総放射活性を LSC 法で測定し、*in vitro* でのタンパク結合率を算出した。

結果を表 1 に示した。添加したツラスロマイシン濃度 0.1~1 µg(力価)/mL において、その血漿タンパク結合率は 32~39 % であり、ツラスロマイシン濃度の変動しても結合率に変化はみられなかった。(参照 46、47)

表 1 ツラスロマイシンの *in vitro* での血漿タンパク結合率

ツラスロマイシン濃度 (µg(力価)/mL)	タンパク結合率 (%)
0.1	32 ± 4
0.5	39 ± 1
1	38 ± 2

算術平均値 ± 標準偏差

(3) 薬物動態試験 (牛・代謝物)

薬物動態試験 (牛・分布) で検討された各組織、胆汁、尿及び糞中の代謝物の同定を実施した。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。主要代謝物はツラスロマイシンの脱クラディオ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。(参照 6)

(4) 薬物動態試験 (牛・排泄)

牛 (約 5~7 ヶ月齢、雌及び去勢雄計 10 頭⁸⁾) に ¹⁴C 標識ツラスロマイシンを単回皮下投与 (2.5 mg/kg 体重) し、投与 1~4、14、24、35 及び 47 日⁹⁾ に尿及び糞を採取して、総放射活性を測定した。

排泄物中の総放射活性はいずれも投与 24 時間以内にピークとなった。また、投与 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、投与後 35 日では尿と糞を併せて約 62.8%、投与後 47 日では約 68.7% が排泄された。(参照 7)

(5) 薬物動態試験 (豚・吸収)

豚 (約 2~3 ヶ月齢、雌雄各 21 頭¹⁰⁾) にツラスロマイシンを単回筋肉内投与 (2.5 mg(力価)/kg 体重) し、薬物動態について検討した。血漿については、最長投与 360 時間後まで経時的に採取した。また、最も高濃度の残留が想定されている肺については、投与 12、24、72、144、240 及び 360 時間後に雌雄各 3 頭から組織を採取した。血漿及び肺試料

⁸ 無投与対照群雌及び去勢雄各 1 頭を含む。

⁹ 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

¹⁰ 無投与対照群 3 頭を含む。

は LC-MS/MS により分析した。

血漿中 T_{max} は 0.5 時間¹¹、 C_{max} は 0.58 $\mu\text{g/mL}$ 、 $T_{1/2}$ は 91 時間¹²であった。一方、肺組織中の T_{max} は 24 時間、 C_{max} は 3.47 $\mu\text{g/g}$ 、 $T_{1/2}$ は 142 時間であった。(参照 8)

豚 (約 2~3 ヶ月齢、雌雄各 11 頭¹³) にツラスロマイシンを単回筋肉内 (2.5 mg(力価)/kg 体重) 及び静脈内投与 (2.5 mg(力価)/kg 体重) し、薬物動態について検討した。血漿については、各投与群で最長投与 168 時間後及び 360 時間後まで経時的に採取した。また、最も高濃度の残留が想定されている肺については、各投与群で投与 168 時間後に雌雄各 2 頭、360 時間後に雌雄各 3 頭から組織を採取した。血漿及び肺試料は LC-MS/MS により分析した。

筋肉内投与時の血漿中 T_{max} は 0.25 時間、 C_{max} は 0.616 $\mu\text{g/mL}$ 、 $T_{1/2}$ (試料採取期間が 360 時間の群) は 75.6 時間であった。静脈内投与時の血漿中 T_{max} は投与直後、 C_{max} ¹⁴ は 9.68 $\mu\text{g/mL}$ 、 $T_{1/2}$ (試料採取期間が 360 時間の群) は 67.5 時間であった。一方、肺組織中の濃度は投与 168 時間後に筋肉内投与で 1.38 $\mu\text{g/g}$ 、静脈内投与で 1.44 $\mu\text{g/g}$ 、投与 360 時間後に筋肉内投与で 0.78 $\mu\text{g/g}$ 、静脈内投与で 0.77 $\mu\text{g/g}$ であった。(参照 9)

豚 (雑種、体重 36.0 kg、計 14 頭 : 投与群各 6 頭、対照群 2 頭) にツラスロマイシンを単回強制経口 (2.5 mg/kg 体重) 及び筋肉内投与 (2.5 mg/kg 体重) し、薬物動態について検討した。血漿については、最長投与 168 時間後まで経時的に採取した。また、最も高濃度の残留が想定されている肺については、168 時間後に組織を採取した。

筋肉内投与時の血漿中 T_{max} は 0.917 時間、 C_{max} は 0.711 $\mu\text{g/mL}$ 、 $T_{1/2}$ は 61.5 時間、AUC は 14.0 $\mu\text{g/h/mL}$ であった。経口投与時の各パラメータは暴露量が低く、変動も大きいいため測定できなかつたとされているが、測定した血漿試料中濃度の比較からは経口吸収率は 10 % 以下と推定された。一方、肺組織中濃度は投与 168 時間後に筋肉内投与で 1.58 $\mu\text{g/g}$ であり、経口投与では 3 例 (3/6) から検出され 0.13 $\mu\text{g/g}$ ¹⁵ であった。(参照 10)

豚 (交雑種、体重 36.0 kg、計 6 頭 : 投与群 4 頭、対照群 2 頭) に、ツラスロマイシンを単回強制経口投与 (2.5 mg/kg 体重) し、最長投与 336 時間後までの尿及び糞を採取した。また、投与 336 時間後には最も高濃度の残留が想定されている肺について組織を採取した。

尿中の排泄は投与後 24 時間までの分画が最も高く平均濃度は 0.45 $\mu\text{g/mL}$ であり、糞中の排泄は投与 24~48 時間までの分画が最も高く平均濃度は 68.7 $\mu\text{g/g}$ 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。肺組織中の濃度は投与 336 時間後では 2 例 (2/4) から検出され、0.09 $\mu\text{g/g}$ ¹⁶ であった。(参照 10)

¹¹ 2 つの外れ値 (投与 4 時間後及び投与 12 時間後) を除外して算定

¹² 試料採取期間が最も長い投与群から算定

¹³ 無投与対照群各 1 頭を含む。

¹⁴ C_0

¹⁵ 3 頭の定量下限値以下の値を 0 として計算。

¹⁶ 2 頭の定量下限値以下の値を 0 として計算。

(6) 薬物動態試験 (豚・分布)

豚 (約 2~3 ヶ月齢、雌及び去勢雄計 18 頭¹⁷⁾ に ¹⁴C 標識ツラスロマイシンを単回筋肉内投与 (2.5 mg/kg 体重) し、最長投与 36 日後までの筋肉、皮膚/脂肪、肝臓、腎臓及び注射部位について組織を採取し、総放射活性、未変化体及び残留マーカ-¹⁸⁾を測定した。

組織中濃度は注射部位を除き調査したいずれの時点においても腎臓で最も高く、次いで肝臓、皮膚/脂肪、筋肉の順であったが、いずれの場合も経時的に減少した。皮膚/脂肪及び筋肉については投与 36 日後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 及び 0.210 µg/g 残留していた (表 2)。(参照 11)

表 2 豚のツラスロマイシン単回筋肉内投与後の平均各組織中濃度 n=4 (µg/g±標準偏差)

組織	残留物	投与後時間 (日)			
		4	12	24	36
肝臓	未変化体	2.47±0.32	1.18±0.23	0.583±0.104	0.210±0.064
	残留マーカ-*1	2.54±0.25	1.32±0.24	0.538±0.069	0.192±0.060
	総放射活性*1	2.85±0.42	1.39±0.23	0.565±0.101	0.196±0.056
腎臓	未変化体	6.80±0.65	2.6±0.99	0.84±0.18	0.255±0.078
	残留マーカ-*1	5.34±0.64	2.03±0.70	0.698±0.134	0.220±0.068
	総放射活性*1	6.61±0.55	2.50±0.84	0.793±0.160	0.266±0.077
筋肉	未変化体	0.620±0.054	0.135±0.027	0.0464±0.0120	0.0176±0.0048
	残留マーカ-*1	0.557±0.037	0.115±0.293	0.0436±0.0121	0.0116±0.0044
	総放射活性*1	0.613±0.039	0.124±0.026	0.058±0.006	<LLOQ
注射部位	未変化体	4.86±0.52	2.40±0.74	1.44±0.21	0.814±0.425
	残留マーカ-*1	4.14±0.58	2.14±0.64	1.30±0.18	0.680±0.370
	総放射活性*1	4.73±0.69	2.44±0.61	1.40±0.31	0.76±0.41
皮膚/脂肪	未変化体	0.0991±0.0318	0.0282±0.0168	0.0121±0.0048	0.0206±0.0240
	残留マーカ-*1	0.182±0.041	0.0437±0.0249	0.0125±0.0074	0.0042*2±0.0020
	総放射活性*1	0.478±0.058	0.178±0.041	0.100±0.000*3	<LLOQ

残留マーカ- : 2N HCl による組織の酸消化により生成される共通フラグメント

LLOQ : 定量下限値 (12 cpm)

*1 : 濃度はツラスロマイシン当量

*2 : 検出限界下限値未満の 1 例は除外して平均値を算定

*3 : 定量限界下限値未満の 2 例は除外して平均値を算定

肝臓及び腎臓において残留マーカ-と未変化体の消失は平行する消失曲線を示した。各組織における主要残留物は未変化体であった。未変化体と総残留物の比率は、肝臓

¹⁷⁾ 無投与対照群 2 頭を含む。

¹⁸⁾ 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。

0.96、腎臓 1.02、筋肉 0.96、皮膚/脂肪 0.18、残留マーカールと総残留物の比率は肝臓 0.94、腎臓 0.83、筋肉 0.86、皮膚/脂肪 0.28 であった。

(7) 薬物動態試験 (豚・代謝物)

薬物動態試験 (豚・分布) で検討された各組織、胆汁、尿及び糞中の代謝物を同定した。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、60～95%を占めた。その他の代謝物の割合はいずれも低かった。

皮膚/脂肪では、デソサミン N-オキドと同定された代謝物が、残留放射活性の 19.7%を占めたが、皮膚/脂肪における残留放射量は試験期間の全時点で他のいずれの組織よりはるかに低かった。皮膚/脂肪以外のすべての組織で総放射活性の 6.2%を超える代謝物はなかった。(参照 12)

(8) 薬物動態試験 (豚・排泄)

豚 (約 3 ヶ月齢、雌及び去勢雄、計 18 頭¹⁹⁾) に ¹⁴C 標識ツラスロマイシンを単回筋肉内投与 (2.5 mg/kg 体重) し、投与 1～5 及び 12、23、35 日²⁰⁾の尿及び糞を採取して、総放射活性を測定した。排泄物中の放射活性は尿中で投与 24 時間以内、糞中で投与 3 日以内にピークを示した。また、投与 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、投与 35 日までに尿と糞を併せ約 95.8%以上が排泄された。(参照 13)

各薬物動態試験の結果を表 3～5 にまとめた。

表 3 牛及び豚のツラスロマイシン投与における血漿中薬物動態パラメータ

動物種	投与経路	投与量 (mg(力価)/kg 体重)	T _{max} (h)	C _{max} (µg/mL)	T _{1/2} (h)
牛	皮下	2.5	0.5～1.8	0.36～1.3	58～99
			0.25	0.41	92
	0.25		0.41	87	
	静脈内		投与直後	2.0	65
	投与直後		5.98	96	
豚	経口		測定不可。吸収率は 10%以下と推定		
	筋肉内		0.5	0.58	91
			0.25	0.616	75.6
		0.917	0.711	61.5	
	静脈内	投与直後	9.68	67.5	

表 4 牛及び豚のツラスロマイシン投与における肺組織中濃度 (µg(力価)/g)

¹⁹⁾ 無投与対照群の雌及び去勢雄各 1 頭を含む。

²⁰⁾ 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

動物種	投与経路	投与量 (mg(力価)/kg 体重)	投与後時間 (h)	
			168	360
牛	皮下	2.5	2.4	1.2
			1.7	0.9
	静脈内		2.2	0.7
	1.5		0.8	
豚	経口		0.13*	
	筋肉内		1.58	
			1.38	0.78
	静脈内		1.44	0.77

* : 3/6 例から検出された

表 5 牛及び豚の ^{14}C 標識ツラスロマイシン投与における放射活性排泄率 (%)

動物種	投与経路	投与量 (mg/kg 体重)	試料	投与後時間 (日)		
				5	35	47
牛	皮下	2.5	尿	24.1	62.8	68.7
			糞	23.7		
豚	筋肉内		尿	27.5	95.8	
			糞	43.5		

2. 残留試験

(1) 残留試験 (牛) ①

牛 (ホルスタイン種雄及び交雑種雌、4~8 か月齢、体重 151~197 kg、雌雄各 2 頭/時点) にツラスロマイシンを単回皮下投与 (2.5 mg/kg 体重) し、投与 4、10、18、26、36 及び 46 日後の組織中ツラスロマイシン濃度を測定した。組織試料は、酸処理を用い、LC-MS/MS を用いて分析し、生成される共通フラグメント (残留マーカー) の測定値から、換算式を用いて各組織中のツラスロマイシン相当濃度を算出した。

結果を表 6 に示した。投与 4 日後では、最も高い残留濃度は肝臓 (6.40 $\mu\text{g/g}$) で認められ、次いで腎臓 (5.15 $\mu\text{g/g}$) 及び注射部位周辺筋肉 (1.35 $\mu\text{g/g}$) であった。注射部位に関する組織を除く各組織中残留濃度は、時間の経過に伴い減少した。(参照 46、48、49)

表6 牛のツラスロマイシン単回皮下投与後の組織中残留濃度^a n=4 (μg/g)

試料	投与後時間 (日)					
	4	10	18	26	36	46
肝臓	6.40	6.23	4.45	2.19	1.50	1.21
腎臓	5.15	3.97	1.43	<0.03~ 1.02	0.33	0.21
小腸	0.91	0.59	0.31	<0.03~ 0.19	0.06	<0.03~ 0.05
筋肉	0.56	0.27	0.08	<0.03~ 0.05	<0.03	<0.03
脂肪	0.41	0.21	0.11	<0.03~ 0.15	<0.03~ 0.05	<0.03~ 0.03
注射部位筋肉 ^b	1.25	0.50	1.67	<0.03~ 0.17	<0.03~ 0.03	<0.03~ 0.16
注射部位周辺筋肉 ^c	1.35	0.72	0.93	<0.03~ 0.31	<0.03~ 0.05	<0.03~ 0.23
注射部位 500 g 相当 ^d	1.20	0.63	1.04	<0.03~ 0.21	<0.03~ 0.05	0.08

^a : 組織中濃度の平均値を示した。定量限界未満の個体が含まれる試料については、平均値を算出せず範囲で示した。

定量限界 : 0.03 μg/g

^b : 注射針刺入位置を中心に 100~104 g 採取

^c : 注射部位筋肉採取後の周辺部筋肉を 400~404 g 採取

^d : 注射針刺入位置を中心に採取した筋肉 500 g に相当する試料。注射部位筋肉と注射部位周辺筋肉をそれぞれ均一化した後に 1:4 の比率で混合して調整

(2) 残留試験 (牛) ②

牛 (ホルスタイン種去勢雄及び交雑種雌、4~8 か月齢、体重 151~194 kg、去勢雄及び雌各 2 頭/時点) にツラスロマイシンを単回皮下投与 (2.5 mg/kg 体重) し、投与 4、10、18、26、36 及び 46 日後の組織中ツラスロマイシン濃度を測定した。組織試料は、酸処理を用い、LC-MS/MS を用いて分析し、生成される共通フラグメント (残留マーカー) の測定値から、換算式を用いて各組織中のツラスロマイシン相当濃度を算出した。

結果を表 7 に示した。投与 4 日後では、最も高い残留濃度は肝臓 (7.78 μg/g) で認められ、次いで腎臓 (7.12 μg/g) 及び注射部位周辺筋肉 (1.21 μg/g) であった。各組織中残留濃度は、時間の経過に伴い減少した。(参照 46、49、50)

表7 牛のツラスロマイシン単回皮下投与後の組織中残留濃度^a n=4 (μg/g)

試料	投与後時間（日）					
	4	10	18	26	36	46
肝臓	7.78	6.37	4.10	2.53	1.65	1.01
腎臓	7.12	3.40	1.93	0.78	0.51	0.34
小腸	1.13	0.73	0.52	0.19	0.15	0.08
筋肉	0.90	0.32	0.12	0.04	<0.03	<0.03
脂肪	0.30	0.24	0.21	0.08	<0.03～ 0.18	<0.03
注射部位筋肉 ^b	1.01	0.73	0.37	0.34	<0.03～ 0.04	<0.03～ 0.48
注射部位周辺筋肉 ^c	1.21	0.50	0.28	0.22	<0.03～ 0.04	<0.03～ 0.09
注射部位 500 g 相当 ^d	0.91	0.53	0.29	0.21	<0.03～ 0.03	<0.03～ 0.14

a：組織中濃度の平均値を示した。定量限界未満の個体が含まれる試料については、平均値を算出せず範囲で示した。

定量限界：0.03 µg/g

b：注射針刺入位置を中心に 100～104 g 採取

c：注射部位筋肉採取後の周辺部筋肉を 400～404 g 採取

d：注射針刺入位置を中心に採取した筋肉 500 g に相当する試料。注射部位筋肉と注射部位周辺筋肉をそれぞれ均一化した後に 1:4 の比率で混合して調整

(3) 残留試験 (豚) ①

豚 (LWD 系、3～4 ヶ月齢、去勢雄及び雌各 2 頭/時点/投与群、去勢雄及び雌各 1 頭/対照群) にツラスロマイシンを単回筋肉内投与 (2.5 mg(力価)/kg 体重、対照群：無投与) し、経時的 (投与 2、5、10、15 及び 20 日後) にと殺して、組織中のツラスロマイシンの残留性について検討した。

組織試料は、酸処理を行い、LC-MS/MSを用いて分析し、生成される共通フラグメント (残留マーカー) の測定値から、換算式を用いて各組織中のツラスロマイシン相当濃度を算出した。結果を表8に示した。

表 8 豚のツラスロマイシン単回筋肉内投与後の平均組織中濃度 n=4 (µg/g)

組織	投与後時間 (日)					
	対照 (n=1)	2	5	10	15	20
筋肉	<0.03	1.14	0.70	0.27	0.16	0.09
脂肪	<0.03	0.54	0.37	0.24	0.15	0.07
肝臓	<0.03	2.21	2.39	1.95	1.15	0.91
腎臓	<0.03	8.64	3.78	3.27	2.10	1.31
小腸	<0.03	0.81	0.67	0.55	0.36	0.27
注射部位筋肉*1	<0.03	31.25	13.74	10.40	6.63	5.38
注射部位周辺筋肉*2	<0.03	5.41	1.74	1.35	0.95	0.36
注射部位 500 g 相当*3	<0.03	8.91	4.46	2.76	1.89	1.63

定量限界 : 0.03 µg/g

*1 : 注射針刺入位置を中心に 100~104 g 採取。

*2 : 注射部位筋肉採取後の周辺筋肉を 400~404 g 採取。

*3 : 注射針刺入位置を中心に採取した筋肉 500 g に相当する試料。注射部位筋肉と注射部位周辺筋肉をミンチにし、均一化した後に 1:4 の比率で混合して調製

投与 2 日後では、最も高い残留濃度は注射部位筋肉 (31.25 µg/g) で認められ、次いで注射部位 500 g 相当 (8.91 µg/g)、腎臓 (8.64 µg/g)、注射部位周辺筋肉 (5.41 µg/g) 及び肝臓 (2.21 µg/g) であった。各組織中残留は、時間の経過に伴い減少し、投与 20 日後には全て投与 2 日後の 50 %以下にまで減少した。筋肉、脂肪及び小腸における濃度は、投与 5 日後には 0.7 µg/g 以下であった。(参照 14)

(4) 残留試験 (豚) ②

豚 (3~4 ヶ月齢、去勢雄及び雌各 3 頭/時点/投与群) にツラスロマイシンを単回筋肉内投与 (2.5 mg(力価)/kg 体重、対照群 : 無投与) し、経時的 (投与 5、12、18、25 及び 36 日後) にと殺して、組織中のツラスロマイシンの残留性について検討した。

組織試料は、酸処理を行い、LC-MS/MS を用いて分析し、生成される共通フラグメント (残留マーカー) の測定値から、換算式を用いて各組織中のツラスロマイシン相当濃度を算出した。結果を表 9 に示した。

表 9 豚のツラスロマイシン単回筋肉内投与後の平均組織中濃度 n=6 (µg/g±標準偏差)

組織	投与後時間 (日)					
	対照	5	12	18	25	36
肝 臓	<LLOQ	1.7±0.3	0.96±0.13	0.73±0.17	0.28±0.04	0.15±0.04
注射部位*1	<LLOQ	2.3±0.3	1.5±0.6	1.1±0.3	0.5±0.4	0.6±0.2
腎 臓	<LLOQ	2.9±0.5	1.2±0.2	0.8±0.3	0.31±0.07	0.17±0.06
筋 肉	<LLOQ*2	0.44±0.15	0.095± 0.015	0.07±0.04	0.035± 0.019	0.018± 0.007
皮膚/脂肪	<LLOQ*2	0.23±0.06	0.11±0.05	0.06±0.03	0.02± 0.009	0.015± 0.008

LLOQ：定量下限値（組織分取検体の量と処理した抽出物分取検体の量に依存した。）

*1：筋膜と下層の筋肉を含め約 500 g を採取

*2：一部の試料は実測値で定量可能な低い値を示したが、試料処理の時点でのコンタミネーションの可能性が考えられた。

投与 5 日後では、最も高い残留濃度は腎臓 (2.9 µg/g) で認められ、次いで注射部位 (2.3 µg/g) 及び肝臓 (1.7 µg/g) で認められた。各組織中残留は時間の経過に伴い減少し、投与 5 日後に高濃度に認められた腎臓、注射部位及び肝臓では、投与 36 日後には約 30 %以下にまで減少した。筋肉及び皮膚/脂肪における濃度は、投与 5 日後には 0.5 µg/g 未満であった。注射部位を含む全ての組織において、投与 36 日後には ppb レベルにまで減少した。(参照 15)

3. 急性毒性試験

ラット (SD 系、雌雄各 3 匹/群) を用いた急性毒性試験において、ツラスロマイシン A の経口投与では 2,000 mg(力価)/kg 体重までの単回投与で死亡は認められなかった。ツラスロマイシンの静脈内投与では 10 mg(力価)/kg 体重²¹では単回投与で死亡は認められなかったが、30 mg(力価)/kg 体重では全例が死亡した。(参照 16)

イヌ (ビーグル種、雌雄各 2 匹/群²²) を用いた急性毒性試験において、ツラスロマイシンの経口投与では 1,000 mg(力価)/kg 体重²³まで、静脈内投与では 30 mg(力価)/kg 体重²³までの単回投与で死亡は認められなかった。(参照 17)

4. 亜急性毒性試験

(1) 1 か月間亜急性毒性試験 (ラット)

ラット (SD 系、雌雄各 10 匹/群) を用いたツラスロマイシンの強制経口投与 (10、50 及び 200 mg(力価)/kg 体重/日²⁴) による 1 ヶ月間亜急性毒性試験において認められた毒性所見は以下のとおりであった。対照群にはクエン酸緩衝脱イオン水を投与した。試験期間中に投与に起因する死亡例は認められなかった。

一般状態、体重及び摂餌量では、投与に起因する影響は認められなかった。

²¹ ツラスロマイシン A としての用量

²² 30 mg/kg 体重の静脈投与については 1 頭

²³ ツラスロマイシン A としての用量

²⁴ ツラスロマイシン A としての用量

血液学的検査では、200 mg(力価)/kg 体重/日²⁴群で単球及び好酸球の増加が認められた。

血液生化学的検査では、200 mg(力価)/kg 体重/日²⁴群の雄で AST 及び ALT の高値が認められた。

臓器重量では、200 mg(力価)/kg 体重/日²⁴群の雄で肝臓比重量の低値が認められた。

尿検査、眼検査、剖検及び病理組織学的検査では投与に起因する影響は認められなかった。

以上より、本試験における NOAEL は 50 mg(力価)/kg 体重/日と考えられた。(参照 18)

(2) 3 か月間亜急性毒性試験 (ラット)

ラット (SD 系、雌雄各 20 匹/群) を用いたツラスロマイシンの強制経口投与 (0、5、15 及び 100 mg(力価)/kg 体重/日) による 3 ヶ月間亜急性毒性試験において認められた毒性所見は以下のとおりであった。対照群にはクエン酸緩衝脱イオン水を投与した。

試験期間中に死亡例は認められなかった。

一般状態、体重、摂餌量及び血液学的検査では、投与に起因する影響は認められなかった。

血液生化学的検査では、15 mg(力価)/kg 体重/日群の雄で AST 及び ALT の高値、100 mg(力価)/kg 体重/日群の雌雄で AST 及び ALT、雌でコハク酸脱水素酵素 (SDH) の高値、雄で総タンパク質、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投与に起因する影響は認められなかった。100 mg(力価)/kg 体重/日群について 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。

以上より、本試験における NOAEL は 5 mg(力価)/kg 体重/日と考えられた。(参照 19)

また、本試験の衛星群²⁵を用いて、肺組織中のツラスロマイシン濃度を測定した。肺組織中のツラスロマイシン濃度は高投与量でより高値が認められた。経時的には投与開始 30 日後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。

(3) 1 か月間亜急性毒性試験 (イヌ)

イヌ (ビーグル種、雌雄各 4 匹/群) を用いたツラスロマイシンの強制経口投与 (0、5、15 及び 50 mg(力価)/kg 体重/日²⁶) による 1 ヶ月間亜急性毒性試験において認められた毒性所見は以下のとおりであった。対照群にはクエン酸緩衝脱イオン水を投与した。

試験期間中に死亡例は認められなかった。

一般状態では、対照群を含め軟便が認められたが、50 mg(力価)/kg 体重/日²⁶群の 3 例で頻度が高かった。

体重、摂餌量、心拍数、呼吸数、体温、心電図、眼検査、尿検査及び血液学的検査では、投与に起因する影響は認められなかった。

²⁵ 予備的に本試験群と並行して同様に被験物質投与された群

²⁶ ツラスロマイシン A としての用量

血液生化学的検査では、50 mg(力価)/kg 体重/日²⁶群の雄で ALT 及び AST の上昇、雌で AST の上昇が認められ、雄では総タンパク質及びグロブリンの軽度の低値が認められた。

臓器重量では、50 mg(力価)/kg 体重/日²⁶群の雌で腎臓の絶対及び比重量に高値が認められた。

血圧では、50 mg(力価)/kg 体重/日²⁶群の雄で低下がみられた。

剖検及び病理組織学的検査では投与に起因する影響は認められなかった。

以上より、本試験における NOAEL は 15 mg(力価)/kg 体重/日²⁶と考えられた。(参照 20)

(4) 3 か月間亜急性毒性試験 (イヌ)

イヌ (ビーグル種、雌雄各 4 匹/群) を用いたツラスロマイシンの強制経口投与 (0、5.7、17.0 及び 56.7 mg(力価)/kg 体重/日) による 3 ヶ月間亜急性毒性試験において認められた毒性所見は以下のとおりであった。なお、対照群にはクエン酸緩衝脱イオン水を投与した。

試験期間中、56.7 mg(力価)/kg 体重/日群の 1 例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。

一般状態では、対照群を含め軟便が認められたが、56.7 mg(力価)/kg 体重/日群の雌雄で頻度が高かった。

体重、摂餌量、心拍数、呼吸数、体温、血圧及び心電図に投与に起因する影響は認められなかった。

眼検査では 17.0 mg(力価)/kg 体重/日群の雌雄各 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が、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。

血液学的検査及び尿検査では、投与に起因する影響は認められなかった。

血液生化学的検査では、17.0 mg(力価)/kg 体重/日群の雌 1 例で AST、56.7 mg(力価)/kg 体重/日群の雌雄で ALT 及び AST の上昇が認められた。

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する影響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。

以上より、本試験における NOAEL は 5.7 mg(力価)/kg 体重/日と考えられた。(参照 21)

5. 慢性毒性試験

(1) 1 年間慢性毒性試験 (イヌ)

イヌ (ビーグル種、雌雄各 4 匹/群) を用いたツラスロマイシンの強制経口投与 (0、2、5 及び 25 mg(力価)/kg 体重/日) による 1 年間慢性毒性試験において認められた毒性所見は以下のとおりであった。なお、対照群にはクエン酸緩衝脱イオン水を投与した。

試験期間中に、死亡例は認められなかった。

一般状態では、投与群で散発的な流涎が認められたが、5 mg(力価)/kg 体重/日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、摂餌量、心拍数、呼吸数、体温、血圧、心電図、眼検査、血液学的検査及び尿検査に、投与に起因する影響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 及び 357 日後に行われており、25 mg(力価)/kg 体重/日群の雌で ALT 及び AST の上昇が認められた。雄においては AST が投与 85 日後以降に上昇傾向を示し、投与 176 日後で有意であった。

臓器重量では、25 mg(力価)/kg 体重/日群で精巣の絶対及び比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、投与に起因する影響は認められなかった。

以上より、5 mg(力価)/kg 体重/日以上投与群で認められた散発的な流涎をもとに、本試験における NOEL は 2 mg/kg 体重/日と考えられた。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、本試験で毒性影響と認められる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の変化で、NOAEL は 5 mg(力価)/kg 体重/日であると判断された。(参照 22)

なお、25 mg(力価)/kg 体重/日群の初回投与及び 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、2 mg(力価)/kg 体重/日群では初回及び 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 及び 321 µg(力価)/g で高投与量群でより高かったが、先の 3 か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。

6. 発がん性試験

発がん性試験については実施されていない。

7. 生殖発生毒性試験

(1) 二世世代繁殖毒性試験 (ラット)

ラット (SD 系) を用いたツラスロマイシンの強制経口投与 (0、15、50 及び 100 mg(力価)/kg 体重/日) による二世世代繁殖毒性試験を実施した。被験物質の投与及び交配は次の要領で実施した。

F₀世代では、雌雄各 30 匹/群に交配開始前に最低 70 日間投与し、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 日間投与し、さらに交配、妊娠及びほ育期間を通じ、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した。

一般状態では、投与に起因する影響は認められなかった。体重増加抑制が、F₀及びF₁世代の100 mg(力価)/kg 体重/日群の雄で散発的に認められ、雌ではF₁世代の50 mg(力価)/kg 体重/日群で妊娠0~4日、100 mg(力価)/kg 体重/日群で妊娠0~20日に認められた。摂餌量は、F₀及びF₁世代の100 mg(力価)/kg 体重/日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世代の投与9及び18週で実施されたが、総タンパク質の低値が50 mg(力価)/kg 体重/日以上投与群の雄の投与9及び18週、ASTの高値が50 mg(力価)/kg 体重/日以上投与群の雄の投与18週並びにBUNの低値が50 mg(力価)/kg 体重/日以上投与群の雄の投与9週、雌の投与18週及び全投与群の雄の投与18週で認められた。肝臓の絶対及び比重量の減少がF₀世代の全投与群の雌雄にみられ、F₁世代においても肝臓の比重量が全投与群の雄と50 mg(力価)/kg 体重/日以上投与群の雌で減少した。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(受胎率、交尾率、同居から交尾までの日数、妊娠率、分娩率及び発情周期)には、F₀及びF₁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、分娩後生存率及び性成熟までの日数に投与の影響は認められなかった。離乳時のF₁及びF₂児の剖検及び臓器重量に被験物質の投与に起因す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ついてのLOAELは15 mg(力価)/kg 体重/日、生殖発生毒性に対するNOAELは本試験における最高用量である100 mg(力価)/kg 体重/日と考えられた。(参照23)

(2) 発生毒性試験(ラット)

ラット(SD系、22匹/群)を用いたツラスロマイシンの強制経口投与(0、15、100及び200 mg(力価)/kg 体重/日)による発生毒性試験において認められた毒性所見は以下のとおりであった。被験物質の投与は、妊娠6日から17日まで行い、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、一般状態でも投与に起因する影響は認められなかった。100 mg(力価)/kg 体重/日以上投与群で、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、100 mg(力価)/kg 体重/日以上投与群で、総吸収胚率、着床後胚死亡率の有意な増加及び一腹当たり生存胎児率の有意な低下が認められた。15 mg(力価)/kg 体重/日以上投与群で雌雄の胎児体重の有意な低下がみられた。黄体数、着床前胚死亡数、着床数及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、内臓及び骨格観察においても奇形や変異の発現率に投与に起因する影響は認められなかった。

以上より、本試験の母動物に対するNOAELは15 mg(力価)/kg 体重/日、胎児に対するLOAELは15 mg(力価)/kg 体重/日と考えられた。また、催奇形性は認められなかった。(参照24)

(3) 発生毒性試験(ウサギ)

ウサギ（ニュージーランドホワイト種、22 匹/群）を用いたツラスロマイシンの強制経口投与（0、5、15 及び 50 mg(力価)/kg 体重/日）による発生毒性試験において認められた毒性所見は以下のとおりであった。被験物質の投与は、妊娠 7 日から 20 日まで行い、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。

一般状態では、投与に起因する影響は認められなかった。50 mg(力価)/kg 体重/日群で、体重減少はみられなかったが、妊娠 7～10 日の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、内臓及び骨格観察においても奇形や変異の発現率に投与の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(力価)/kg 体重/日、胎児に対する NOAEL は本試験における最高用量である 50 mg(力価)/kg 体重/日と考えられた。また、催奇形性は認められなかった。（参照 25）

8. 遺伝毒性試験

ツラスロマイシンの遺伝毒性に関する各種の *in vitro* 及び *in vivo* 試験の結果を表 10 及び 11 にまとめた。（参照 26～30）

表 10 *in vitro* 試験

試験	対象	用量	結果
復帰突然変異試験*	<i>Salmonella typhimurium</i> TA1535, TA1537, TA98, TA100, <i>Escherichia coli</i> WP2 <i>uvrA</i>	0.02, 0.1, 0.5, 2.0, 5.0, 10, 50 µg(力価)/plate (−S9)	陰性 ¹
		0.02, 0.1, 0.5, 2.0, 5.0, 10, 50 µg(力価)/plate (+S9)	陰性 ²
		0.05, 0.15, 0.5, 1.5, 5.0, 15 µg(力価)/plate (−S9)	陰性 ³
		0.15, 0.5, 1.5, 5.0, 15, 50 µg(力価)/plate (+S9)	陰性 ⁴
染色体異常試験*	ヒト末梢血リンパ球	608, 812, 1,084, 1,450, 1,810 µg(力価)/mL (−S9 ; 3hr+21hr)	陰性 ⁵
		1,450, 1,810, 2,260, 2,820, 3,520 µg(力価)/mL (+S9 ; 3hr+21hr)	陰性 ⁶
		198, 248, 608, 1,084 µg(力価)/mL (−S9 ; 24 hr)	陰性 ⁷
前進突然変異試験	CHO 細胞 (K1-BH4/Hprt)	500, 1,000, 2,000, 3,000, 4,000, 5,000 µg(力価)/mL (−S9 ; 5 hr+7 days)	陰性 ⁸
		500, 1,000, 2,000, 3,000, 4,000, 5,000 µg(力価)/mL (+S9 ; 5 hr+7 days)	陰性 ⁹
		5,000, 6,000 µg(力価)/mL (+S9 ; 5 hr+7 days)	陰性 ⁹
	L5178Y マウスリンパ腫細胞 (TK)	100, 150, 175, 200, 225, 250, 275, 300 µg(力価)/mL (−S9)	陰性 ¹⁰
		300, 325, 350, 400, 425, 450,	陰性 ¹¹

		475, 500 µg(力価)/mL (-S9)	
		400, 500, 600, 700, 800, 900, 950, 1,000 µg(力価)/mL (+S9)	陰性 ¹²

* : ツラスロマイシン A を投与。用量もツラスロマイシン A としての用量。

- 1 2 µg(力価)/plate(TA1535)、5 µg(力価)/plate(TA1537、TA98、TA100)、10 µg(力価)/plate(E. coli)以上の用量で菌の生育阻害が認められた。
- 2 5 g(力価)/plate(TA1535、TA100)、10 µg(力価)/plate(TA1537、TA98)、50 µg(力価)/plate(E. coli) 以上の用量で菌の生育阻害が認められた。
- 3 5 µg(力価)/plate(TA1535、TA1537、TA98、TA100)、15 µg(力価)/plate(E. coli)以上の用量で菌の生育阻害が認められた。
- 4 5 µg(力価)/plate(TA1535、TA100)、15 µg(力価)/plate(TA1537、TA98、E. coli)以上の用量で菌の生育阻害が認められた。
- 5 1,810 µg(力価)/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 3,520 µg(力価)/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 1,084 µg(力価)/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 2,000 µg(力価)/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。
- 10 300 µg(力価)/mL では溶媒対照と比較して細胞生存率が 50%に低下した。
- 11 425 µg(力価)/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。
- 12 800 µg(力価)/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。

表 11 *in vivo* 試験

試験系	試験対象	投与量	結果
小核試験*	ラット骨髓細胞	500, 1,000, 2,000 mg(力価)/kg 体重/日, 3 日間強制経口投与	陰性

* : ツラスロマイシン A を投与。用量もツラスロマイシン A としての用量。

上記のように、*in vitro* 試験においては復帰突然変異試験、ヒトリンパ球を用いた染色体異常試験及び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、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* 及び *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生体にとって問題となる遺伝毒性はないものと考えられた。

9. 微生物学的影響に関する試験

(1) ヒトの腸内細菌に対する最小発育阻止濃度

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 は表 12 のとおりであった。(参照 31)

表 12 MIC の要約

菌種	菌株数	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^{6-9} CFU/spot における MIC₅₀ 値は 1 μ g/mL であった。

(2) *in vitro* gut model における感受性細菌の最小発育阻止濃度 (MIC)

2~20 μ g/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 pH 2 の条件下でペプシン処理し、さらに約 pH 7 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* 及び *Fusobacterium* (それぞれ 2 菌株) を約 10^{5-6} CFU/mL で加え、約 35 $^{\circ}$ C で 18 時間培養したときの菌の生存状態を検討した。この擬似消化管溶液中においては、20 μ g/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。(参照 32、33)

(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

ヒト 6 名 (男女各 3 名) から採取された糞便を混合し 0.01 M の CaCl₂ に 1/150~1/5 で希釈して滅菌した溶液に、25 ppm の ¹⁴C 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を検討した。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 K_d は 8.5 と計算された。(参照 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 0.01 M の CaCl₂ で 1/10 に希釈して滅菌した溶液に、¹⁴C 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を検討した。この試験においてはさらに 20 及び 37 $^{\circ}$ C における結合活性の差についても検討した。混合液を遠心分離した上清に回収された放射活性は 20 $^{\circ}$ C で約 37~43 %²⁷ で K_d=17、37 $^{\circ}$ C で 24~28 % で K_d=32 とされた。

この条件では、ツラスロマイシンはヒトの体温に近い 37 $^{\circ}$ C でヒト糞便溶液に対しより高い結合活性を示した。(参照 35)

²⁷ 添加 4、20 及び 24 時間時点の 3 点の値。

(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 (0.031~128 µg/mL のツラスロマイシンを含み、約 pH 7.1 又は 7.4 及び約 pH 6.5 に調整された培養培地並びに 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、5×10⁵CFU/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る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。

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。

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 (表 13)。(参照 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 (pH 7) から 8 (pH 6.6) に変化し、4 倍の低下が認められた。(参照 37)

マクロライド系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。

表 13

	<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

(5) 豚における *in vivo* の知見

Salmonella enterica serovar Typhimurium (ST) で豚を攻撃後、10 又は 15 mg/kg 体重のツラスロマイシンを単回筋肉内投与し、投与後 28 日までの糞を採取した。本試験の ST 株の MIC は 1.56 µg/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。(参照 38)

投与後 3 日間の豚の糞中のツラスロマイシン濃度は、2.5 mg/kg 体重の筋肉内投与において 10~70 µg/g であることが確認されており、ツラスロマイシンは豚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。(参照 13)

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、豚の試験において、攻撃試験時の *Salmonella* 排泄に *in vitro* で求められた MIC の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。

10. その他の特殊試験（皮膚感作試験）

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及び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。最終攻撃 24 及び 48 時間後の評価時点で、9/10 例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。(参照 39)

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。さらに、マクロライド系抗生物質間の比較では 15 員環のマクロライド系抗生物質はエリスロマイシンよりもアレルギー様副作用の発生頻度はまれであると報告されている。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。

1 1. ヒトにおける知見（ヒトにおけるマクロライド系抗生物質の影響）

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、経口及び静脈内投与で特に高用量の場合には腹痛、悪心、嘔吐及び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）の変動及び消化管への影響（下痢、軟便等）であった。（参照 40～43）

III. 食品健康影響評価

1. 薬物動態及び残留試験について

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 25 mg(力価)/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、5 mg(力価)/kg 体重/日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、2 mg(力価)/kg 体重/日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、肺において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、肺に対する毒性所見は認められなかった。

2. 毒性学的影響について

(1) 繁殖毒性及び発生毒性について

生殖発生毒性についてはラットを用いた二世世代繁殖毒性試験及びラット、ウサギを用いた発生毒性試験が実施されている。二世世代繁殖毒性試験（0、15、50 及び 100 mg(力価)/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、肝臓の絶対及び比重量の減少が F₀雌雄の全投与群で認められ、F₁でも雄の全投与群で比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 15 mg(力価)/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 及び 200 mg(力価)/kg 体重/日）及びウサギ（0、5、15 及び 50 mg(力価)/kg 体重/日）ともに認められなかったが、ラットにおいて 15 mg(力価)/kg 体重/日の用量において雌雄の胎児体重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 15 mg(力価)/kg 体重/日と考えられた。

(2) 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。

ツラスロマイシンは *in vitro* の復帰突然変異試験、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) 及び *in vivo* の小核試験 (ラット骨髄細胞) 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、亜急性及び慢性毒性のいずれの試験においても前腫瘍性病変又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。

(3) 毒性学的 ADI について

ツラスロマイシンについては、遺伝毒性及び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と考えられた。亜急性又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血液生化学的検査のいくつかのパラメータの変化で、NOAEL は 5 mg(力価)/kg 体重/日であると判断された。

一方、ラットの二世世代繁殖毒性試験及び発生毒性試験において、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 が設定できず、いずれも LOAEL は 15 mg(力価)/kg 体重/日であった。

イヌの 1 年間慢性毒性試験における NOAEL 5 mg(力価)/kg 体重/日から ADI を設定する場合、種差 10、個体差 10 の安全係数 100 を適用し、0.05 mg/kg 体重/日となる。一方、ラットの二世世代繁殖毒性試験及び発生毒性試験の LOAEL 15 mg(力価)/kg 体重/日から 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、LOAEL を使用することによる追加の安全係数 10 を考慮し、0.015 mg/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 0.015 mg/kg 体重/日を採用するのが適当と判断された。

3. 微生物学的影響について

(1) 微生物学的 ADI 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 1 µg/mL であった。結腸内容物に 220 g、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 60 kg を適用し、JECFA の算定式に当てはめ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・実施された。また、これらの影響が *in vivo* においても認められる可能性について豚における試験結果を用いて考察された。

- ①肉培地をペプシン及びパンクレアチン処理した溶液では 20 µg/mL までのツラスロマイシンは *Bifidobacterium* 及び *Fusobacterium* の増殖を妨げなかった。
- 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 °C で 50 %未満に低下した。37 °Cでは 30%未満に低下した。
- 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。
- ④pH 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。
- ⑤豚において、*in vitro* の MIC が 1.56 µg/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。

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た。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系抗生物質、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た。さらに、豚の試験において、*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た。

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、控えめにみても 1/10 程度に抗菌活性が低下するものと考えられる。したがって、抗菌活性の低下を考慮した微生物学的 ADI の試算値は 0.04 mg/kg 体重/日程度と考えられた。

4. ADI の設定について

毒性学的 ADI は、ラットの二世代繁殖毒性試験及び発生毒性試験において得られた LOAEL 15 mg(力価)/kg 体重/日に、安全係数として種差 10、個体差 10 の 100 に加え、さらに追加の安全係数 10 を考慮した 0.015 mg/kg 体重/日と考えられた。

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、抗菌活性の低下に関する定量的な評価は困難であるものの、*in vitro* の MIC₅₀の最も低い値から算出された微生物学的 ADI の試算値は、抗菌活性の低下を考慮すると 0.04 mg/kg 体重/日程度と考えられた。

毒性学的 ADI の 0.015 mg/kg 体重/日は、微生物学的 ADI の試算値の 0.04 mg/kg 体重/日と比較してより低い値であり、微生物学的影響についても十分な安全域を確保していると考えられることから、ADI 設定に当たっては、毒性学的 ADI の 0.015 mg/kg 体重/日を採用することが適当と考えられた。

5. 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

〈別紙 1：検査値等略称〉

略称	名称
ADI	一日摂取許容量
ALT	アラニンアミノトランスフェラーゼ
AST	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
AUC	血漿中薬物濃度曲線下面積
BUN	血液尿素窒素
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
EM(E)A	欧州医薬品庁
FDA	米国食品医薬品庁
JECFA	FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議
LC-MS/MS	液体クロマトグラフィータンデム質量分析計
LSC	液体シンチレーションカウンター
LOAEL	最小毒性量
MIC	最小発育阻止濃度
NOAEL	無毒性量
NOEL	無作用量
NTP	米国国家毒性プログラム
T _{max}	最高血（漿）中濃度到達時間
T _{1/2}	消失半減期
VICH	動物用医薬品の承認審査資料の調和に関する国際協力会議

〈参照〉

1. ファイザー株式会社.動物用医薬品製造販売承認申請書 ドラクシン：添付資料 1(未公表)
2. ファイザー株式会社.国外で使用される動物用医薬品に係わる残留基準値設定の要請書 ツラスロマイシン：添付資料 44； [Study # 1530N-60-00-359] (未公表)
3. ファイザー株式会社.国外で使用される動物用医薬品に係わる残留基準値設定の要請書 ツラスロマイシン：添付資料 45； [Study # 1530N-60-00-363](未公表)
4. ファイザー株式会社.国外で使用される動物用医薬品に係わる残留基準値設定の要請書 ツラスロマイシン：添付資料 46； [Study # 1530N-60-00-362](未公表)
5. ファイザー株式会社.国外で使用される動物用医薬品に係わる残留基準値設定の要請書 ツラスロマイシン：添付資料 48； [Study # 1535N-60-99-294] (未公表)
6. ファイザー株式会社.国外で使用される動物用医薬品に係わる残留基準値設定の要請書 ツラスロマイシン：添付資料 47； [Study # 1576N-60-00-209](未公表)
7. ファイザー株式会社.国外で使用される動物用医薬品に係わる残留基準値設定の要請書 ツラスロマイシン：添付資料 39； [Study # 1535N-60-99-296](未公表)
8. ファイザー株式会社.動物用医薬品製造販売承認申請書 ドラクシン：添付資料 39；吸収、分布、代謝、排泄に関する資料 豚におけるツラスロマイシンの血漿中および肺組織中薬物動態(未公表)
9. ファイザー株式会社.動物用医薬品製造販売承認申請書 ドラクシン：添付資料 40；吸収、分布、代謝、排泄に関する資料 豚におけるツラスロマイシンの生物学的利用能(未公表)
10. ファイザー株式会社.国外で使用される動物用医薬品に係わる残留基準値設定の要請書 ツラスロマイシン：添付資料 51； [Study # 1521E-60-01-194](未公表)
11. ファイザー株式会社.動物用医薬品製造販売承認申請書 ドラクシン：添付資料 41；吸収、分布、代謝、排泄に関する資料 豚における C¹⁴ ツラスロマイシンの残留消長試験(未公表)
12. ファイザー株式会社.動物用医薬品製造販売承認申請書 ドラクシン：添付資料 42；吸収、分布、代謝、排泄に関する資料 豚における C¹⁴ ツラスロマイシンの組織中代謝分析試験(未公表)
13. ファイザー株式会社.動物用医薬品製造販売承認申請書 ドラクシン：添付資料 43；吸収、分布、代謝、排泄に関する資料 豚における C¹⁴ ツラスロマイシンの組織および排泄物の代謝分析試験(未公表)
14. ファイザー株式会社.動物用医薬品製造販売承認申請書 ドラクシン：添付資料 45；残留試験に関する資料 PC-5145 の豚における国内残留試験(未公表)
15. ファイザー株式会社.動物用医薬品製造販売承認申請書 ドラクシン：添付資料 46；残留試験に関する資料 CP-472,295(e)の豚における海外残留試験(未公表)
16. ファイザー株式会社.動物用医薬品製造販売承認申請書 ドラクシン：添付資料 16；毒性および安全性に関する資料 CP-472,295 のラットにおける単回経口および静脈内投与毒性試験(未公表)
17. ファイザー株式会社.動物用医薬品製造販売承認申請書 ドラクシン：添付資料 17；毒

- 性および安全性に関する資料 CP-472,295 のビーグル犬における単回経口および静脈内投与毒性試験(未公表)
18. ファイザー株式会社.動物用医薬品製造販売承認申請書 ドラクシン:添付資料 18;毒性および安全性に関する資料 CP-472,295の Sprague-Dawley系ラットにおける1ヶ月間経口毒性試験(未公表)
 19. ファイザー株式会社.動物用医薬品製造販売承認申請書 ドラクシン:添付資料 20;毒性および安全性に関する資料 CP-472,295(e)の Sprague-Dawley系ラットにおける3ヶ月間経口毒性試験(未公表)
 20. ファイザー株式会社.動物用医薬品製造販売承認申請書 ドラクシン:添付資料 19;毒性および安全性に関する資料 ビーグル犬における CP-472,295 の1ヶ月間経口毒性試験(未公表)
 21. ファイザー株式会社.動物用医薬品製造販売承認申請書 ドラクシン:添付資料 21;毒性および安全性に関する資料 CP-472,295(e)のビーグル犬における3ヶ月間経口毒性試験(未公表)
 22. ファイザー株式会社.動物用医薬品製造販売承認申請書 ドラクシン:添付資料 22;毒性および安全性に関する資料 CP-472,295(e)のビーグル犬における1年間経口毒性試験(未公表)
 23. ファイザー株式会社.動物用医薬品製造販売承認申請書 ドラクシン:添付資料 25;毒性および安全性に関する資料 CP-472,295(e)のラットにおける経口(強制)投与二世代生殖毒性試験(未公表)
 24. ファイザー株式会社.動物用医薬品製造販売承認申請書 ドラクシン:添付資料 23;毒性および安全性に関する資料 CP-472,295(e)のラットの催奇形性試験(未公表)
 25. ファイザー株式会社.動物用医薬品製造販売承認申請書 ドラクシン:添付資料 24;毒性および安全性に関する資料 CP-472,295(e)のウサギの催奇形性試験(未公表)
 26. ファイザー株式会社.動物用医薬品製造販売承認申請書 ドラクシン:添付資料 26;毒性および安全性に関する資料 CP-472,295の細菌を用いた復帰突然変異試験(未公表)
 27. ファイザー株式会社.動物用医薬品製造販売承認申請書 ドラクシン:添付資料 27;毒性および安全性に関する資料 CP-472,295のヒトリンパ球細胞を用いた *in vitro* 染色体異常試験(未公表)
 28. ファイザー株式会社.動物用医薬品製造販売承認申請書 ドラクシン:添付資料 28;毒性および安全性に関する資料 CP-472,295(e) マウスリンパ腫 L5178YTK+/− 細胞を用いた前進突然変異試験(未公表)
 29. ファイザー株式会社.動物用医薬品製造販売承認申請書 ドラクシン:添付資料 29;毒性および安全性に関する資料 CP-472,295(e)のCHO細胞を用いた遺伝子突然変異試験(未公表)
 30. ファイザー株式会社.動物用医薬品製造販売承認申請書 ドラクシン:添付資料 30;毒性および安全性に関する資料 CP-472,295のラット骨髄細胞を用いた小核試験(未公表)
 31. ファイザー株式会社.国外で使用される動物用医薬品に係わる残留基準値設定の要請書 ツラスロマイシン:添付資料 30 [Study # 1671N-03-00-217](未公表)

32. ファイザー株式会社.国外で使用される動物用医薬品に係わる残留基準値設定の要請書 ツラスロマイシン：添付資料 32； [Study # 1671N-03-01-231](未公表)
33. ファイザー株式会社.国外で使用される動物用医薬品に係わる残留基準値設定の要請書 ツラスロマイシン：添付資料 33； [Study # 1671N-03-01-240](未公表)
34. ファイザー株式会社.国外で使用される動物用医薬品に係わる残留基準値設定の要請書 ツラスロマイシン：添付資料 34； [Study # 1A72N-60-00-203](未公表)
35. ファイザー株式会社.国外で使用される動物用医薬品に係わる残留基準値設定の要請書 ツラスロマイシン：添付資料 35； [Study # 53056/54866](未公表)
36. ファイザー株式会社.国外で使用される動物用医薬品に係わる残留基準値設定の要請書 ツラスロマイシン：添付資料 36； [Study # 1671N-03-01-226](未公表)
37. ファイザー株式会社.国外で使用される動物用医薬品に係わる残留基準値設定の要請書 ツラスロマイシン：添付資料 37； [Study # 1671N-03-01-232](未公表)
38. ファイザー株式会社.国外で使用される動物用医薬品に係わる残留基準値設定の要請書 ツラスロマイシン：添付資料 38； [Study # 98-RJY-002] (未公表)
39. ファイザー株式会社.国外で使用される動物用医薬品に係わる残留基準値設定の要請書 ツラスロマイシン：添付資料 19； [Study # 00-1507-24](未公表)
40. 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
41. 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
42. 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
43. 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
44. EMA：European public MRL assessment report (EPMAR), Tulathromycin (modification of the microbiological ADI and MRLs in bovine and porcine species), 2015
45. 食品安全委員会：「食品健康影響評価の結果の通知について」(平成18年3月9日付府食第182号)
46. ゴエティス・ジャパン株式会社：ドラクシン C 動物用医薬品製造販売承認申請添付資料の概要 (非公表)
47. ゴエティス・ジャパン株式会社：ドラクシン C 動物用医薬品製造販売承認申請添付資料 12-3：牛、豚、犬及びラット血漿における CP-472,295 (e)の蛋白結合 (非公表)
48. ゴエティス・ジャパン株式会社：ドラクシン C 動物用医薬品製造販売承認申請添付資料 15-1：PC-5145 の牛における残留試験 (非公表)
49. ゴエティス・ジャパン株式会社：ドラクシン C 動物用医薬品製造販売承認申請添付資料 15-3：PC-5145 の牛における残留試験～牛の臓器・組織中ツラスロマイシン分析法の確立試験～ (非公表)
50. ゴエティス・ジャパン株式会社：ドラクシン C 動物用医薬品製造販売承認申請添付資料 15-2：PC-5145 の牛における組織中残留試験 (非公表)