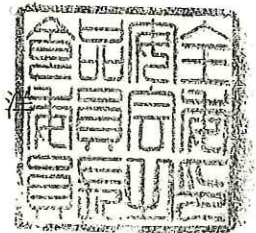




府 食 第 6 0 4 号
平成 2 7 年 7 月 1 4 日

厚生労働大臣
塩崎 恭久 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 2 7 年 3 月 1 2 日付け厚生労働省発食安 0 3 1 2 第 2 号をもって貴省から当委員会に意見を求められたモネンシン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 1 5 年法律第 4 8 号）第 2 3 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

モネンシンの一日摂取許容量を 0.003 mg/kg 体重/日とする。

別添

動物用医薬品・飼料添加物評価書

モネンシン
(第2版)

2015年7月

食品安全委員会

目 次

	頁
○ 審議の経緯.....	4
○ 食品安全委員会委員名簿.....	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及び飼料添加物の概要.....	 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.....	7
7. 使用目的及び使用状況等.....	8
 II. 安全性に係る知見の概要.....	 9
1. 薬物動態試験（吸収、分布、代謝、排泄）.....	9
(1) 薬物動態試験（ラット、牛及び羊）.....	9
(2) 薬物動態試験（ラット）.....	9
(3) 薬物動態試験（イヌ）.....	10
(4) 薬物動態試験（牛）.....	11
(5) 薬物動態試験（羊）.....	12
(6) 薬物動態試験（豚）.....	12
(7) 薬物動態試験（羊、山羊及び豚）.....	13
(8) 薬物動態試験（鶏及び七面鳥）.....	13
(9) 代謝試験.....	14
2. 残留試験.....	15
(1) 残留試験（牛）.....	15
(2) 残留試験（羊及び山羊）.....	18
(3) 残留試験（豚）.....	18
(4) 残留試験（鶏）.....	19
(5) 残留試験（七面鳥）.....	20
(6) 残留試験（うずら）.....	21
(7) 残留マーカ―について.....	21
3. 遺伝毒性試験.....	22
4. 急性毒性試験.....	23
5. 亜急性毒性試験.....	24
(1) 3 か月間亜急性毒性試験（マウス）.....	24
(2) 3 か月間亜急性毒性試験（ラット）.....	25

(3) 3 か月間亜急性毒性試験 (イヌ)	28
6. 慢性毒性及び発がん性試験	29
(1) 1 年間慢性毒性試験 (ラット①)	29
(2) 52 週間慢性毒性試験 (ラット②)	30
(3) 1 年間慢性毒性試験 (イヌ)	30
(4) 2 年間慢性毒性/発がん性併合試験 (マウス)	31
(5) 2 年間慢性毒性/発がん性併合試験 (ラット①)	31
(6) 2 年間慢性毒性/発がん性併合試験 (ラット②)	32
(7) 2 年間慢性毒性/発がん併合性試験 (ラット③)	32
7. 生殖発生毒性試験	33
(1) 3 世代生殖毒性試験 (ラット①)	33
(2) 3 世代生殖毒性試験 (ラット②)	33
(3) 2 世代生殖毒性試験 (ラット)	33
(4) 発生毒性試験 (ラット①)	34
(5) 発生毒性試験 (ラット②)	35
(6) 発生毒性試験 (ウサギ①)	35
(7) 発生毒性試験 (ウサギ②)	35
8. その他の試験	36
(1) 一般薬理試験	36
(2) 局所刺激性試験	37
9. 微生物学的影響に関する試験	40
(1) 臨床分離菌に対する MIC①	40
(2) 臨床分離菌に対する MIC②	40
(3) 臨床分離菌に対する MIC③	41
(4) 糞便結合試験 (ヒト①)	42
(5) 糞便結合試験 (ヒト②)	42
(6) 代謝物の微生物学的活性	43
10. ヒトに関する知見	43
III. 食品健康影響評価	44
1. 国際機関等における評価	44
(1) JECFA における評価	44
(2) EFSA における評価	45
(3) EMEA における評価	45
2. 毒性学的 ADI の設定について	46
3. 微生物学的影響について	46
4. 食品健康影響評価について	47

・ 表 15 国際機関等における各種試験の無毒性量等の比較	48
・ 別紙 検査値等略称	51
・ 参照	52

〈審議の経緯〉

第1版関係

- 2005年 11月 29日 暫定基準告示（参照1）
- 2007年 3月 6日 厚生労働大臣から残留基準設定に係る食品健康影響評価について要請（厚生労働省発食安第0305027号）、関係資料の接受（参照1~8）
- 2007年 3月 8日 第181回食品安全委員会（要請事項説明）
- 2011年 11月 2日 第49回肥料・飼料等専門調査会
- 2012年 2月 21日 第53回肥料・飼料等専門調査会
- 2012年 12月 3日 第456回食品安全委員会（報告）
- 2012年 12月 4日 から2013年1月2日まで 国民からの意見・情報の募集
- 2013年 2月 8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
- 2013年 2月 18日 第463回食品安全委員会（報告）
同日付け食品安全委員会委員長から厚生労働大臣に通知

第2版関係

- 2015年 3月 12日 厚生労働大臣から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0312第2号）、農林水産大臣から飼料の基準及び規格の改正に係る食品健康影響評価について要請（26消安第5583号）、関係資料の接受（参照9）
- 2015年 3月 17日 第553回食品安全委員会（要請事項説明）
- 2015年 7月 14日 第570回食品安全委員会（審議）
（同日付け厚生労働大臣及び農林水産大臣に通知）

〈食品安全委員会委員名簿〉

（2009年6月30日まで）	（2011年1月6日まで）	（2012年6月30日まで）
見上 彪（委員長）	小泉 直子（委員長）	小泉 直子（委員長）
小泉 直子（委員長代理*）	見上 彪（委員長代理*）	熊谷 進（委員長代理*）
長尾 拓	長尾 拓	長尾 拓
野村 一正	野村 一正	野村 一正
畑江 敬子	畑江 敬子	畑江 敬子
廣瀬 雅雄**	廣瀬 雅雄	廣瀬 雅雄
本間 清一	村田 容常	村田 容常
*：2007年2月1日から	*：2009年7月9日から	*：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 洌子
村田 容常

(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 葭子
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 舘田 一博
秋葉 征夫 戸塚 恭一
池 康嘉 細川 正清
今井 俊夫 宮島 敦子
江馬 眞 山中 典子
桑形 麻樹子 吉田 敏則
下位 香代子
高橋 和彦

要 約

ポリエーテル系のイオノフォア抗生物質である「モネンシン」(CAS No. 17090-79-8)、JECFA、EFSA 及び EMEA の評価書等を用いて食品健康影響評価を実施した。

なお、今回、飼料添加物であるモネンシンナトリウムを離乳後(生後おおむね1~3 月以内)の牛を対象とするほ乳期子牛育成用配合飼料に添加(30 g(力価)/t)する適用拡大に伴い、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(ラット、イヌ、鶏、豚、牛等)、残留(鶏、豚、山羊、羊、牛等)、遺伝毒性、急性毒性、亜急性毒性(マウス、ラット及びイヌ)、慢性毒性(ラット及びイヌ)、慢性毒性及び発がん性(マウス及びラット)、生殖発生毒性(ラット及びウサギ)、一般薬理(マウス、ラット、ウサギ、イヌ、豚等)、微生物学的影響に関する試験等の成績である。

各種遺伝毒性試験においていずれも陰性の結果が得られており、また、マウス及びラットを用いた慢性毒性及び発がん性試験において発がん性が認められていないことから、モネンシンは遺伝毒性発がん物質ではないと考えられ、一日摂取許容量(ADI)の設定が可能であると考えた。

各種毒性試験で得られた最小の無毒性量(NOEL)は、ウサギを用いた発生毒性試験に基づく0.3 mg/kg 体重/日であり、安全係数100(種差10及び個体差10)を適用し、毒性学的ADIを0.003 mg/kg 体重/日と設定した。

微生物学的影響については、モネンシン残留物がヒトの腸内細菌叢に影響を及ぼし、腸管の定着障壁を崩壊させる可能性は低いと考えられ、モネンシン残留物に対して微生物学的ADIを設定する必要はないと考えた。

以上から、モネンシンのADIを0.003 mg/kg 体重/日と設定した。

また、モネンシンナトリウムについては、飼料添加物として適切に使用される限りにおいて、食品を介し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。

I. 評価対象動物用医薬品及び飼料添加物の概要

1. 用途

抗菌剤

2. 有効成分の一般名

和名：モネンシン

英名：Monensin

3. 化学名

(モネンシン A)

IUPAC

英名：(2S,3R,4S)-4-[(2S,5R,7S,8R,9S)-2-[(2R,5S)-5-ethyl-5-[(2R,3S,5R)-5-[(2S,3S,5R,6R)-6-hydroxy-6-(hydroxymethyl)-3,5-dimethyloxan-2-yl]-3-methyloxolan-2-yl]oxolan-2-yl]-7-hydroxy-2,8-dimethyl-1,10-dioxaspiro[4.5]decan-9-yl]-3-methoxy-2-methylpentanoic acid

CAS (No. 17090-79-8)

英名：2-[5-ethyltetrahydro-5-[tetrahydro-3-methyl-5-[tetrahydro-6-hydroxy-6-(hydroxymethyl)-3,5-dimethyl-2*H*-pyran-2-yl]-2-furyl]-2-furyl]-9-hydroxy-β-methoxy-α,γ,2,8-tetramethyl-1,6-dioxaspiro[4.5]decane-7-butyric acid

4. 分子式

(モネンシン A)

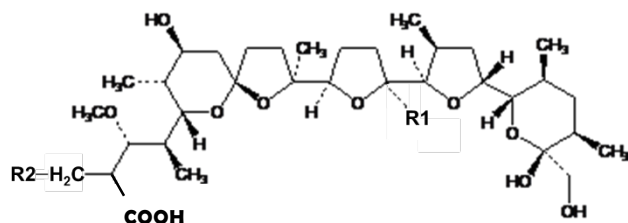
C₃₆H₆₂O₁₁

5. 分子量

(モネンシン A)

671

6. 構造式



Factor	R1	R2
A	-CH ₂ CH ₃	-H
B	-CH ₃	-H
C	-CH ₂ CH ₃	-CH ₃

(参照 2 を一部変更)

(参考)

・ モネンシンナトリウム

1. 一般名

和名：モネンシンナトリウム

英名：Monensin sodium

2. 化学名

(モネンシン A のナトリウム塩)

CAS (No. 22373-78-0)

英名：2-[5-ethyltetrahydro-5-[tetrahydro-3-methyl-5-[tetrahydro-6-hydroxy-6-(hydroxymethyl)-3,5-dimethyl-2*H*-pyran-2-yl]-2-furyl-9-hydroxy-β-methoxy-α, γ,2,8-tetramethyl-1,6-dioxaspiro[4.5]decane-7-butyric, sodium salt

3. 分子式

(モネンシン A のナトリウム塩)

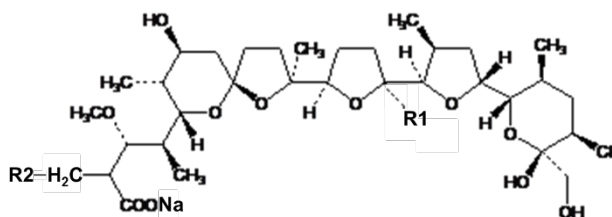
C₃₆H₆₁O₁₁Na

4. 分子量

(モネンシン A のナトリウム塩)

693

5. 構造式



Factor	R1	R2
A	-CH ₂ CH ₃	-H
B	-CH ₃	-H
C	-CH ₂ CH ₃	-CH ₃

(参照 2 を一部変更)

7. 使用目的及び使用状況等

モネンシンは、*Streptomyces cinnamomensis* が産生するポリエーテル系のイオノフォア抗生物質である。一般に、ナトリウム塩として使用される。発酵法により類縁体 A、B、C 及び D の混合物として生産され、モネンシン A が主要成分である (98%)。精製法により、菌糸体 (mycelial form) や結晶の形態で存在する。

モネンシンは抗コキシジウム活性及び抗菌活性の両方を示す。主にグラム

陽性菌に対して有効である。

モネンシンは、海外では家きん（鶏、七面鳥及びうずら）や反すう動物（牛、羊及び山羊）のкокшиジウム症の治療、牛のケトーシスや鼓脹症の管理に使用される。牛及び羊の成長促進を目的とした飼料添加物としても使用される。

日本では、モネンシンナトリウムが飼料添加物として指定されており、牛、鶏及びうずらに使用されている。

モネンシンはヒト用医薬品としては使用されていない。（参照 1、4）

今回、モネンシンナトリウムを離乳後（生後おおむね 1～3 月以内）の牛を対象とするほ乳期子牛育成用配合飼料に添加（30 g(力価)/t）する適用拡大に伴い、農林水産省から飼料の安全性の確保及び品質の改善に関する法律（昭和 28 年法律第 35 号）第 3 条第 1 項の規定に基づき、モネンシンナトリウムを含む飼料の基準及び規格を改正することについて、また、厚生労働省から食品衛生法（昭和 22 年法律第 233 号）第 11 条第 1 項の規定に基づき、食品中の残留基準を設定することについて、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

本評価書では、JECFA、EFSA 及び EMEA の評価書、飼料添加物の指定時の試験成績等の抄録等を基に、モネンシンの毒性に関する主な知見を整理した。

検査値等略称は別紙に記載した。

1. 薬物動態試験（吸収、分布、代謝、排泄）

（1）薬物動態試験（ラット、牛及び羊）

ラット及び牛について ^{14}C 標識モネンシンの経口投与による薬物動態を調べた。

モネンシンは急速に吸収され、主に肝臓で代謝される。吸収後モネンシン及び代謝物は主に胆汁に排泄され、ラット及び牛においては、経口投与量のそれぞれ約 40 及び 35%に相当した。経口投与では、放射活性の大部分が糞中から回収され、尿中排泄は無視できるほど低かった。（参照 2）

吸収は単胃動物の方が複胃動物（牛又は羊）より大きく、複胃動物では投与量の約 50%が吸収された。（参照 2）

（2）薬物動態試験（ラット）

体外胆管カニューレを装着したラット（Wistar 系、雌雄各 3 匹/群）に ^{14}C 標識モネンシンを経口投与（雄:5 及び 40 mg/kg 体重、雌:2 及び 16 mg/kg 体重）し吸収を調べた。

投与後 72 時間の胆汁中の放射活性回収率は、投与量に依存せず、雄では 32.8～48.6%、雌では 30.7～53.2%であった。（参照 2）

ラット（Wistar 系、雌雄各 5 匹/群）に ^{14}C 標識モネンシンナトリウムを強制経口投与（雌 4 及び 16 mg/kg 体重、雄 5 及び 20 mg/kg 体重）し 4 時間又は 24 時間後に分析した。

投与 4 時間後、雌雄ともに調べた全ての組織から放射活性が検出され、肝臓、十二指腸、空腸、回腸及び結腸中の濃度は血清中よりも 10 倍以上高い濃度であった。4 mg/kg 体重投与群の雌では副腎にも高い放射活性がみられた。血清及び組織中の放射活性は投与 24 時間後までに有意に低下したが、全てのラットにおいて肝臓、回腸及び結腸中の濃度は血清に比べて 10 倍以上高かった。20 mg/kg 体重投与群の雄の十二指腸及び空腸、4 mg/kg 体重投与群の雌の副腎、下垂体、甲状腺及び空腸、16 mg/kg 体重投与群の雌の副腎、十二指腸及び空腸でも投与 24 時間後に 10 倍以上高い濃度の ^{14}C 標識モネンシンが観察された。投与量の大部分が蓄積されるような組織はみられなかった。（参照 2）

ラット（Harlan 系、雄）に ^{14}C 標識モネンシン（2.15 mg/匹）を単回強制経口投与した。非標識モネンシンを ^{14}C 標識モネンシンの投与前 13 日間及び投与後 12 日間混餌投与（100 ppm(10 mg/kg 体重/日に相当)）した。

放射活性は、 ^{14}C 標識モネンシン投与後 3 日間、糞中に検出され、回収率は 91.47%であった。投与量の 0.48%のみが尿中に回収され、尿中の放射活性が検出されたのは投与後 1 日のみであった。（参照 2）

ラット（Wistar 系、雌雄各 5 匹/群）に ^{14}C 標識モネンシンを単回強制経口投与（雄;5、10、20 及び 40 mg/kg 体重、雌;2、4、8 及び 16 mg/kg 体重）した。

投与 72 時間後の ^{14}C 標識モネンシンの排泄は用量非依存的で、雄で 84.7～88.9%、雌で 71.8～88.2%であった。雄では、83.6～87.4%が糞中に、1.0～1.6%が尿中に排泄され、雌では、70.8～87.2%が糞中に、1.0～1.3%が尿中に排泄された。高用量投与 2 群の 24 及び 48 時間の時点におけるモネンシンの尿中排泄率は有意に低く、これは、それらの群で観察された毒性に起因すると考えられた。（参照 2）

（3）薬物動態試験（イヌ）

^{14}C 標識モネンシンナトリウムを経口投与（1 mg/kg 体重）したイヌの血液サンプルについて、四塩化炭素抽出及びシンチレーションカウンターにより分析した。

^{14}C 標識モネンシンナトリウムは速やかに吸収され、投与 15 分後に $C_{\max}$ （0.056 mg/L）に達した。投与 3 時間後までに放射活性は 0.01 mg/L 以下にまで急速に低下した。（参照 2）

イヌに ^{14}C 標識モネンシンを静脈内投与（投与量不明）した。

放射活性は、主として糞中に回収された。糞中の放射活性の分画は、約 6% が未変化体で、残りは代謝されたものであったことから、迅速な胆汁排泄が主要排泄経路であることが間接的に示された。（参照 2）

（4）薬物動態試験（牛）

胆管カニューレが挿入された子牛（ショートホーン種（雄 1 頭）、アンガス種（雌 1 頭）、3 か月齢）に ^{14}C 標識モネンシンナトリウムをカプセルで単回経口投与（10 mg/kg 体重）した。

子牛の吸収率は投与量の 36～40% と計算され、吸収された放射活性の大部分は胆汁中に回収された。放射活性の主要排泄経路は糞中で、尿中への排泄は少量であった。（参照 2）

フィステルを装着した牛（3 頭）へのモネンシンの第一胃内投与（60 mg/kg 体重）では、最終的に 3 例ともに投与により死亡したが、半定量オートラジオグラフィーにより測定した血漿中濃度は 0.02 mg/L 以下の結果であった。（参照 2）

モネンシンを経口投与（30 mg/kg 体重）した子牛（去勢雄）では、血漿中には実質的に検出されなかった（検出限界：約 0.05 mg/L）。（参照 2）

モネンシンを静脈内投与（0.15 mg/kg 体重）した子牛（去勢雄、6 頭）では、血清中濃度は急激に低下し、投与 1 時間後の血清中には検出されなかった。（参照 2）

牛（去勢雄、体重 260 kg）に非標識モネンシンを 15 日間混餌投与（300 mg/頭）した後、 ^{14}C 標識モネンシンを 299.8 mg 含有するカプセルを強制経口投与した。カプセル投与後 14 日間、非標識モネンシン含有飼料に戻し、糞及び尿中への放射活性の排泄を測定した。

放射活性の 93.7% が標識カプセル投与後 7 日以内に糞中に回収され、尿中には放射活性は検出されなかった。

本試験は、牛（アンガス種、去勢雄、2 頭）を用いて反復実施されたが、投与量の 88～102% が投与後 8～11 日以内に糞中に回収され、尿中には放射活性は検出されなかった。（参照 2）

牛（アンガス種、去勢雄、3 頭）に非標識モネンシンを 4 週間混餌投与（300 mg）し、投与開始 14 日後に ^{14}C 標識モネンシンをカプセルで経口投与（300 mg（1 mg/kg 体重に相当））した。

放射活性の 88～102%が標識カプセル投与後 7～11 日以内に糞中に回収された。尿中には放射活性は検出されなかった。(参照 2)

子牛に ^{14}C 標識モネンシンをゼラチンカプセルにより単回経口投与 (10 mg/kg 体重) した試験において、投与放射活性の約 35% (雄) 及び 37% (雌) が胆汁中に回収され、主要排泄経路は糞中であつた。追加の試験において、モネンシン及びモネンシンの代謝物は血漿、肝臓及び乳に検出され、経口投与後にモネンシンが吸収されることが示された。(参照 4)

牛において、最終投与直後における放射活性残留は、肝臓で最高であり、飼料中濃度 33～44 ppm の混餌投与における残留濃度は 0.21～0.59 mg/kg の範囲であつた。他の組織中の総残留物は非常に低濃度か、又は検出されなかった。(参照 4)

(5) 薬物動態試験 (羊)

子羊 (去勢雄 1 頭) に非標識モネンシンを 4 週間混餌投与 (50 mg/kg 体重/日) し、投与開始 14 日後に ^{14}C 標識モネンシン含有カプセル 2 個を経口投与 (50 mg/頭) した。

投与した放射活性の 101.96%が標識カプセル投与後 9 日以内に糞中に回収され、尿中には放射活性は検出されなかった。(参照 2)

子羊 (肥育仕上げ期、3 頭/群) に ^{14}C 標識モネンシン含有カプセルを 3、5 又は 7 日間投与 (16.5 ppm 相当量) した。

最終投与 12 時間後において肝臓中に 0.20～0.35 mg/kg の放射活性が検出されたが、腎臓、脂肪及び筋肉中の濃度は、0.027 mg/kg 未満であつた。糞中が主要な排泄経路であつた。(参照 2)

(6) 薬物動態試験 (豚)

豚 (去勢雄、1 頭、体重 54.5 kg) を非標識モネンシン含有飼料 (50 mg/kg) で 2 週間馴化し、その後 ^{14}C 標識モネンシン含有カプセル (5.23 mg (0.1 mg/kg 体重に相当)) を投与した。標識モネンシン投与後 13 日間、尿及び糞を採取した。

回収された放射活性は投与量の 54.87%で、糞中 53.89%及び尿中 0.98%であつた。排泄は迅速で、糞中の ^{14}C の 92%が投与後 3 日で回収された。本試験における放射活性の非定量的な回収の理由は不明であつた。(参照 2)

豚 (去勢雄、1 頭、体重 50.5 kg) をモネンシンナトリウム含有飼料 (50 mg/kg) で不特定期間馴化し、その後 ^{14}C 標識モネンシン含有カプセル (10.4 mg (0.2 mg/kg 体重に相当)) を投与した。標識モネンシン投与後 10 日間、尿

及び糞を毎日採取した。

投与後 10 日間に投与放射活性の 78.14%が回収され、糞中 75.04%及び尿中 3.10%であった。尿中の ^{14}C の大部分は、投与後最初の 2.5 日以内に回収され、糞中の ^{14}C のほとんどは最初の 3.5 日間に検出された。(参照 2)

(7) 薬物動態試験 (羊、山羊及び豚)

羊、山羊及び豚のデータも利用可能である。モネンシンは大部分が糞中に速やかに排泄され、代謝プロファイルは全ての動物種において質的に類似している。全ての動物種において数種類の代謝物が同定されたが、いずれも総残留の 10%未満であった。(参照 4)

(8) 薬物動態試験 (鶏及び七面鳥)

鶏 (白色レグホン種、雄 10 羽、雌 2 羽) に ^{14}C 標識モネンシンをゼラチンカプセルで単回経口投与 (2.6~100 mg/羽) した。

投与した ^{14}C 標識モネンシンの 11~31%が吸収された。主な排泄経路は糞中で、尿及び呼気中への排泄は少なかった。(参照 2)

鶏 (6 羽) に ^3H 標識モネンシンナトリウムを 2 日間混餌投与 (121 ppm) した。

放射活性の 52~73%が回収され、このうち 97%が糞中であつた。放射活性の回収率が低かつた理由は不明であつた。(参照 2)

鶏 (肉用鶏、雄) に非標識モネンシンナトリウムを 15 日間混餌投与 (110 ppm) し、続いて ^{14}C 標識モネンシン (7.4 mg) 含有カプセルを単回投与した。

放射活性の 75%が投与後 3 日以内に排泄物中に回収され、6 日以内では 90%であり、12 日以内では 100%が回収された。(参照 2)

鶏 (レグホン種、3 羽) にモネンシンナトリウムを 35 日間混餌投与 (120 ppm) し、15 日後に ^{14}C 標識モネンシンナトリウムをカプセルで単回投与 (120 ppm 相当量) した。

糞中に回収された放射活性は、標識カプセル投与後 3 日以内に 75%以上が、試験終了までに合計 85~101%が回収された。(参照 2)

放射標識モネンシンは、鶏において速やかに排泄され、投与量の約 75%が投与後 3 日以内に排泄物中に消失した。

静脈内投与後の $T_{1/2}$ は 2.11~5.55 時間と算出された。強制経口投与後の生物学的利用率は約 65%で、血清タンパク結合率は約 23%であつた。(参照 4)

七面鳥では、吸収は鶏と同様であり、 $T_{1/2}$ は 1.4～1.6 時間と報告されている。(参照 4)

(9) 代謝試験

モネンシンは肝臓で代謝され、ラット、イヌ、牛、馬、豚、羊、鶏及び七面鳥の肝臓、胆汁及び糞中において 50 以上の代謝物が検出される。多くの動物種（ラット、イヌ、豚、鶏及び七面鳥）では未変化体として排泄されるのは 10%未満であるが、子牛における試験では、糞中 ^{14}C の 50～68%が未変化体であったことが示された。

このモネンシンの代謝の違いは動物種により吸収が異なる結果である可能性がある。HPLC 分析による基質の消失率の測定により推定されるモネンシンの肝ミクロソームを用いた総代謝量は、牛において最高で、ラット、豚及び鶏において中程度で、馬において最低であった。代謝物のパターンは、実験動物と非実験動物とで量的には異なるが質的には類似している。代謝プロファイル上、単一で優位を占める代謝物は存在しない。(参照 2)

モネンシンの代謝物は主にメトキシ基の O-脱メチル化及び/又はイオノフォア骨格のいくつかの位置の水酸化体を生じる。これまでのところ、モネンシンの骨格分解や抱合は確認されていない。活性を調べるために十分な量のモネンシンの代謝物を得るのは困難であるが、モネンシンの製造の際の副生成物である O-脱メチルモネンシンを含むラットの肝ミクロソームにおいて生成される 4 つの代謝物が試験されている。その結果、これらの代謝物の抗菌作用、抗コクシジウム作用、細胞毒性、強心作用及びイオノフォア作用の活性は少なくとも 10～20 倍低く、代謝によりモネンシンの生物学的活性の大部分が除去されることが示された。(参照 2)

フェノバルビタール処置ラットのマクロソームにおけるモネンシンの O-脱メチル化は、未処置ラットに比べて強く、NADPH の消費に依存していることから、モネンシンはシトクロム P450 (CYP) の基質であることが示唆された。(参照 2)

CYP3A の化学的誘導物質により処理したラット肝ミクロソームにおいて、モネンシンの O-脱メチル化が有意に増加することから、モネンシンの酸化代謝は少なくとも部分的に CYP3A により生じられると思われる。ラットにおいてモネンシンの代謝は他の CYP3A の基質の存在下で有意に減少することから、モネンシンと他の CYP3A の基質との間での競合作用が、いくつかの家畜において発生したモネンシンと他の化学療法物質の同時投与による中毒事故の説明となると推測される。(参照 2)

ヒト肝ミクロソームにおけるモネンシンナトリウムの代謝が馬及びイヌのミクロソームにおける代謝と比較された。多数のドナー（白人、ヒスパニック系及びアフリカ系アメリカ人の男女、15～66歳）からプールしたヒト肝ミクロソーム試料、プールしたイヌ肝ミクロソーム試料及び1頭の馬肝ミクロソーム試料をNADPHの存在下又は非存在下で0.5、1及び10 µg/mLのモネンシン濃度でインキュベートし、LC/MS分析により0、5、10、20、40及び60分における代謝プロファイル調べた。全ての動物種において、モネンシンは一次速度式に従って代謝され、代謝は60分までに93～99%と迅速であった。ヒトにおけるモネンシンの代謝率は、イヌと類似している。（参照2）

2. 残留試験

経口投与されたモネンシンの動態については、多くの動物種において試験されている。

多くの動物種におけるデータはモネンシンが迅速に代謝されることを示している。モネンシン及びモネンシンの代謝物は、通常、総残留物の10%未満と少なく、糞、尿、肝臓、胆汁、血漿及び牛乳汁中に認められている。（参照4）

（1）残留試験（牛）

牛（5頭）に¹⁴C標識モネンシンを9.5日間経口投与（第一胃フィステル経由のゼラチンカプセル投与、0.9 mg/kg 体重(918～1,125 mg/頭/日に相当)、2回/日）し、組織及び乳汁中残留を調べた。¹⁴C標識モネンシン投与量は、徐放化製剤による1日投与量の3倍である。搾乳は約12時間ごとに2回/日行い、最終投与6時間後の乳汁及び組織中総放射活性をLSCにより調べた。さらに、乳汁、肝臓及び腎臓については未変化体モネンシンAをHPLCで、乳汁及び肝臓については未変化体モネンシンA及び主要代謝物をLC/MSで分析した。

腎臓、筋肉及び脂肪中の放射活性は、低すぎたため代謝物を同定することができなかった。乳汁中の総残留量は、投与5日後に定常状態に達した（平均濃度範囲43～48 µg/kg）。定常状態時の乳汁中の未変化体濃度はHPLCの定量限界（5 µg/kg）未満であった。乳汁抽出物の質量分析により、モネンシン及び代謝物M6（脱メチル化ケト誘導体、脱カルボキシル化物）が同定された。モネンシンは、乳汁中の総放射活性の約2%を示した。乳汁中の総放射活性の約26.5%は内因性の脂肪酸に取り込まれていた。

採取された組織のうち、平均総残留が最も高かったのは肝臓（1,280 µg/kg）で、続いて腎臓（70 µg/kg）、脂肪（20 µg/kg）、筋肉（検出限界(20 µg/kg)未満）であった。肝臓及び腎臓中の未変化体の濃度はHPLCの定量限界（25 µg/kg）未満であった。

肝臓抽出物のLC/MS分析により、モネンシン並びに代謝物M1（脱メチル

化及び水酸化誘導体)、M2 (脱メチル化及び水酸化誘導体にさらに E 環の水酸化を伴う。) 及び M6 が同定され、それぞれ総放射活性 (抽出可能な放射活性の約 75%) の約 6.8、4.5、4.5 及び 18%であった。組織及び乳汁中の大部分の代謝物はモネンシンの極性誘導体で未同定であると報告された。(参照 3)

去勢雄牛及び未経産雌牛に ^{14}C 標識モネンシンを 0.76~1.4 mg/kg 体重/日 及び 0.83 mg/kg 体重/日 (300~330 mg/頭) で 5 又は 2 日間ゼラチンカプセルで経口投与した。

投与 12 時間後の総残留量の結果は、上記の本試験で得られたものと質的に同様で、肝臓で最も多く、脂肪で最も少なかった。

TLC/微生物学的分析法により定量された未変化体モネンシンは、肝臓中の総残留量の 3~6%であった。(参照 3)

乳牛 (6 頭) に 22 日間徐放化カプセル 2 個を投与した。薬物放出速度は、408.5~469.9 mg/日であった。同時に、モネンシンを混餌投与 (36 ppm(1,536.8~1,803.7 mg/頭/日に相当: 飼料添加物としての 1 日推奨用量の 4~5 倍)) した。投与期間中の 0、15 及び 22 日に搾乳し、22 日 (最終投与 0 日後) に肝臓及び腎臓を採取した。乳汁及び組織中のモネンシン A を HPLC により測定した。

乳汁中の濃度は、全ての試料で定量限界 (5 µg/kg) 未満であった。4 頭の肝臓ではモネンシン A が検出され、55.1、69.6、45.8 及び 84.5 µg/kg であった。腎臓中濃度は定量限界 (25 µg/kg) 未満であった。(参照 3)

泌乳牛 (16 頭) に最大治療用量のモネンシンを 7 日間経口投与 (0.9 mg/kg 体重/日、ゼラチンカプセルにより 0.45 mg/kg 体重を約 12 時間間隔で 2 回/日) した。最終投与 6、12 及び 24 時間後に各 4 頭から肝臓、腎臓、筋肉及び脂肪を採取した。投与前並びに最終投与 6、12 及び 24 時間後の搾乳時に 8 頭から乳汁を採取した。組織及び乳汁中のモネンシン A 濃度を HPLC/MS/MS で調べた。定量限界は、組織中 1 µg/kg、乳汁中 0.25 µg/kg であった。

モネンシン A は組織及び乳汁中にごく低濃度で検出されたのみであった。最高濃度は肝臓でみられ、検出値は 10.46 µg/kg (6 時間後)、6.70 µg/kg (12 時間後) 及び 5.43 µg/kg (24 時間後) であった。次いで、脂肪から 5.24 µg/kg (6 時間後) 及び 1.41 µg/kg (12 時間後) が、腎臓から 1.03 µg/kg (6 時間後、1 サンプル) が検出された。投与 12 時間後の腎臓及び 24 時間後の脂肪中のモネンシン A 濃度は全てのサンプルで定量限界未満であった。筋肉ではいずれの時点においてもモネンシンは検出されなかった。

乳汁中には 2 回目の搾乳までごく低濃度の未変化体モネンシンが検出され、1 回目の搾乳時には 0.54 µg/kg~定量限界未満、2 回目の搾乳時には 0.32 µg/kg~定量限界未満であった。(参照 3)

牛（3頭）に¹⁴C 標識モネンシン 330 mg 含有カプセルを 5 日間投与し、最終投与 12 時間後に組織を採取した。

肝臓で、最も高い濃度（0.2～0.4 mg/kg）の放射活性が検出され、筋肉、脂肪、腎臓及び心臓では 0.021 mg/kg 未満であった。（参照 3）

未経産牛及び去勢牛（ヘレフォード種、体重 365～464 kg）に¹⁴C 標識モネンシンを 2 日間混餌投与（試験①、300 mg）及び 5 日間混餌投与（試験②、150～165 mg/回（33 ppm に相当）、朝夕 2 回/日）し、最終投与 12 時間後にと殺した。

試験①では、放射活性の検出限界はモネンシンに換算して 0.02～0.05 mg/kg で、筋肉、腎臓、脂肪、心臓、肺、脾臓及び血液には検出されず、肝臓のみに 0.59 mg/kg が検出されたが、モネンシンはこのうち 2～3%に過ぎないと考えられた。

試験②では、肝臓中の総放射活性は、3 頭についてモネンシンに換算し 0.214～0.425 mg/kg で、このうちモネンシンは 0.005～0.015 mg/kg であった。他の組織では有意な放射活性は測定されなかった。（参照 7）

子牛（ホルスタイン種、9～16 週齢、体重 54.5～119 kg、雌雄各 2 頭/時点）にモネンシンナトリウムを添加（0.9 mg/kg 体重/日）した人工乳¹を 28 日間投与した。最終投与 6、24 及び 48 時間後にと殺して肝臓、腎臓、筋肉及び脂肪を採取し、HPLC により各組織中モネンシン濃度を測定した。いずれの時点のいずれの組織においても検出限界（9.27 ng/g）未満であった。（参照 9）

子牛（ホルスタイン種、19～28 日齢、雄 4 頭/群）にモネンシンナトリウムを添加（30 又は 60 ppm、それぞれ 0.39～1.07 mg/kg 体重/日及び 0.72～2.12 mg/kg 体重/日に相当）した代用乳²及び人工乳を投与した。代用乳は投与開始から 28 日間、人工乳は投与開始から 74 日間投与した。人工乳最終投与 2 日後に、肝臓、腎臓、筋肉、小腸及び脂肪を採取して、LC/MS/MS により各組織中モネンシン濃度を測定した。

結果を表 2 に示した。30 ppm 投与群では、測定した組織の全例で定量限界（肝臓及び腎臓 4.00 µg/kg、筋肉、小腸及び脂肪 2.50 µg/kg）未満であった。60 ppm 投与群では、小腸の 4 例中 1 例のみでモネンシンが検出（5.55 µg/kg）され、他の組織では全例で定量限界未満であった。（参照 9）

¹ 生後おおむね 3 か月以内の牛の育成の用に供する飼料であって、代用乳以外の固形状で給与する飼料

² 生後おおむね 3 か月以内の牛の育成の用に供する飼料であって、脱脂粉乳を主原料とし、液状に溶解して給与する飼料

表 2 子牛におけるモネンシンナトリウムの 74 日間投与 2 日後の組織中残留濃度

添加濃度 (ppm)	残留濃度(μg/kg)				
	肝臓	腎臓	筋肉	小腸	脂肪
30	<LOQ ^a	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
60	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ～5.55 ^b	<LOQ

a <LOQ: 定量限界 (肝臓及び腎臓 4.00 μg/kg、筋肉、小腸及び脂肪 2.50 μg/kg) 未満 (n=4)

b 4 例中 1 例のみが 5.55 μg/kg

(2) 残留試験 (羊及び山羊)

子羊に放射標識モネンシンを 3、5 又は 7 日間混餌投与 (16.5 ppm) した。

最終投与 12 時間後における肝臓中の平均残留放射活性濃度は 0.20～0.36 mg eq/kg で、未変化体濃度は 0.05 mg/kg 未満であった。他の組織中放射活性濃度は、いずれも 0.027 mg eq/kg 未満であった。(参照 4)

子羊に非標識モネンシンを 118 日間混餌投与 (飼料中濃度 0、11、22 及び 33 ppm) し、最終投与 0、24 及び 48 時間後における残留を調べた。

残留は最終投与 0 (0.05～0.1 mg/kg) 及び 24 時間後 (定量限界(0.05 mg/kg) 未満) の肝臓にのみ検出され、筋肉、脂肪及び腎臓では検出されなかった。(参照 4)

山羊に非標識モネンシンを混餌投与 (0、22 及び 33 ppm) し、最終投与 0 及び 5 日後における残留を調べた。

残留は投与群の最終投与 0 日後の肝臓にのみ検出され、1 サンプルのみが定量限界 (0.04 mg/kg) 以上であった。最終投与 5 日後のサンプルではモネンシンは検出されなかった。(参照 4)

(3) 残留試験 (豚)

豚に放射標識モネンシンを混餌投与 (55 ppm) した。

いずれの休薬時点においても肝臓で最高の放射活性濃度が測定された。最終投与 0 日後の肝臓中濃度は雄で 1.67 mg/kg であり、雌で 1.20 mg/kg であった。その他の組織の総放射活性濃度は非常に低かった。(参照 4)

豚に放射標識モネンシンを 2.5 日間経口投与 (50 ppm) した。最終投与 4 時間後では肝臓に最高の総放射活性 (1.0～1.4 mg/kg) が検出された。他の組織の残留濃度は低かった。(参照 4)

豚 (6 頭) に放射標識モネンシンを 5 日間混餌投与 (110 ppm) し、最終投与 6 時間後並びに 3 及び 5 日後に組織を採取した。

最終投与 6 時間後における肝臓中濃度は 2.3 mg/kg で、最終投与 5 日後には 0.44 mg/kg まで減少した。腎臓では最終投与 6 時間後には 0.17 mg/kg で、最終投与 5 日後には 0.05 mg/kg まで減少した。その他の組織の濃度は一様に低く、0.05 mg/kg 未満であった。モネンシンは、いずれの時点の組織でもバイオオートグラフィー（検出限界：0.025～0.050 mg/kg）及び HPLC（検出限界：0.005 mg/kg）による分析では検出されなかった。（参照 4）

豚を用いた非標識モネンシンの混餌投与（100 ppm）試験において、バイオオートグラフィー（検出限界：筋肉 0.05 mg/kg、肝臓、腎臓及び脂肪 0.025 mg/kg）による測定では、いずれの組織においてもモネンシンは検出されなかった。（参照 4）

（4）残留試験（鶏）

鶏（雌雄各 3 羽/時点）に ^{14}C 標識モネンシンナトリウムを 6 日間混餌投与（125 ppm）し、最終投与 5 日後までの組織中残留を調べた（表 3）。（参照 5）

表 3 鶏における ^{14}C 標識モネンシンナトリウム 6 日間混餌投与後の組織中総残留濃度

最終投与後 日数	残留濃度(mg/kg)			
	肝臓	腎臓	筋肉	皮膚/脂肪
0	0.94	0.2	0.06	0.29
1	0.47	0.14	0.05	0.17
3	0.27	0.09	0.05	0.23
5	0.14	0.05	0.04	0.17

定量限界：0.025 mg/kg

鶏（肉用鶏）に ^{14}C 標識モネンシンナトリウムを 4 日間（雄 2 羽、雌 3 羽）又は 6 日間（雌雄各 3 羽）混餌投与（120 ppm）した。

最終投与 6 時間後、放射活性が肝臓、腎臓、脂肪及び皮膚中に検出され、最高値は肝臓中（0.5 mg/kg）に検出された。筋肉には放射活性は検出されなかった。（参照 2）

鶏（雄、5 羽/群）にモネンシン製剤を推奨用量で生存期間を通じて混餌投与（120 ppm）し、最終投与 0、1、2 及び 3 日後の組織中濃度を定量的 TLC を用いて調べた。検出限界は、脂肪及びその他の組織（肝臓、腎臓及び筋肉）で、それぞれ 0.01 及び 0.0125 mg/kg であった。

残留濃度は脂肪で最も高く、次に肝臓であった。最終投与 1 日後には、脂肪以外の組織では検出されず、最終投与 2 日後にはいずれの組織からも検出されなかった（表 4）。（参照 5）

表 4 鶏におけるモネンシン製剤の混餌投与後の組織中残留濃度

最終投与後 日数	残留濃度(mg/kg)			
	肝臓	腎臓	筋肉	脂肪
0	0.039	0.014	0.029	0.110
1	<LOD	<LOD	<LOD	0.017
2	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
3	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD

LOD（検出限界）：脂肪 0.01 mg/kg、その他の組織 0.0125 mg/kg

鶏（316 日齢）にモネンシンを 42 日間混餌投与（80 ppm）し、3 週（15～21 日）後に採取した卵中の残留を調べた。

全ての卵に残留がみられたが、濃度は 0.05 mg/kg 以下（定量限界：0.025 mg/kg）で、この期間中に増加はみられなかった。（参照 5）

鶏（雌 0 日齢）にモネンシンを 40 日間は飼料中濃度 120 ppm で、続く 42 日間は 100 ppm で、最後に、産卵が始まる 140 日齢（20 週）までは 80 ppm で混餌投与した。最終投与の 1 日前から最終投与 6 日後（139～146 日齢）まで卵を採取した。

最終投与 5 日後までは、ごく少数の卵に限り 0.05 mg/kg 以下の残留が認められた。（参照 5）

鶏（雌雄各 3 羽）にモネンシン製剤を 35 日間混餌投与（125 ppm）し、組織中残留を LC/MS/MS により測定した（検出限界：0.006 mg/kg）。

最終投与 0 日後に最も高い残留濃度を示したのは皮膚/脂肪で、次いで腎臓、肝臓、筋肉の順であった。最終投与 1 日後には、皮膚/脂肪にのみ残留が検出された（表 5）。（参照 6）

表 5 鶏におけるモネンシン製剤の 35 日間混餌投与後の組織中残留濃度

最終投与後 日数	残留濃度(mg/kg) ^a			
	肝臓	腎臓	筋肉	皮膚/脂肪
0	0.027	0.058	0.010	0.313
1	<LOD ^b	<LOD	<LOD	0.145
2	<LOD	<LOD	<LOD	0.055
4	<LOD	<LOD	<LOD	0.031

a 6 羽（雌雄各 3 羽）の平均値

b LOD（検出限界）：0.006 mg/kg

（5）残留試験（七面鳥）

七面鳥にモネンシン製剤を 84 日間混餌投与（100 ppm）し、組織中残留を LC/MS/MS により測定した（検出限界：0.006 mg/kg）。

結果を表 6 に示した。

七面鳥の組織中残留濃度は、鶏より低かったが、皮膚/脂肪は例外であり、その異常な値のために結論を出すことはできなかった。(参照 6)

表 6 七面鳥におけるモネンシン製剤の 84 日間混餌投与後の組織中残留濃度

最終投与後 日数	残留濃度(mg/kg) ^a			
	肝臓	腎臓	筋肉	皮膚/脂肪
0	0.003	0.008	< 0.008	0.186
1	< LOD ^b	< LOD	0.009	0.670
2	< LOD	< LOD	< LOD	0.064
4	< LOD	< LOD	< LOD	0.136

a 6 羽（雌雄各 3 羽）の平均値

b LOD（検出限界）：0.006 mg/kg

七面鳥に ¹⁴C 標識モネンシンナトリウムを 5 日間混餌投与（110 ppm）し、最終投与 6 時間後（実質上の休薬 0 日）の組織中残留を調べた。

肝臓、腎臓及び筋肉中の残留濃度は上記の鶏の場合、表 1 と同様であったが、脂肪及び皮膚/脂肪中の濃度は鶏よりかなり低かった。休薬期間に沿った残留物全体に関する動態データは得られていない（表 7）。(参照 5)

表 7 七面鳥における ¹⁴C 標識モネンシンナトリウム 5 日間混餌投与後の組織中総残留濃度

最終投与後 日数	残留濃度(mg/kg)			
	肝臓	腎臓	筋肉	皮膚/脂肪
0	0.91	0.16	< 0.025*	0.09

*検出限界値

（6）残留試験（うずら）

うずらにモネンシンを 8 週間混餌投与（80 ppm）し、最終投与後休薬期間なしでの残留を薄層バイオオートグラフィー（定量限界：0.04 mg/kg）により調べた。

モネンシンはいずれの肝臓サンプルからも検出されなかった。(参照 4)

（7）残留マーカーについて

EMEA は、残留試験の結果からモネンシン A が残留マーカーとして最適であるとしている。放射標識物質を用いた試験で測定された総残留量に対する残留マーカーの比率は、肝臓で約 6.8%であった。残留マーカーの濃度が低過ぎるため正確な比率を決定することはできないが、全ての組織で一様に 5%というような低い比率であると考えられた。乳汁中の比率は 2.7%であった。(参照 3)

3. 遺伝毒性試験

モネンシンの遺伝毒性に関する各種 *in vitro* 及び *in vivo* 試験の結果を表 8 及び 9 に示した。(参照 2、5、6、7)

表 8 *in vitro* 試験

試験	対象	用量	結果
復帰突然変異試験	<i>Salmonella typhimurium</i> TA98、TA100、 TA1535、TA1537 <i>Escherichia coli</i> WP2uvrA	結晶モネンシンナトリウム 312.5～5,000 µg/プレート (±S9)	陰性
復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> G46、TA1535、TA100、 TA1537、TA1538、 TA98、D3052、C3076 <i>E. coli</i> WP2、WP2uvrA	モネンシン A ナトリウム及 び B ナトリウム ; 0.1～ 1,000 µg/mL(±S9)	陰性
	<i>S. typhimurium</i> TA1535、TA1537、 TA100、TA102	モネンシンナトリウム : 31.25、62.5、125、250、 500 µg/プレート(±S9)	陰性 ¹⁾
DNA 修復試験 (Rec-assay)	<i>Bacillus subtilis</i> H-17、M-45	—	陰性
遺伝子突然変異 試験	マウスリンフォーマ細胞 L5178Y TK ^{+/+}	モネンシンナトリウム : 3.13、6.25、12.5、25、 50、66.6 µg/mL(3時間)(± S9) 0.002、0.006、0.019、 0.06、0.17、0.5 µg/mL(24 時間)(±S9)	陰性 ²⁾
染色体異常試験	チャイニーズハムスター 卵巣由来(CHO)細胞 (WB _L)	結晶モネンシンナトリウ ム; 25、50、100 µg/mL(4時 間) (-S9) 50、80、100 µg/mL(4時間) (+S9) 5、10、25 µg/mL(19時間) (- S9)	陰性 ³⁾
	ヒトリンパ球培養細胞	モネンシンナトリウム : 2.69、5.39、10.78、 21.56、43.13、86.25、 172.5、345 µg/mL(±S9) 0.04、0.12、0.37、1.11、 3.33、10 µg/mL(±S9)	陰性 ⁴⁾

1) >125 µg/プレートにおいて、沈殿が観察された。

2) 24 時間処理の高用量 3 群及び 3 時間処理の高用量 2 群では毒性が観察された。

3) 低用量(-S9)並びに中間及び高用量(+S9)の 4 時間で倍数体増加。19 時間(-S9)では倍数体増加なし。

4) 高用量では毒性及び沈殿が観察された。

表 9 *in vivo* 試験

試験	対象	用量	結果
小核試験	ICRマウス(雌雄各5匹/群)	結晶モネンシンナトリウム 181.3、362.5、725.0 mg/kg、 2日間強制経口投与	陰性
	マウス	モネンシンナトリウム： 5.625、11.25、22.5 mg/kg 体重、2日間経口投与	陰性
	マウス	モネンシンナトリウム： 500、1,000、2,000 mg/kg 体重(限界用量)単回経口投 与 62.5、125、250 mg/kg体 重、3日間経口投与	陰性 ⁵⁾

5) 被験物質の純度は少なくとも 95%以上であることが保証されていたが、2,000 mg/kg 体重の用量については、急性毒性試験のデータと不一致であった。

各種遺伝毒性試験の結果はいずれも陰性であったが、*in vitro* のチャイニーズハムスター卵巣由来細胞を用いた染色体異常試験では、S9 非存在下の低用量並びに S9 存在下の中間及び高用量の 4 時間培養において倍数体を有する細胞が増加した。S9 非存在下では、培養時間を 19 時間に延長すると倍数体はみられなかった。倍数体は核内倍加の誘導を示すものであると考えられ、通常、染色体の倍数性はがんの発生に関連していないとされている。いずれの処理条件においても、染色体異常の増加は示されなかった。(参照 3、6)

以上より、モネンシンは、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。

4. 急性毒性試験

各種動物におけるモネンシンナトリウムの急性毒性試験結果を表 10 に示した。(参照 2、3、5、7)

表 10 各種動物におけるモネンシンナトリウムの急性毒性試験結果

動物種	モネンシンの形態	投与経路	LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)
マウス (ICR)	結晶	経口	雄 368.0 (299.2～452.6) 雌 330.0 (279.7～389.4)
			雄 350.0 (285.7～428.8)
	菌糸体	経口	雄 302.0 (221.6～411.7) 雌 230.1 (176.9～299.2)
		経口	雄 70 雌 96
ラット (Wistar)	結晶	経口	雄 318.0 (265.9～380.3) 雌 238.0 (159.9～289.2)
	菌糸体	経口	雄 290.4 (237.7～354.6) 雌 205.1 (171.5～245.2)
		経口	雄 40 雌 22、24
ウサギ (NZ albino)	結晶	経口	雌雄 42
アカゲザル	菌糸体	経口	雄 >160 雌 >160
イヌ	精製物	経口	雄 >20 雌 >10
牛	—	経口	22～80
羊	—	経口	約 12
山羊	—	経口	26.4
豚	—	経口	17～50
馬	結晶 菌糸体	経口	2～3 1.38
鶏	—	経口	130～250
七面鳥	—	経口	346～416

感受性は、種間で大きく異なるが、試験に供した全ての動物における毒性徴候は類似しており、死亡、食欲不振、自発運動の低下、骨格筋の筋力低下、歩行失調、下痢及び体重増加抑制であった。総じて、雌は雄より感受性が高かった。毒性影響にモネンシンの形態（結晶又は菌糸体）による有意な違いはみられなかった。

5. 亜急性毒性試験

(1) 3 か月間亜急性毒性試験（マウス）

マウス（B6C3F1、5～6 週齢、雌雄各 15 匹/群）に菌糸体モネンシンナトリウムを 3 か月間混餌投与（0、5.6、11.2、22.5 及び 45 mg/kg 体重/日）した。体重及び臓器重量の測定並びに血液学、血液生化学及び病理組織学的検

査を実施した。

用量依存的な体重増加抑制が全投与群にみられた。試験終了時における体重増加の抑制率は、5.6 mg/kg 体重/日投与群の雌雄のそれぞれ 27 及び 21% から、45 mg/kg 体重/日投与群の雌雄の 99%までの範囲であった。平均体重も、5.6 mg/kg 体重/日投与群の雌雄でそれぞれ 5 及び 8%から、45 mg/kg 体重/日投与群の雌雄でそれぞれ 29 及び 35%まで低下した。5.6 mg/kg 体重/日投与群の雄の体重及び体重増加量の低下を除き、全ての変化は統計学的に有意であった。

雌雄の肝臓、腎臓（副腎を含む）及び心臓の重量、雌の脾臓及び卵巣の重量並びに雄の精巣重量が 11.2 mg/kg 体重/日以上投与群において有意に低下したが、この低下は体重の用量依存的な低下によるものと考えられた。

WBC の低下が全投与群の雌及び 11.2 mg/kg 体重/日投与群の雄にみられた。RBC、Hb 及び Ht の低下が 45 mg/kg 体重/日投与群の全例及び 22.5 mg/kg 体重/日投与群の多数例でみられた。WBC 及びリンパ球百分率の低下並びに好中球百分率の増加が 11.2 mg/kg 体重/日投与群の雄にみられた。

血清 CPK の上昇が 22.5 及び 45 mg/kg 体重/日投与群の雄並びに 45 mg/kg 体重/日投与群の雌で明らかであった。血液学的検査値の変化は、血液生化学的検査値の変化とともに重度な成長への影響に伴う二次的なものと考えられた。

心筋線維の軽度のび慢性空胞化が 45 mg/kg 体重/日投与群の雄 8 例及び雌 2 例並びに 5.6 mg/kg 体重/日投与群の雄 1 例にみられた。

全投与群で体重増加に影響がみられたために、本試験における NOAEL は設定できなかった。（参照 2、3、5）

（2）3 か月間亜急性毒性試験（ラット）

ラット（Wistar 系、雌雄各 15 匹/群）に菌糸体モネンシンナトリウムを 90 日間混餌投与（飼料中濃度 50、150 及び 500 ppm(3～5、5～15 及び 39～47 mg/kg 体重/日に相当)）した。

用量依存的な体重増加抑制がみられ、中用量以上投与群で統計的に有意であった。雌では雄より影響が重篤であった。

高用量投与群で摂餌量及び食餌効率の両方が低下した。高用量投与群の死亡率は雌が 80%であり、雄が 40%であった。

血液学的検査により、高用量投与群の雄で Ht 及び WBC が減少した（雌は生存数が少なかったため統計学的に有効な解析ができなかった。）。

血液生化学的検査では有意な変化はみられなかった。臓器比重量の変化は顕著ではなく、おそらく全般的な成長の低下に関係すると思われた。

病理組織学的検査では、高用量投与群のみに被験物質に関連した有意な異常がみられた。骨格筋の筋炎、び慢性の変性及び組織球の浸潤を伴う心筋の変化がみられ、横隔膜筋線維の変性がみられた場合もあった。

体重増加への影響に基づき、本試験における NOAEL は 3 mg/kg 体重/日と考えられた。(参照 5、7)

ラット (Wistar 系、雌雄各 15 匹) に各種形態 (結晶又は 2 重ドラム乾燥、共沸蒸留若しくは気流乾燥した菌糸体) のモネンシンナトリウムを 3 か月間混餌投与 (0、2.5、10 及び 20 mg/kg 体重/日) した。

2 重ドラム乾燥菌糸体及び共沸蒸留菌糸体 20 mg/kg 体重/日投与群の雌 4 例、気流乾燥菌糸体 20 mg/kg 体重/日投与群の雄 1 例及び共沸蒸留菌糸体 10 mg/kg 体重/日投与群の雌 1 例が死亡した。死亡原因は特定できなかったが、投与との関連性は排除できなかった。

体重増加抑制が 10 mg/kg 体重/日以上投与群の全例及び菌糸体 2.5 mg/kg 体重/日投与群の雌に観察された。

摂餌量は、10 及び 20 mg/kg 体重/日投与群において菌糸体を投与した雌の方が結晶を投与した雌より少なかったが、体重増加量は同程度であった。10 及び 20 mg/kg 体重/日投与群の雄では、菌糸体投与群の方が結晶投与群より摂餌量及び体重増加量が少なかった。

血液学/血液生化学的検査及び臓器重量にみられた変化は、成長に対する影響の二次的なものであると考えられた。

病理組織学的検査により、限局性間質性心筋炎及び心筋変性が確認されたが、対照群との間に発生率の差はなく、モネンシンの形態による差もなかった。横隔膜及び骨格筋の限局性の変性及び間質性筋炎が 20 mg/kg 体重/日投与群の雌に高率で生じたが、重症度は低かった。

最低用量の 2.5 mg/kg 体重/日投与群でみられた体重増加抑制により、本試験における NOAEL は設定できなかった。(参照 2)

ラット (Wistar 系、4～6 週齢) を用いてモネンシンの結晶と菌糸体の毒性影響の違いを比較した。対照群の雌雄各 25 匹には対照飼料を給餌し、投与群の雌雄各 15 匹には結晶又は菌糸体モネンシンナトリウムを 3 か月間混餌投与 (50、200 及び 400 ppm(2.5、10 及び 20 mg/kg 体重/日に相当)) した。健康状態及び行動の観察、体重及び臓器重量の測定、血液学/血液生化学的検査、並びに肉眼的及び病理組織学的検査を実施した。

試験期間中の死亡は、対照群の雄 1 例及び 20 mg/kg 体重/日投与群の雌 3 例 (結晶投与の 1 例及び菌糸体投与の 2 例) であった。

重度の体重増加抑制が両形態のモネンシン 10 mg/kg 体重/日以上投与群に観察された。2.5 mg/kg 体重/日投与群の雌に試験開始 2 週間で軽度で一過性の体重増加抑制が観察された。10 mg/kg 体重/日以上投与群において、臓器重量の減少が観察されたが、これは体重増加抑制の結果と考えられた。

血液学的検査では、両形態の 20 mg/kg 体重/日投与群の雄で WBC が減少したこと以外、全例で正常であった。

血液生化学的検査の結果、両形態の 20 mg/kg 体重/日投与群の雌雄で、T.Bil 及び ALP が増加し、Glu 及び Cre が低下した。10 mg/kg 体重/日投与群の雌にも同様の変化が観察された。全投与群の雌で ALT の低下がみられた。

病理組織学的検査において、両形態の全投与群で、特に雄で、変性、壊死及び単核球の浸潤を伴った心筋線維の散在性の病巣の発生が認められたが、これは有害影響ではなく、対照群と同程度に発生していると結論された。

2.5 mg/kg 体重/日投与群の雌において、軽度で一過性の体重増加抑制がみられ、その上の 10 mg/kg 体重/日投与群では重度で非一過性となったため、本試験の NOAEL は設定できなかった。(参照 2)

ラット (Wistar 系、3 週齢、雌雄各 10 匹/群) に精製モネンシンナトリウムを 3 か月間混餌投与 (0、50、100、200 及び 400 ppm(雄 0、2.62、5.1、11.4 及び 26.1 mg/kg 体重/日、雌 0、3.78、8.08、20.68 及び 33.92 mg/kg 体重/日に相当)) した。

400 ppm 投与群の雄 1 例が死亡し、200 及び 400 ppm 投与群では体重増加量及び食餌効率が有意に低下した。

血液生化学的検査では、200 及び 400 ppm 投与群の雌に Glu の軽度低下、400 ppm 投与群の雌に ALT の増加傾向が観察された。臓器比重量は、200 及び 400 ppm 投与群の心臓、腎臓等で有意に増加した。

各投与群ともに剖検及び病理組織学的検査では投与に関連すると思われる影響は認められなかった。

本試験における NOAEL は、雄 5.1 mg/kg 体重/日、雌 8.08mg/kg 体重/日と考えられた。(参照 7)

ラット (Wistar 系、4～6 週齢、雌雄各 15 匹) に菌糸体モネンシンナトリウムを 3 か月間混餌投与 (0、25、50、80 及び 125 ppm(雄 0、0.89～2.45、1.83～4.63、3.02～7.71 及び 4.54～12.05 mg/kg 体重/日、雌 0、1.30～2.55、2.75～5.83、4.04～12.83 及び 10.17～20.21 mg/kg 体重/日に相当)) した。身体的及び行動の変化の観察、成長、摂餌量及び臓器重量の測定、血液学的及び血液生化学的検査、並びに病理組織学的検査を実施した。

全例が試験期間を通じて生存し、外観及び行動は正常であった。

平均体重の用量依存的な一過性の減少が 50、80 及び 125 ppm 投与群の雌に観察され、これらの動物では、試験の最初の 2 週間に体重増加抑制がみられた。125 ppm 投与群の雄においても最初の 2 週間に体重増加抑制がみられた。125 ppm 投与群の全例並びに 50 及び 80 ppm 投与群の雌の摂餌量は試験の最初の 1 週間に減少し、80 ppm 投与群の雌では投与開始 2 及び 3 週間後にも摂餌量が減少した。

血液学的検査及び血液生化学的検査では、投与に関連する変化はみられなかった。対照群及び投与群の、特に雄において、心臓及び骨格筋に微少な病変

が観察されたが、その発生率及び重症度には用量依存性はなかった。

体重及び摂餌量への影響から、本試験における NOAEL は 25 ppm と考えられた。正確な投与量は、測定した飼料中モネンシンの濃度の幅が広いため特定できなかった。(参照 2)

ラット（雌雄各 10 匹/群）にモネンシンナトリウムを 13 週間混餌投与（0、0.5、1.5 及び 5 mg/kg 体重/日）した。意図した用量に到達させるために混餌濃度を 2 週間毎に調整したが、全ての投与群で意図した用量より約 20% 少なかった。

病理組織学的検査は、0 及び 5 mg/kg 体重/日投与群のみ実施した。

1.5 mg/kg 体重/日以上投与群で WBC の有意な減少がみられ、雄より雌でより顕著であった。これは循環リンパ球及び単球の減少と関連していた。

その他に投与による影響はみられなかった。

本試験における NOAEL は、0.5 mg/kg 体重/日（実際の投与量は 0.4 mg/kg 体重/日）と考えられた。(参照 6)

（3）3 か月間亜急性毒性試験（イヌ）

イヌ（ビーグル種、12～18 か月齢、雌雄各 2 匹/群）に菌糸体モネンシンナトリウムをカプセルで 91 日間経口投与（0、5、15 及び 50 mg/kg 体重/日）した。

50 mg/kg 体重/日投与群の雄 2 例が死亡し、15 mg/kg 体重/日投与群の雄 1 例が試験開始 2 週間以内にと殺された。これらの動物では、筋線維の変性、マクロファージの浸潤及び内臓のうっ血を伴った心筋障害が認められた。

15 及び 50 mg/kg 体重/日投与群の被験動物は、頻繁に嘔吐し、体重低下、筋力低下、運動失調、不整脈、痙攣及び散瞳を示した。

15 及び 50 mg/kg 体重/日投与群で血清 LDH 及び ALT が一過性に上昇した以外は血液学的及び血液生化学的検査並びに尿検査では全例が正常であった。

病理学的検査では、試験終了時点で 15 及び 50 mg/kg 体重/日投与群の雄及び 50 mg/kg 体重/日投与群の雌において、筋線維のび慢性変性や組織球の浸潤等の横紋筋の変化がみられた。

全投与群で体重の軽度の低下が観察されたが、その他の影響はみられなかった。

毒性影響が最低用量の 5 mg/kg 体重/日でみられたため、本試験の NOAEL は設定できなかった。(参照 2)

イヌ（雑種、年齢不明、雌雄各 2 匹/群）にモネンシンナトリウムを 90 日間経口投与（0、2.5、5、11 及び 25 mg/kg 体重/日、カプセル）した。

11 mg/kg 体重/日投与群の雌 1 例及び 25 mg/kg 体重/日投与群の雄 2 例が投与により死亡した。

25 mg/kg 体重/日投与群の雌に歩行失調、振戦、筋制御の消失及び瞬膜の軽度の弛緩が生じたため、5 日以降は投与を中止した。

11 mg/kg 体重/日以下投与群の生残した雌雄には毒性徴候はみられなかった。11 mg/kg 体重/日投与群の血清 ALT の一過性の上昇を除き、全例の血液学的及び血液生化学的検査、尿検査、臓器重量並びに剖検所見は正常であった。

本試験における NOAEL は、5 mg/kg 体重/日と考えられた。(参照 2)

イヌ（雌雄各 4 匹/群）にモネンシンナトリウムを 13 週間混餌投与（0、83、167 及び 250 ppm）した。250 ppm 投与群は、最初の 5 日間は 400 ppm の混餌投与を行ったが、毒性がみられたため投与量を減じた。この群の全ての動物が死亡又は一般状態の悪化により、試験終了前に剖検に供された。また、18（雄）及び 16（雌）ppm の混餌投与による追加試験を実施した。

250 ppm 投与群では活動低下及び運動失調がみられた。167 ppm 投与群の雌 1 例で投与 11 日後に活動低下がみられ、投与 18 日後まで投与を中止した結果、十分に回復した。83 ppm 投与群では一般状態に投与に関連した影響はみられなかった。摂餌量及び体重は全ての群で試験期間を通じて同様であった。血液学的及び血液生化学的検査では投与群の間でわずかな差が観察されたが、投与に関連したものとは考えられなかった。ECG には群間で差はなかった。

250 ppm 投与群を除く全ての動物で剖検及び選択された臓器の重量測定が行われたが、投与による影響はみられなかった。

病理組織学的検査は、0 及び 83 ppm 投与群並びに 250 ppm 投与群の死亡例について実施された。これら全ての群において、筋変性の所見がみられたため、さらに低い用量の群を追加した。この群の筋肉組織の病理組織学的検査では筋変性の所見はみられなかった。

本試験における NOAEL は、本試験の最低用量である 83ppm（雄 0.6 mg/kg 体重/日、雌 0.5 mg/kg 体重/日に相当）と考えられた。(参照 6)

6. 慢性毒性及び発がん性試験

(1) 1 年間慢性毒性試験（ラット①）

ラット（Wistar 系、雌雄各 60 匹/対照群、雌雄各 45 匹/投与群）に結晶モネンシンナトリウムを 1 年間混餌投与（0、2.5、12.5 及び 25 ppm）した。

1 年間に死亡又はと殺したものと 1 年後無作為に抽出して剖検したものの合計を、対照群は雌雄各 25 匹、投与群は雌雄各 20 匹とし各種検査を行った。

生存率、体重増加量、摂餌量及び一般状態に投与による影響は認められなかった。

と殺例の血液学及び血液生化学的検査では、投与による影響は認められず、

臓器重量では、腎臓及び副腎重量の増加が一部にみられたが用量相関性はなかった。

死亡例及びと殺例の病理組織学的検査では、病変の種類及び発生頻度とも対照群と差はなく、最高用量の飼料中濃度 25 ppm まで、投与による影響は認められなかった。

本試験における NOAEL は、最高用量である飼料中濃度 25ppm と考えられた。(参照 7)

(2) 52 週間慢性毒性試験 (ラット②)

ラット (雌雄各 20 匹/群) にモネンシンナトリウムを 52 週間混餌投与 (0、0.46、1.36 及び 4.59 mg/kg 体重/日) した。

4.59 mg/kg 体重/日投与群の雌 1 例が投与 47 週後に一般状態の悪化により死亡したが、剖検及び病理組織学的検査において原因は特定できなかった。

13 週間の試験とは異なり、血液学的検査に投与の影響はみられなかった。

血液生化学的試験では、投与 52 週後に於いて、1.36 mg/kg 体重/日以上投与群の雌及び 4.59 mg/kg 体重/日投与群の雄に ALP の有意な上昇がみられた。また、投与 52 週後に全ての投与群の雌雄で Glu が低下したが、投与による影響とはみなされなかった。1.36 mg/kg 体重/日以上投与群の雄で CPK の有意な低下がみられたが、用量相関性はなく、雌では認められなかった。

臓器重量及び剖検所見に群間で差はみられなかった。

肝細胞の空胞化が 1.36 mg/kg 体重/日以上投与群の半数以上の雄及びほとんどの雌にみられたが、0 及び 0.46 mg/kg 体重/日投与群ではみられなかった。この空胞化は形態学的特徴が通常空胞化した肝細胞とは異なっていた。

1.36 mg/kg 体重/日以上投与群でみられた肝細胞の空胞化については、NOAEL が得られているが、これが前腫瘍性変化を示すものであるかを確認するためには更なる検討が必要であるとされ、追加の病理組織学的検査の成績が提出された。この追加の情報から、肝細胞でみられた変化は、モネンシンのリポ蛋白代謝への影響と関連し、リポ蛋白の蓄積を示しているものと考えられた。

高用量投与群よりも低用量投与群についてより詳細に病理組織学的検査を行うという標準的でない手法がとられたものの、主要な標的臓器は全ての投与群で検査されていることから、本試験における NOAEL は、モネンシンナトリウムとして 0.46 mg/kg 体重/日であると考えられた。(参照 6)

(3) 1 年間慢性毒性試験 (イヌ)

イヌ (ビーグル種、5~6 か月齢、雌雄各 4 匹/群) に菌糸体モネンシンナトリウムを 1 年間経口投与 (0、1.25、2.5、5 及び 7.5 mg/kg 体重/日、1 日の半量を朝夕 2 回、カプセル投与) した。摂餌量のデータは報告されなかった。

5 mg/kg 体重/日投与群の 2 例及び 7.5 mg/kg 体重/日投与群の 4 例が活動性

低下、筋力低下（特に脚部及び頸部）、歩行異常（stilted gait）、起立困難及び食欲不振を示したが、2～3 日以内に回復した。

2.5、5 及び 7.5 mg/kg 体重/日投与群の雄に体重増加抑制がみられ、7.5 mg/kg 体重/日投与群については 10%を超えていたが、週間平均体重に統計学的に有意な減少はみられなかった。

臓器重量は投与により変化せず、投与に起因する病理学的変化はみられなかった。

5 及び 7.5 mg/kg 体重/日投与群で投与開始 2 週間に ALT 及び CPK の上昇が観察され、数例は試験期間を通じて両酵素活性が断続的に上昇した

5 mg/kg 体重/日投与群の雌及び 7.5 mg/kg 体重/日投与群の雄で TP が投与 45 週後に低下し、5 及び 7.5 mg/kg 体重/日投与群の雌の血清 Ca が投与 45 及び 52 週後に増加し、これらは投与に関連したものである可能性があると考えられた。

眼科学的検査、血液学的検査、尿検査及び ECG の結果には、投与に直接関連する変化は観察されなかった。

2.5 mg/kg 体重/日投与群の雄で体重増加抑制がみられたことから、本試験における NOAEL は 1.25 mg/kg 体重/日と考えられた。（参照 2）

（4）2 年間慢性毒性/発がん性併合試験（マウス）

マウス（B6C3F1、5～6 週齢、雌雄各 60 匹/群）に菌糸体モネンシンを 2 年間混餌投与（0、10、25、75 及び 150 ppm（雄 0、1.2、3.1、10.2 及び 22.6 mg/kg 体重/日、雌 0、1.4、3.5、11.7 及び 25.6 mg/kg 体重/日に相当））した。

投与に関連した死亡並びに一般状態及び行動の変化は認められなかった。

25 ppm 以上投与群で、体重及び体重増加量が統計学的に有意に減少した。体重増加抑制のため、複数の臓器重量に及ぼすモネンシンの影響について結論を導くことはできなかった。

25 ppm 以上の投与群の雄では、WBC の統計学的に有意で用量依存的な減少がみられた。

150 ppm 投与群で BUN、Cre、TBil、ALT 及び CPK のごくわずかな増加がみられた。

剖検及び病理組織学的検査では、発がん性は認められなかった。

体重及び WBC への影響により、本試験における NOAEL は飼料中濃度 10 ppm（1.2 mg/kg 体重/日に相当）と考えられた。（参照 2）

（5）2 年間慢性毒性/発がん性併合試験（ラット①）

ラット（Wistar 系、5～6 週齢、雌雄各 80 匹/群）に結晶モネンシンナトリウムを 2 年間混餌投与（25、56 及び 125 ppm（雄 1.14、2.57 及び 5.91 mg/kg 体重/日、雌 1.46、3.43 及び 8.68 mg/kg 体重/日に相当））し、対照群（雌雄各 120 匹）には標準飼料を与えた。

生存率には、投与による影響はみられなかった。

体重及び体重増加量は 125 ppm 投与群で有意に低下し、56 ppm 投与群では試験開始から最初の 4 か月間で一過性に低下した。56 及び 125 ppm 投与群では食餌効率が低下し、125 ppm 投与群では平均摂餌量が最初の 5 か月間に減少した。

投与による一般状態への影響は観察されず、投与開始 6、12、18 及び 24 か月後の血液学的及び血液生化学的検査では投与による違いは観察されなかった。投与開始 12 か月後の尿検査の結果は正常であり、臓器の絶対及び比重量には投与による影響はみられなかった。

病理組織学的検査において、対照群及び投与群に骨格筋及び心筋の変性がみられたが、投与した動物に多くみられるというような傾向はなかった。同様に、悪性及び良性腫瘍が対照群及び投与群に観察されたが、投与と腫瘍の種類及び重症度の間に関連はみられなかった。発がん性は認められなかった。

体重への影響により、本試験における NOAEL は飼料中濃度 25 ppm (1.14 mg/kg 体重/日に相当) と考えられた。(参照 2)

(6) 2 年間慢性毒性/発がん性併合試験 (ラット②)

モネンシンに子宮内暴露されたラット (Wistar 系、雌雄各 100 匹/群) に菌糸体モネンシンナトリウムをさらに 2 年間混餌投与 (飼料中濃度 0、33、50 及び 80 ppm (雄 0、1.40、2.18 及び 3.60 mg/kg 体重/日、雌 0、1.72、2.86 及び 5.02 mg/kg 体重/日に相当)) した。

生存率は、雌雄ともに投与により用量依存的に増加した。80 ppm 投与群の雌雄全例及び 50 ppm 投与群の雌において、一過性の体重減少が試験期間の初期に観察された。また、体重増加量の有意な低下が 33 及び 80 ppm 投与群の雄で最初の 1 週間に、80 ppm 投与群の雌では最初の 2 週間にみられた。最高用量の 80 ppm 投与群の雌では、摂餌量が統計学的に有意に増加した。

上記の結晶モネンシンを用いた試験と同様に、血液学的及び血液生化学的検査、尿検査並びに臓器重量には、投与に関連付けられるような違いは観察されず、また、一般状態に毒性徴候はみられなかった。

筋肉及び心臓の組織に非腫瘍性病変が観察されたが、発生率及び重症度には、投与による影響はみられなかった。同様に、悪性及び良性腫瘍の発生時期及び罹患率には、投与群と対照群の間に違いはみられず、発がん性は認められなかった。

本試験の NOAEL は 33 ppm (1.40 mg/kg 体重/日に相当) と考えられた。(参照 2)

(7) 2 年間慢性毒性/発がん併合性試験 (ラット③)

ラット (Wistar 系、雌雄各 95 匹/対照群、雌雄各 60 匹/投与群) に結晶モネンシンナトリウムを 2 年間混餌投与 (0、2.5、12.5 及び 25 ppm) した。

生存率は対照群 34.7%、投与群 34.4%で差は認められず、体重の推移、摂餌量に投与による影響はみられなかった。

投与群にみられた病理組織学的変化は対照群にも同様にみられ、腫瘍の発生状況は各群とも類似しており、本系統のラットに通常認められるものであった。

本試験における NOAEL は、最高用量の 25 ppm であると考えられた。(参照 7)

7. 生殖発生毒性試験

(1) 3 世代生殖毒性試験 (ラット①)

3 世代にわたってラット (Wistar 系由来、雌雄各 25 匹) に菌糸体モネンシンを混餌投与 (0、33、50 及び 80 ppm(0、1.6、2.5 及び 4 mg/kg 体重/日に相当)) した。

成長期の体重増加抑制が、雄では全投与群の F₀ 世代並びに 50 及び 80 ppm 投与群の F₂ 動物で、雌では 80 ppm 投与群の F₀、F₁ 及び F₂ 動物で認められた。また、F₂ 雌動物では 50 ppm 投与群でも体重増加が抑制された。

平均体重の減少が、80 ppm 投与群の F₁、F₂ 及び F₃ 世代並びに 50 ppm 投与群の F₂ 世代の妊娠及び哺育中の雌でみられた。

受胎率、同腹児数、妊娠期間、親動物及び児動物の生存率、性比等の生殖能については、対照群と投与群の間に統計学的に有意な差は認められなかった。

胚毒性や催奇形性は認められなかった。

雌雄ともに全投与群の全世代において体重増加量が減少したため、親動物及び児動物に対する NOAEL は設定できなかった。(参照 2)

(2) 3 世代生殖毒性試験 (ラット②)

3 世代のラット (親動物：雌雄各 30 匹/群、F₁：雌雄各 20 匹/群、F₂：雌雄各 40 匹/群に結晶モネンシンを混餌投与 (2.5、12.5 及び 25 ppm(0.14~0.2、0.74~0.97 及び 1.43~2.3 mg/kg 体重/日に相当)) した。

最高用量の 25 ppm 投与群まで投与による変化は報告されなかった。催奇形性は認められなかった。

本試験の NOAEL は最高用量の 25 ppm (1.43~2.3 mg/kg 体重/日に相当) と考えられた。(参照 3)

(3) 2 世代生殖毒性試験 (ラット)

ラット (SD 系、F₀ 親動物：雄各 30 匹/群、雄 38 又は 39 匹/群) にモネンシンナトリウムを混餌投与 (0、0.5、2.5、12.5 mg/kg 体重/日) した。

雌の F₀ 親動物は交配前 15 日からと殺後又は離乳後まで投与した。雄の F₀ 親動物は、交配前 29 日から離乳後のと殺まで投与した。各群約半数の雌を妊娠 20 日にと殺して胎児を奇形学的検査に供し、残りは分娩させ産児を離乳ま

で哺育させた。哺育 22 日に各腹から児を選択し雌雄各 20 匹/群の F₁ 世代とした。出生後 4 日からと殺までの間、親動物と同一の用量で投与を行った。F₁ 親動物は 12 週から 14 週齢までの間に交配し、全ての雌を自然分娩させた。

12.5 mg/kg 体重/日投与群のほとんどの F₀ 及び F₁ 雌で消瘦及び円背位が授乳中に観察された。12.5 mg/kg 体重/日投与群の F₀ 及び F₁ 親動物で体重増加の抑制及び摂餌量低下がみられた。出生時の同腹児数及び出生児の体重は対照群に比べ低く、児の体重増加量にも影響がみられた。

2.5 mg/kg 体重/日投与群では体重及び摂餌量へのわずかな影響がみられたが、0.5 mg/kg 体重/日投与群では投与による影響は認められなかった。いずれの群においても胚/胎児毒性は認められなかった。

以上より、本試験の条件において、モネンシンナトリウムは F₀ 及び F₁ 親動物の生殖指標に影響を及ぼさないと結論付けられた。本試験における NOAEL は、0.5 mg/kg 体重/日と考えられた。なお、実際の用量は、試験の各段階で変動し、交配前の場合では設定より 20%低く、授乳中には設定の 130%であった。(参照 6)

(4) 発生毒性試験 (ラット①)

ラット (Wistar 系、雌、28 日齢、15 匹(対照群)、14 匹(100 ppm 群)、12 匹(300 ppm 群)) にモネンシンを交配前の体重が 185 g に達するまでの期間、妊娠期間及び授乳期間に混餌投与 (0、100 及び 300 ppm(0、5 及び 15 mg/kg 体重/日に相当)) した。

妊娠期間、母動物の体重増加 (妊娠 3 日から 10 日までの体重差及び妊娠 0 日から 18 日までの体重差)、同腹児数、外表奇形の有無、性比及び出生児の体重を調べた。出生児については、毛生、耳介展開、被毛発達、切歯萌出、外耳道の開通、眼瞼開裂、立ち直り反射及び背地走性の完成時期についても調べた。

最高用量 300 ppm 投与群で投与 8 日後に雌の体重が有意に低下し、以降試験期間を通して低下したままであった。雌の受胎率には統計学的に有意差はみられなかった。膈開口せず交配不能であった 300 ppm 投与群の 2 例を除き雌は全て妊娠した。投与群の母動物の妊娠期間中の体重増加量は対照群の母動物と有意差はなかった。妊娠期間、同腹児数及び死産児数も投与による変化はみられなかった。

出生児の体重は 300 ppm 投与群の雌雄で出生後 10 から 21 日まで低下した。100 ppm 投与群の雄の出生児の体重は、出生後 21 日のみ低下した。出生児に外表奇形は認められなかった。周産期に 100 ppm を投与された雌では、切歯萌出の遅延がみられたが、この影響は 300 ppm 投与群にはみられなかった。その他に投与に関連した影響は観察されなかった。

100 ppm 投与群の雄の出生後 21 日の体重が低下したため、本試験における NOAEL は設定できなかった。(参照 2)

(5) 発生毒性試験（ラット②）

(2) の 3 世代生殖毒性試験（ラット②）の F₁ 親から得られた雌の成熟ラット（Wistar 系、20 匹/群）に同一用量群の雄を交配し発生毒性試験に用いた。結晶モネンシンナトリウムを、親動物の育成期及び妊娠 0～20 日に混餌投与（0、2.5、12.5 及び 25 ppm）した。

妊娠 0～20 日の摂餌量、体重増加量、飼料効率及び一般状態には各群間に差は認められなかった。母動物は全て生存し、投与による影響は認められず、生殖成績も対照群との間に差はなかった。胎児数も各群間に差がなく全て生存し、性比及び体重も正常であった。

胎児の内臓及び骨格異常は、2.5 及び 12.5 ppm 投与群で水腎が各 6 例、25 ppm 投与群で浮腫 1 例、水腎 7 例及び波状肋骨 1 例がみられたが、ほぼ同様の異常が対照群にもみられ、このラットの背景データの範囲内であった。（参照 7）

(6) 発生毒性試験（ウサギ①）

ウサギ（Dutch Belted 種、15 匹/群）に結晶モネンシンナトリウムを妊娠 6～18 日に強制経口投与（0.076、0.38 及び 0.76 mg/kg 体重/日）した。対照群（25 匹）には 5%溶媒を与えた。妊娠 28 日に全動物をと殺し、母動物の生殖能及び胎児への影響を調べた。

0.76 mg/kg 体重/日投与群の母動物の摂餌量が投与期間中にのみ低下したが、平均体重には影響しなかった。同腹児数、黄体数、着床数、胎児の生存率及び吸収胚数に差はみられなかった。さらに、性比、胎児の生存数及び胎児重量にも群間の差はみられなかった。

胎児の異常は低頻度でみられたが、投与との関連はなかった。

催奇形性は認められなかった。

本試験における母動物及び胎児に対する NOAEL は、最高用量である 0.76 mg/kg/日体重と考えられた。（参照 2、7）

(7) 発生毒性試験（ウサギ②）

ウサギ（雌 20 匹）にモネンシンナトリウムを妊娠 6～28 日に強制経口投与（0、0.1、0.3 及び 3 mg/kg 体重/日）し、妊娠 29 日にと殺し、剖検を行った。

3 mg/kg 体重/日投与群の母動物は体重減少、一般状態の悪化を含む毒性影響を示し、1 例が死亡し、1 例は一般状態の悪化によりと殺された。約半数の母動物が流産し、その他の母動物では有意な胎児死亡数の増加がみられた。母動物への毒性が高かったことから 3 mg/kg 体重/日投与群は発生への影響を検討するには適当でないと結論付けられた。

0.1 及び 0.3 mg/kg 体重/日以下投与群では、母動物及び胎児に投与による

影響はみられなかった。

本試験における母動物及び胎児に対する NOAEL は、0.3 mg/kg 体重/日と考えられた。(参照 6)

8. その他の試験

(1) 一般薬理試験

① 心血管系及び呼吸系への影響 (イヌ)

無麻酔及び麻酔下のイヌ (雑種、雄、体重 11~23 kg) を用いて、モネンシンナトリウムの静脈内投与 (0.00069~1.4 mg/kg 体重) による心血管系及び呼吸系への影響を調べた。正確な投与計画は報告されなかった。

麻酔下のイヌにおいて、モネンシンにより、左心室の収縮性 (0.035 mg/kg 体重)、血圧 (0.014 mg/kg 体重)、心拍数 (0.035 mg/kg 体重) 及び左冠状動脈前下行枝 (left anterior coronary artery) の血流量 (0.0069 mg/kg 体重) が有意に用量依存的な増加を示した。0.035 mg/kg 体重の投与では、心室性期外収縮及び心室頻拍を引き起こした。少なくとも 0.14 mg/kg 体重の投与で呼吸数も有意に増加し、1.4 mg/kg 体重を投与された動物の 50%が呼吸停止で死亡した。麻酔下のイヌの NOAEL は、0.0035 mg/kg 体重と考えられた。(参照 2)

無麻酔下のイヌで心血管系への影響の有無を確認するため、イヌ (雑種、2 匹) にモネンシンの投与量を増加して静脈内投与した。正確な投与計画は報告されなかった。

心室性期外収縮及び心室頻拍を生じさせるためには 0.21 mg/kg 体重以上の投与量が必要で、期外収縮は投与後 7 日まで時折みられた。最高用量の 1.4 mg/kg 体重の投与では、自発運動の亢進、嘔吐、脱糞及び過呼吸もみられた。

無麻酔下のイヌの NOAEL は 0.0345 mg/kg 体重であったことから、麻酔薬の同時投与はイヌにおけるモネンシンの影響を 10 倍に増強する可能性を示唆している。(参照 2)

急性過剰摂取は、静脈内投与よりも経口暴露で起こりやすいと考えられたため、無麻酔のイヌ (ビーグル種) を用い、静脈内投与で観察されたような心血管系及び呼吸機能への影響が経口暴露でみられるかどうかを調べた。モネンシンナトリウムの強制経口投与 (0、0.138、0.345、0.690 及び 1.38 mg/kg 体重、10%アカシア溶液 15 mL、4 匹/群(0.690 mg/kg 体重投与群のみ 6 匹)) による影響を調べ、モネンシンナトリウムの 10 分間隔での静脈内ボラス投与 (累積投与量 0.0069、0.0138、0.0345、0.069 及び 0.138 mg/kg 体重、雌雄各 3 匹、体重 8.5~15.2 kg) による影響と比較した。

経口投与では、0.690 及び 1.38 mg/kg 体重投与群で冠状動脈血流量が有意に増加したが、心拍数及び血圧は変化しなかった。冠状動脈血流量の上昇は

投与後 13～17 分で最大で、30 分までに正常に回復した。静脈内投与では、0.069 及び 0.138 mg/kg 体重投与群で冠状動脈血流量が有意に増加し、0.138 mg/kg 体重投与群で平均血圧が上昇した。心拍数に変化はなかった。冠状動脈血流量を 100%増加させるのに必要な投与量を対数線形補間を用いて推定すると、冠状動脈血流量増加に対する影響は静脈内投与は経口投与に比べて約 11 倍の活性を示した。

0.690 及び 1.38 mg/kg 体重投与群における冠状動脈血流量の増加に基づき、経口投与による心臓に対する薬理学的影響の閾値は 0.345 mg/kg 体重と考えられた。モネンシンを単回経口投与されたイヌにおける冠状動脈血流量の一過性の上昇は、血圧及び心拍数への影響がみられないため、投与に関連したものではあるが有害ではないと考えられた。(参照 2)

② 心血管系への影響（ネコ）

ネコは他の動物での知見とは対照的に、モネンシン 30 mg/kg 体重の経口投与において、心血管系への影響は示されていない。

マウスやネコなどの実験動物における他の薬理学的影響に関する試験では、10 mg/kg 体重又はそれ以上の経口投与量で、中枢、末梢及び自律神経系又は呼吸及び消化器系に関係する影響は認められなかった。(参照 3)

③ 心血管系への影響（豚）

麻酔下の豚（ヨークシャー種及びハンプシャー種、19～27 kg）を用いて心血管系への影響を観察した。正確な投与計画は報告されなかった。

0.035 mg/kg 体重のモネンシンの静脈内投与により、左心室収縮性、心拍数、冠血流量及び心室性期外収縮の増加が引き起こされた。左心室収縮性への影響はイヌほど顕著ではなかったが、心拍数への影響は豚の方が大きかった。

豚における最小作用量（lowest effective dose）は 0.0069 mg/kg 体重であり、平均血圧を有意に増加する投与量であった。この投与量が本試験の最低投与量であるため、豚における静脈内投与の NOAEL は設定できなかった。(参照 2)

（2）局所刺激性試験

① 皮膚刺激性試験（マウス）

マウス（ICR 系、4 週齢、雌雄各 5 匹/群）に、背部皮膚への最大投与可能量である結晶モネンシンナトリウム 3,000 mg/kg 体重又は菌糸体モネンシンナトリウム 1,000 mg/kg 体重までをアラビアゴム溶液を用いて投与した。

死亡例はなく、一般状態においても何ら毒性所見はみられなかった。投与 8 日後の剖検では、投与部位の皮膚に異常はなく、諸臓器にも全く異常がみられなかった。(参照 7)

② 皮膚刺激性試験（ラット）

ラット（JCL:SD 系、4～5 週齢、雌雄各 5 匹/群）に、背部皮膚への最大投与可能量である結晶モネンシンナトリウム 3,000 mg/kg 体重又は菌糸体モネンシンナトリウム 1,000 mg/kg 体重までをアラビアゴム溶液を用いて投与した。

死亡例はなく、一般状態においても何ら毒性所見はみられなかった。体重増加は初期に若干抑制されたが、1 週間後には対照群とほぼ同じとなり、投与 8 日後の剖検では、局所及び諸臓器に全く異常は認められなかった。（参照 7）

③ 皮膚刺激性試験（ウサギ）

ウサギ（NZalbino、雌雄各 3 匹）の露出した皮膚にモネンシン製剤を暴露（0.2 mg/kg 体重）し、24 時間閉塞した。3 例では投与前に皮膚を擦過し、2 週間観察した。

1 例にのみ紅班が生じた。

試験期間中に、全例で 50～1,340 g の体重低下がみられた。

この体重低下が皮膚暴露によるもので経口摂取によるものではないことを確認するため、追加の 6 例に暴露部位を舐めるのを防ぐため首にカラーを装着し、同じ手順により再試験を実施した。

皮膚毒性は観察されなかったが、体重低下は再現され、20～370 g の範囲であった。

体重低下が実験手順による外傷によるものでないことを確認するため、極めて高い用量のモネンシン製剤が擦過皮膚に 24 時間投与され、一過性の体重低下が起こることが確認された。（参照 2）

ウサギ（NZalbino、雌雄各 3 匹）の被毛を刈り、擦過した皮膚に菌糸体モネンシンナトリウム（濃度 500 ppm、42 mg/kg 体重相当）を塗布して 24 時間閉塞し、2 週間観察した。

投与 4 日後、わずかな紅班が 1 例に観察された。他の毒性徴候は観察されなかった。（参照 2、5）

④ 皮膚感作性/免疫毒性試験（マウス）

マウス（CBA/J、雌 4 匹/群）を用いて局所リンパ節試験を行い遅延型接触感作性を調べた。モネンシン製剤の 10 w/v%抽出液（エタノール：水=50:50 抽出）の 0.5、1.0、2.5、5、10、25、50 及び 100%溶液、陽性対照（25% α -hexylcinnamaldehyde）又は溶媒のみを 3 日間耳に適用した。投与終了後無処置で 2 日間経過後に、耳のリンパ節中の細胞の増殖を ^3H 標識 methylthymidine を用いて測定し、刺激指数の算出に用いた。

皮膚反応は観察されず、耳の厚さに有意な変化はみられなかった。5～100%

までの濃度範囲を用いた試験では刺激指数に用量依存的で有意な増加が観察されたが、0.5～10%の濃度範囲を用いた試験ではみられなかった。この増加は遅延型接触感作性によるものであり、モネンシン製剤は弱感作性であると判断された。(参照 2)

⑤ 皮膚感作性/免疫毒性試験 (モルモット)

モルモット (アルビノ、雌雄、12 匹/群) の皮膚に菌糸体モネンシンを 4 時間/日、5 日/週で計 15 回適用 (0、220 mg/kg 体重) した。

試験期間中を通して一次刺激性を含む毒性徴候を調べ、各群 6 匹は病理組織学的検査に用いた。残りの各群 6 匹には、無処置で 17 日間経過後に同用量で惹起適用を実施した。

初回適用による皮膚刺激性はみられず、また、惹起適用後に接触感作性は認められなかった。第 12 回目の処置後、対照群 4 例及び処置群 8 例において一過性の流涙及び眼刺激性がみられた。体重及び臓器重量並びに病理学的検査では、全例が正常であった。(参照 2)

⑥ 眼刺激性試験 (ウサギ)

ウサギ (NZalbino、6 匹) の片眼にモネンシン製剤 (製剤として 53 mg、9.9%モネンシンナトリウム含有) を投与した。

投与後 1 時間以内に、角膜の透明度低下、軽度の角膜混濁、顕著な虹彩炎及び中程度の結膜炎が観察された。24 時間以内に、重篤な角膜混濁及び重篤な結膜炎に発展した。角膜の変化は非可逆性のようであった。

追加の 3 例では、投与してから 2 分後に眼を洗浄した。全例に軽微な結膜炎が生じ、1 例には角膜の透明度低下及び軽微な虹彩炎が観察された。眼の刺激性を示す症状は投与後 48～72 時間以内に回復した。(参照 2)

ウサギ (NZalbino、9 匹) の片眼に菌糸体モネンシン (製剤として 59 mg) を投与した。3 例では、投与 2 分後に 300 mL の生理食塩水で洗浄した。

投与 1 時間後、無洗浄眼に軽微な角膜混濁、顕著な虹彩炎及び中程度の結膜炎が観察されたが、5 例では、7 日までに症状が回復した。1 例では 7 日以内に角膜穿孔を伴うぶどう膜腫が観察された。治癒の過程で血管新生が起こり 21 日までに角膜の 50%に生じた。

洗浄眼は、角膜の透明度低下、中程度の虹彩炎及び軽度の結膜炎を示した。刺激性を示す症状は 7 日までに消失した。(参照 2、5)

ウサギ (白色家兎、雌雄各 3 匹/群、体重 2.8～3.2 kg) にモネンシンナトリウムを 1 回点眼 (10、50%液及び原末) し、6 日間観察した。

10%液はほとんど作用がなく、50%液でも極めて軽度であり、いずれも 6～24 時間後には完全に回復した。原末は軽度な作用を示したが重篤なものでは

なく、投与 48 時間後には回復した。

10 及び 50%液を 5 日間毎日 1 回連続適用すると、10%液は 1 回適用よりわずかに強い作用を示したがその程度は極めて軽度で、回復も速やかであった。50%液は 4 回適用後から中程度の作用を示したが、点眼を中止すると 2 日後にはほとんど正常に戻った。(参照 7)

9. 微生物学的影響に関する試験

(1) 臨床分離菌に対する MIC①

平成 18 年度食品安全確保総合調査「動物用抗菌性物質の微生物学的影響についての調査」(平成 18 年 9 月～平成 19 年 3 月)において、ヒト臨床分離株等に対するモネンシンの約 5×10^6 CFU/spot における MIC が調べられている(表 11)。

表 11 ヒト腸内細菌に対するモネンシンの MIC₅₀

菌名	株数	最小発育阻止濃度(μg/mL)	
		MIC ₅₀	範囲
通性嫌気性菌			
<i>Escherichia coli</i>	30	>128	>128
<i>Enterococcus</i> sp.	30	2	1～8
嫌気性菌			
<i>Bacteroides</i> sp.	30	128	8～>128
<i>Fusobacterium</i> sp.	20	>128	>128
<i>Bifidobacterium</i> sp.	30	2	0.5～32
<i>Eubacterium</i> sp.	20	1	0.12～2
<i>Clostridium</i> sp.	30	1	0.5～2
<i>Peptococcus</i> sp./ <i>Peptostreptococcus</i> sp.	30	≦0.06	≦0.06～1
<i>Prevotella</i> sp.	20	1	0.12～16
<i>Lactobacillus</i> sp.	30	2	1～128
<i>Propionibacterium</i> sp.	30	1	0.5～2

調査された菌種のうち、最も低い MIC₅₀ が報告されているのは *Peptococcus* sp./*Peptostreptococcus* sp. の 0.06 μg/mL 以下であった。本調査の結果から MIC_{calc}³ は 0.423 μg/mL (0.000423 mg/mL) と算出された。(参照 8)

(2) 臨床分離菌に対する MIC②

正常なヒトの腸内菌叢を代表する 10 属からの各々 10 分離株を含む 100 種

³ 試験薬がその菌に対して活性を有する属の平均 MIC₅₀ の 90 %信頼限界の下限值

類の細菌株に対するモネンシンの MIC が測定された。全ての株は、健康で投薬されていないヒトの糞便微生物叢に由来するものである。モネンシンの活性に対する接種濃度の影響を調べるため、各株について 10^9 及び 10^5 CFU/mL の 2 種類の接種濃度を用いて各々の MIC を求めた。各々の細菌に対するモネンシンの活性を表 12 にまとめた。(参照 2)

表 12 正常ヒト腸内細菌叢の代表的細菌に対するモネンシン活性のまとめ

菌名	MIC 値(μg/mL)							
	高接種濃度(10^9 CFU/mL)				低接種濃度(10^5 CFU/mL)			
	MIC ₅₀	MIC ₉₀	幾何平均 MIC ^a	MIC 範囲	MIC ₅₀	MIC ₉₀	幾何平均 MIC ^a	MIC 範囲
<i>Bacteroides fragilis</i>	>128	>128	128	All >128	8	16	10.6	4~16
その他の <i>Bacteroides</i> spp.	>128	>128	128	All >128	8	16	7.5	2~16
<i>Bifidobacterium</i>	128	>128	52	2~>128	2	4	1.9	0.5~4
<i>Clostridium</i>	1	4	1.6	0.5~>128	0.5	0.5	0.5	0.125~4
<i>Enterococcus</i>	8	8	7.5	4~8	8	8	6.5	4~8
<i>E.coli</i>	>128	>128	128	128~>128	>128	>128	128	All>128
<i>Eubacterium</i>	2	4	2.3	1~4	0.5	1	0.7	0.5~1
<i>Fusobacterium</i>	16	128	19.7	0.5~>128	2	16	2	ND
<i>Lactobacillus</i>	8	>128	12.1	2~>128	2	>128	4	0.5~>128
<i>Peptostreptococcus</i>	0.5	2	0.6	0.25~4	0.25	4	0.5	0.125~4

ND, not determined (結果数が<10のため決定せず。)

a >128 μg/mL は幾何平均の計算時 128 μg/mL とした。

(3) 臨床分離菌に対する MIC③

代表的ヒト腸内細菌 100 株 (10 属から各々10 株) に対するモネンシンナトリウムの MIC が調べられた (表 13)。(参照 3)

表 13 ヒト腸内細菌に対するモネンシンナトリウムの MIC₅₀

菌名	株数	MIC ₅₀ (μg/mL)
<i>Bacteroides fragilis</i>	10	12
<i>Bacteroides</i>	10	8
<i>Bifidobacterium</i>	10	2
<i>Clostridium</i>	10	0.5
<i>Enterococcus</i>	10	8
<i>Escherichia coli</i>	10	> 128
<i>Eubacterium</i>	10	0.5
<i>Fusobacterium</i>	10	2
<i>Lactobacillus</i>	10	1.5
<i>Peptostreptococcus</i>	10	0.25

(4) 糞便結合試験（ヒト①）

糞便結合がモネンシンの抗菌活性に与える影響を調べるために、モネンシン（0、1、2、5、10、20、50 及び 100 µg/mL）及び 3 人のそれぞれのドナーから採取した滅菌ヒト糞便（0、10、20 及び 50 w/v% Mueller Hinton Broth 培地中）を培養した。モネンシン活性は、モネンシンに感受性を有する *Bacillus subtilis* ATCC 6633 を指標菌として調べた。

糞便サンプルは 3 例とも 50%の糞便濃度でモネンシンとの最大結合（>90%の結合率）を示した。50%の糞便濃度が、*in vivo* の状況に最も近い。この結果は、ヒト糞便に対するモネンシンの迅速で広範な結合を示すものであり、希釈していない糞便へのモネンシン残留物の結合は 90%を超える と推定された（表 14）。（参照 2）

表 14 糞便との反応後のモネンシン利用率の測定

反応時間(h)	培養液のみ(糞便なし)		50 % 糞便(重量比)	
	増殖阻害に必要な モネンシン初期 濃度(µg/mL) (“a”)	糞便との反応後 “利用不可能な” モネンシンの比率 (%)	増殖阻害に必要な モネンシン初期濃 度(µg/mL) (“b”)	糞便との反応後に “利用不可能な” モネンシンの比率： [(b-a)/b]×100(%)
24 時間培養				
0	10	0	100	90.0
1	10	0	100	90.0
2	10	0	100	90.0
4	10	0	100	90.0
6	10	0	120	91.7
8	10	0	120	91.7
12	10	0	120	91.7
48 時間培養				
0	10	0	100	90.0
1	10	0	100	90.0
2	10	0	100	90.0
4	10	0	100	90.0
6	10	0	120	91.7
8	10	0	120	91.7
12	10	0	120	91.7

(5) 糞便結合試験（ヒト②）

糞便との相互作用を検討する試験が微生物学的分析法及び HPLC/MS の化学的分析法を組み合わせ実施された。

12 時間相互作用させた後、発育阻止分析法（n=3）及び化学分析法（n=5）により測定した利用不可能になったモネンシンの割合は、それぞれ、96.8%及び 94.3～98.6%であった。このことから、結腸におけるモネンシンの抗菌活性が、糞便成分と接触することにより 90%以上低下するという上記の①の試験の結論が確認された。（参照 2）

(6) 代謝物の微生物学的活性

モネンシンは牛、豚及びラットで迅速に代謝され多数の代謝物に変換される。O-脱メチル化及び水酸化が主要な代謝経路と考えられる。O-脱メチルモネンシンの抗菌活性を *Bacillus subtilis* を用いたバイオオートグラフィー及び *Streptococcus faecalis* を用いた比濁法により測定した。

これらの測定系では、O-脱メチルモネンシンはモネンシンのわずか 5 % の活性であった。モネンシンの大部分は代謝されて抗菌活性を有しない代謝物となる。

一方、阻止円計測法 (Zone inhibition assay) により、代謝物 M1 の抗菌活性はモネンシンの活性の 19~26.6%であった。代謝物 M2 及び M6 の MIC 値は、モネンシンより 2 倍段階希釈で 2~3 段階高かったことから、未変化体化合物の活性の 12.5~25%であることが示唆された。(参照 2)

10. ヒトに関する知見

ヒトのモネンシン中毒に関する 2 例の症例報告が報告されている。

最初の例では、17 歳の少年が用量不明のモネンシンナトリウムを摂取した。2 例目は、16 歳の少年が約 500 mg のモネンシンを摂取した。

両症例ともに、以前から家畜において過剰摂取の際に生じたものと同様の毒性が観察された。初期症状は、吐き気、食欲不振及び腹部の痛みなどであり、その後、主として下肢の筋力低下及び激痛並びに黒褐色の尿がみられた。血液生化学的検査の結果では、CPK、LDH 及び AST が非常に高い値を示し、Cre 及び K も上昇していた。末梢血液像は、白血球増多症及び赤血球沈降速度の亢進を示した。両症例ともに、モネンシンによる横紋筋融解症が生じて急性腎不全が引き起こされ、1 例では心不全が生じた。2 例ともに摂取後 11 日以内に死亡した。

ヒトにおけるモネンシン過剰摂取の主な標的は骨格筋及び心筋と考えられた。(参照 2)

生産過程での職業的なモネンシン暴露による健康影響も報告されている。調査対象の 30 年間には、眼にモネンシンの飛沫を直接受けた数例で刺激性結膜炎が観察され、1 例では刺激性接触皮膚炎も観察された。従業員 6 人は、モネンシンに対する免疫グロブリン E (IgE) を介するアレルギー反応を示し、一過性のじん麻疹、顔面又は舌の腫脹、そう痒、胸部うっ血、胸部絞扼感等の症状を呈した。これらの症状は、従業員がモネンシンの製造区域から離れることにより解消した。(参照 2)

Ⅲ. 食品健康影響評価

1. 国際機関等における評価

(1) JECFA における評価

① 微生物学的影響について

JECFA では、腸内細菌叢に対するモネンシン残留物の影響に関して、MIC 感受性、糞便結合作用及びモネンシン代謝物の生物学的活性を評価している。

モネンシンはヒトの腸内細菌叢の代表的な細菌のいくつかの属や種に対し微生物学的に活性であり、家畜の内臓、脂肪及び皮膚には低濃度ではあるが残留がみられるため、モネンシン残留物がヒト結腸内に入る可能性がある。

しかしながら、大部分のモネンシン残留物は、ヒトの結腸に入る前に活性が非常に低い代謝物に変換され、さらに、結腸内では相当量が糞便成分と結合する。一方、モネンシンについては、ヒト用医薬品として使用されておらず、また、獣医療及びヒトの医療で通常使用される多くの抗菌性物質との交差耐性を進展させる可能性は低いとしている。

結腸内のモネンシン残留物の大部分は、糞便に結合していること及び生物学的に不活性であることから、生物学的利用可能な濃度は、表 10 に示した代表的ヒト腸内細菌の最低の MIC₅₀ を下回る。したがって、モネンシン残留物はヒトの腸管の定着障壁⁴を崩壊させる可能性は低いと考えられる。

JECFA ではモネンシン残留物に対して微生物学的 ADI を設定する必要はないと結論している。(参照 2)

② JECFA における ADI の設定について

モネンシンは、経口暴露により骨格筋及び心筋への障害並びに WBC 及び体重増加量の減少をもたらす。

WBC 及び体重増加量への影響は、同程度の投与量で起こり、筋肉に影響をもたらす投与量より低かった。体重増加量への影響は、マウス、ラット及びイヌの試験を通じて同程度の投与量でみられ一貫性があった。

モネンシンの単回経口投与により、イヌにおける冠血流量の一過性の上昇がみられたが、血圧又は心拍数への影響がみられないため、この影響は投与に起因するが有害なものではないと考えられたとしている。

JECFA では、高用量のモネンシンの筋肉組織に対する影響は重要な有害作用であると判断された。また、明確な機序は不明であるが、低用量での体重増加量の減少は、モネンシンの安全側に立った毒性指標であると判断された。

毒性学的所見に基づき、ラットの 2 年間の経口投与試験における最も低い

⁴ 定着障壁とは、結腸において、外来微生物の定着及び内因性の潜在性病原菌の過剰増殖を制限する正常腸内細菌叢の機能。抗菌性物質が正常腸内細菌叢をかく乱することにより、この障壁を崩壊させ、ヒトの健康に影響することが知られている。

NOAEL 1.14 mg/kg 体重/日（1 段階上の用量では体重増加量の減少がみられた。）を ADI 設定のための根拠とした。この NOAEL は、他の動物種における体重増加量への影響に対する NOAEL が同様の値であることから支持されるとしている。

JECFA では、この値に安全係数の 100 を適用し、モネンシンの ADI を 0.01 mg/kg 体重/日と設定している。（参照 2）

（２）EFSA における評価

EFSA では、モネンシンナトリウムについて、コクシジウム症のコントロールのための飼料添加物としての評価が 2004 及び 2005 年に実施されている。

① 2004 年の評価

モネンシンナトリウムは、遺伝毒性を示さず、マウス及びラットを用いた慢性毒性及び発がん性試験で発がん性は認められていない。またラットを用いた生殖毒性試験及びウサギを用いた発生毒性試験において、生殖及び発生毒性は認められていない。毒性試験から設定された最小の NOAEL は、マウスを用いた 2 年間慢性毒性/発がん性併合試験に基づいた 1.2 mg/kg 体重/日であったが、イヌの心血管系に対する急性の薬理学的影響により、モネンシンナトリウムの NOAEL として 0.345 mg/kg 体重というより低い値を設定した。

EFSA では、この NOAEL に安全係数 100 を適用し、0.003 mg/kg 体重/日の ADI を設定している。（参照 5）

② 2005 年の評価

モネンシンナトリウムは、遺伝毒性を示さず、また、発がん性に係る structural alert を有していない。また、ラットを用いた生殖毒性試験及びウサギを用いた発生毒性試験において、生殖及び発生毒性は認められていない。各種毒性試験のうち最小の NOAEL は、ウサギを用いた発生毒性試験に基づく 0.3 mg/kg 体重/日であった。

EFSA では、この NOAEL に安全係数 100 を適用し、0.003 mg/kg 体重/日の ADI を設定している。（参照 6）

（３）EMA における評価

EMA では、各種試験結果に基づき薬理学的、毒性学的及び微生物学的 ADI を算出している。

イヌを用いた急性経口投与試験における心血管系への影響に基づく NOAEL 0.345 mg/kg 体重に不確実係数 100 を適用して、薬理学的 ADI を 3.45 µg/kg 体重/日と設定している。

毒性試験における最小の NOAEL は、ウサギを用いた発生毒性試験におい

て得られた NOAEL 0.76 mg/kg 体重/日で、これに不確実係数 100 を適用し、毒性学的 ADI を 7.6 µg/kg 体重/日と設定している。

ヒト腸内細菌に対する MIC₅₀ に関するデータから MIC₅₀ 幾何平均の 10 % 信頼限界の下限値を算出し、微生物学的 ADI を 14.46 µg/kg 体重/日と算出している。

EMEA では、これらの ADI のうち、消費者の安全性を評価する上で重要な ADI は薬理学的 ADI であると結論付けた。

なお、上記 EFSA における評価結果との調和を図るため、端数処理を行い、EMEA ではモネンシンの ADI を 0.003 mg/kg 体重/日と設定している。
(参照 3)

2. 毒性学的 ADI の設定について

モネンシンは、各種遺伝毒性試験においていずれも陰性の結果が得られており、マウス及びラットを用いた慢性毒性及び発がん性試験において発がん性が認められていないことから、遺伝毒性発がん物質ではないと考えられ、ADI の設定が可能であると考えた。

毒性学的 ADI を設定する当たっては、各種毒性試験において最も小さい NOAEL であるウサギの発生毒性試験の NOAEL (0.3 mg/kg 体重/日) を根拠とするのが適当であると考えられた。

したがって、ウサギの発生毒性試験に基づく NOAEL 0.3 mg/kg 体重/日に種差 10 及び個体差 10 の安全係数 100 を適用し、毒性学的 ADI を 0.003 mg/kg 体重/日と設定した。

3. 微生物学的影響について

モネンシンの微生物学的影響について、ヒト腸内細菌に対する MIC、モネンシン残留物の糞便結合率及び微生物学的活性について評価した。

平成 18 年度食品安全確保総合調査「動物用抗菌性物質の微生物学的影響についての調査」によるヒト腸内細菌に対する MIC データ等から、モネンシンは、いくつかの代表的なヒト腸内細菌に対して活性を有することから、定着障壁を崩壊させる可能性は否定できないと考えられた。

しかしながら、モネンシンとヒト糞便との結合試験の結果から、結腸内のモネンシン残留物の大部分 (90%以上) は糞便と迅速に結合して生物学的な活性を持たないと考えられた。

さらに、モネンシンは迅速に代謝され、生物学的な活性の低い代謝物に変換されることが考えられることから、モネンシン残留物がヒトの腸内細菌叢に影響を及ぼし、腸管の定着障壁を崩壊させる可能性は低いと考えられた。

したがって、モネンシン残留物に対して微生物学的 ADI を設定する必要はないと考えられた。

4. 食品健康影響評価について

以上より、モネン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。

モネンシン 0.003 mg/kg 体重/日

また、モネンシンナトリウムについては、飼料添加物として適切に使用される限りにおいて、食品を介し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。

表 15 国際機関等における各種試験の無毒性量等の比較

動物種	試験	投与量 (mg/kg 体重/日)	NOAEL (mg/kg 体重/日) 等			
			EFSA (2005)	EFSA (2004)	EMEA	JECFA
マウス	皮膚感作性/免疫毒性	結晶 0、5、10、25、50、 100 mg/L 皮膚塗布		50 mg/L で リンパ増殖 (弱皮膚感作性)		
		プレミックス飼料 0.5、1.0、2.5、5、 10、25、50、100 %				5%以上で弱感作性
	3 か月間亜急性毒性	0、5.6、11.2、 22.5、45 (0、37.5、 75、150、300ppm) 混餌投与		NOAEL 設定 できず 体重増加抑制、 心筋変性	NOAEL 設定 できず 体重増加抑制、 心筋変性	菌糸体 NOAEL 設定 できず 体重増加抑制
	2 年間慢性毒性/ 発がん性	菌糸体 雄 0、1.2、3.1、 10.2、22.6 雌 0、1.4、3.5、 11.7、25.6 (0、10、25、75、 150 ppm) 混餌投与		雄 1.2、雌 1.4 体重増加抑制、 WBC 減少、 発がん性なし	発がん性なし	1.2 体重増加抑制、 WBC 減少、 発がん性なし
ラット	13 週間亜急性毒性	0、0.5、1.5、5	0.5(実質投与量 0.4) WBC の減少			
	3 か月間亜急性毒性	菌糸体 0、25、50、 80、125 ppm 混餌投与				25 ppm 体重増加抑制、 摂餌量低下
		菌糸体/結晶 0、2.5、10、20 混餌投与				NOAEL 設定 できず 体重増加抑制
		菌糸体/結晶 2/3.5~35 混餌投与			NOAEL 設定 できず 体重増加抑制、 臓器重量低下等	
		3~5、5~15、39~ 47 混餌投与		3 体重増加抑制		
		結晶 (0、50、100、 200、400 ppm) 混餌投与		5(50ppm) 体重増加抑制		
	52 週間慢性毒性	0、0.46、1.36、4.59	0.46 ALP 上昇、肝 細胞空胞化			
	2 年間慢性毒性/ 発がん性	菌糸体 雄 0、1.40、2.18、 3.60 雌 0、1.72、2.86、 5.02 (0、33、50、80 ppm) 混餌投与		雄 1.40、 雌 1.72 体重増加抑制、 発がん性なし	発がん性なし	3.60 (最高用量) 一過性体重増加抑制、 発がん性なし (子宮内暴露ラット)
	2 年間慢性毒性					
ラット (続き)						

	/発がん性 (続き)	結晶 雄 0、1.14、2.57、 5.91 雌 0、1.46、3.43、 8.68 (0、25、56、125 ppm) 混餌投与		雄 1.14 雌 1.46 体重増加抑制 発がん性 なし	発がん性 なし	1.14 体重増加抑 制、発がん性 なし
	3 世代生殖毒 性	結晶 0.14～0.2、0.74～ 0.97、1.43～2.3 (2.5、12.5、25 ppm) 混餌投与			1.43 ～ 2.3 (最高用量) 催奇形性な し	
		結晶 0、0.25、1.25、2.5 (0、2.5、12.5、25 ppm) 混餌投与		2.5(最高用量) 胚毒性、胎児 毒性、催奇形 性なし		
		菌糸体 0、3.3、5、8 (0、33、50、80 ppm) 混餌投与		生殖毒性明確 でない 母体毒性 LOEL: 3.3 胚毒性、催奇 形性なし		
		菌糸体 0、1.6～2.2、4～8 (0、33、50～80 ppm) 混餌投与			生殖毒性；設 定できず 母体毒性； 1.6～2.2 体重増加抑 制 催奇形性な し	
		菌糸体 0、1.6、2.5、4 (0、33、50、80 ppm) 混餌投与				生殖毒性；4 催奇形性なし
	2 世代生殖毒性	0、0.5、2.5、12.5	0.5 体重、摂餌量 への影響、胚 毒性、胎児毒 性なし			
	発生毒性	0、5、15 (0、100、300 ppm) 混餌投与				発生毒性；設 定できず 催奇形性なし
ウサギ	発生毒性	0、0.076、0.38、 0.76 強制経口投与		母動物毒性/ 催奇形性 0.76(最高用 量)	母動物毒性/ 催奇形性 0.76(最高用 量)	母動物毒性/催 奇形性 0.76(最高用 量)
	発生毒性	0、0.1、0.3、3	0.3 体重減少、一 般症状悪化、 流産、胎児死 亡			
ネコ	薬理学的試験	～30 経口投与		≥ 30(最高用 量) 麻酔下、影響 なし	≥ 30(最高用 量) 中枢性、末梢 性、自律神経 系、呼吸系、 消化器系に	

					影響なし	
イヌ	薬理学的試験	0、0.138、0.345、0.69、1.38 経口投与		0.345 冠血流量増加、心拍数/血圧変化なし	0.345 冠血流量増加、心拍数/血圧変化なし	0.345 での冠血流量増加は投与による影響ではない
		0.0069、0.0138、0.0345、0.069、0.138 静脈内投与				0.069 での冠血流量増加
		0.00069～1.4 静脈内投与			麻酔下 0.0035 無麻酔下 0.0345 冠血流量、心拍数/血圧増加	麻酔下 0.0035 無麻酔下 0.0345 心室収縮能/冠血流量/血圧/心拍数増加
	13 週間亜急性毒性	0、16(雌)、18(雄)、83、167、250ppm	雄 0.6、雌 0.5 活動低下、運動失調、筋変性			
	3 か月間亜急性毒性	0、2.5、5、11、25 経口投与		5 肝毒性、カプセル投与	結晶；5 死亡、運動失調、筋制御消失、瞬膜弛緩、肝毒性	5 ALT 上昇 カプセル投与
		菌糸体 0、5、15、50 カプセル経口投与				NOAEL 設定できず 体重低下
	1 年間慢性毒性	菌糸体 0、1.25、2.5、5、7.5 経口投与		2.5 ALT、CPK 上昇、	2.5 体重増加抑制	1.25 体重増加抑制
豚	薬理学的試験	0.035 静脈内投与				LOEL； 0.0069(麻酔下) 血圧上昇
毒性学的 ADI(mg/kg 体重/日)			ADI; 0.003 安全係数 100	ADI; 0.003 安全係数 100	ADI; 0.003 安全係数 100	ADI; 0～0.01 安全係数 100
毒性学的 ADI 設定根拠資料(mg/kg 体重/日)			ウサギ発生毒性試験 NOAEL;0.3	イヌ薬理学的試験 NOAEL;0.345	イヌ薬理学的試験 NOAEL;0.345	ラット慢性毒性試験 NOAEL;1.14
微生物学的 ADI			記載なし	記載なし	14.46µg/kg 体重/日	設定する必要なし
微生物学的 ADI 設定根拠資料					MIC ₅₀ の幾何学的平均値の 10%信頼限界値：0.9860 µg/mL	

〈別紙 検査値等略称〉

略称	日本語名称
ADI	一日摂取許容量
ALP	アルカリホスファターゼ
ALT	アラニンアミノトランスフェラーゼ [=グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ(GPT)]
AST	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ [=グルタミン酸オキサロ酢酸トランスアミナーゼ(GOT)]
BUN	血中尿素窒素
CFU	コロニー形成単位
C _{max}	最高濃度
CPK	クレアチンホスホキナーゼ
Cre	クレアチニン
ECG	心電図
EFSA	欧州食品安全機関
EMA	欧州医薬品審査庁
Glu	グルコース
Hb	ヘモグロビン
HPLC (-UV)	高速液体クロマトグラフィー (-紫外吸光検出器)
HPLC/MS(/MS)	高速液体クロマトグラフィー/質量分析(/質量分析)
Ht	ヘマトクリット値
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/質量分析(/質量分析)
LD ₅₀	半数致死量
LDH	乳酸脱水素酵素
LSC	液体シンチレーションカウンター
MIC	最小発育阻止濃度
MIC ₅₀	50%最小発育阻止濃度
MIC ₉₀	90%最小発育阻止濃度
NADPH	ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸
NOAEL	無毒性量
RBC	赤血球数
T _{1/2}	半減期
T.Bil	総ビリルビン
TLC	薄層クロマトグラフィー
TP	総タンパク質
WBC	白血球数

〈参照〉

1. 食品、添加物等の規格基準（昭和 34 年厚生省告示第 370 号）の一部を改正する件（平成 17 年 11 月 29 日付、平成 17 年厚生労働省告示第 499 号）
2. JECFA : Toxicological evaluation of certain veterinary drug residues in food. Prepared by the Seventieth meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives(JECFA). World Health Organization, WHO FOOD ADDITIVES SERIES 61, 2009, Monensin, 93~132.
3. EMEA : COMMITTEE FOR MEDICINAL PRODUCTS FOR VETERINARY USE MONENSIN(Cattle, including dairy cows) SUMMARY REPORT 2007
4. JECFA : EVALUATION OF CERTAIN VETERINARY DRUG RESIDUES IN FOOD. WHO Technical Report Series.954, 2009,Monensin, 56-71
5. EFSA : Opinion of the Scientific Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed on the request of the Commission on the reevaluation of coccidiostat Elancoban in accordance with article 9G of Council Directive 70/524/EEC, The EFSA Journal(2004), 42, 1-61
6. EFSA : Opinion of the Scientific Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed on a request of the European Commission on the evaluation of coccidiostat COXIDIN (Monensin Sodium), The EFSA Journal(2005), 283, 1-53
7. 日本イーライリリー株式会社：モネンシンの残留基準の設定に関する資料（未公表）
8. 食品安全委員会：平成 18 年度食品安全確保総合調査；動物用抗菌性物質の微生物学的影響についての調査
9. 日本イーライリリー株式会社：飼料添加物モネンシンナトリウム ほ乳期牛用飼料への使用拡大評価資料（未公表）