

(案)

動物用医薬品評価書

ジョサマイシン

2013年 4月

食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会

目次

	頁
○ 審議の経緯	3
○ 食品安全委員会委員名簿	3
○ 食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会専門委員名簿	3
○ 要約	4
I. 評価対象動物用医薬品の概要	5
1. 用途	5
2. 有効成分の一般名	5
3. 化学名	5
4. 分子式	5
5. 分子量	5
6. 構造式	5
7. 使用目的及び使用状況等	5
II. 安全性に係る知見の概要	6
1. 薬物動態試験	6
(1) 薬物動態試験 (マウス・吸収)	6
(2) 薬物動態試験 (マウス・吸収、分布)	6
(3) 薬物動態試験 (ラット・吸収、分布、排泄)	7
(4) 薬物動態試験 (豚・吸収)	9
(5) 薬物動態試験 (豚・分布)〈参考データ〉	9
(6) 薬物動態試験 (鶏・吸収)	10
(7) 薬物動態試験 (鶏・分布)	10
(8) 薬物動態試験 (ぶり・吸収、分布①)	11
(9) 薬物動態試験 (ぶり・吸収、分布②)	12
(10) 薬物動態試験 (ヒト)	12
(11) 代謝物	13
2. 残留試験	14
(1) 残留試験 (豚)	14
(2) 残留試験 (鶏)	16
(3) 残留試験 (ぶり)	19
3. 遺伝毒性試験	21
4. 急性毒性試験	22
5. 亜急性毒性試験	23
(1) 5週間亜急性毒性試験 (ラット)	23
(2) 13週間亜急性毒性試験 (ラット)	23
(3) 6か月間亜急性毒性試験 (ラット)	24

(4) 6 か月間亜急性毒性試験 (イヌ、プロピオン酸ジョサマイシン) (参考データ)	24
6. 慢性毒性及び発がん性試験	24
(1) 1 年間慢性毒性試験 (ラット)	24
(2) 2 年間発がん性試験 (ラット)	25
7. 生殖発生毒性試験	25
(1) 発生毒性試験 (マウス)	26
(2) 発生毒性試験 (ラット)	26
8. 対象動物を用いた安全性試験	26
(1) 14 日間安全性試験 (豚)	26
(2) 14 日間安全性試験 (鶏)	26
(3) 7 日間安全性試験 (ぶり)	26
9. 微生物学的影響に関する試験	27
(1) <i>in vitro</i> の MIC に関する知見	27
(2) 臨床分離菌に対する MIC	27
(3) 主要代謝物の抗菌性	28
10. その他	28
(1) 抗原性試験 (モルモット)	28
(2) 局所刺激性試験 (ウサギ)	28
III. 食品健康影響評価	29
1. EMEA における評価	29
2. 毒性学的 ADI について	29
3. 微生物学的 ADI について	29
4. ADI の設定について	30
・ 別紙：検査値等略称	31
・ 参照	32

〈審議の経緯〉

- 2005年 11月 29日 暫定基準告示（参照1）
2010年 2月 16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0215第85号）、関係資料接受
2010年 2月 18日 第320回食品安全委員会（要請事項説明）
2012年 9月 11日 第59回肥料・飼料等専門調査会
2012年 12月 18日 第64回肥料・飼料等専門調査会
2013年 4月 1日 第469回食品安全委員会（報告）

〈食品安全委員会委員名簿〉

(2011年1月6日まで)	(2012年6月30日まで)	(2012年7月1日から)
小泉 直子（委員長）	小泉 直子（委員長）	熊谷 進（委員長）
見上 彪（委員長代理）	熊谷 進（委員長代理*）	佐藤 洋（委員長代理）
長尾 拓	長尾 拓	山添 康（委員長代理）
野村 一正	野村 一正	三森 国敏（委員長代理）
畑江 敬子	畑江 敬子	石井 克枝
廣瀬 雅雄	廣瀬 雅雄	上安平 洌子
村田 容常	村田 容常	村田 容常

*：2011年1月13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〉

(2011年10月1日から)

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

要 約

マクロライド系の抗生物質である「ジョサマイシン」(CAS No. 16846-24-5) について、EMEA 評価書等を用いて食品健康影響評価を実施した。

評価に用いた試験成績は、薬物動態試験 (マウス、ラット、豚、鶏、ぶりとヒト)、残留試験 (豚、鶏及びぶりとヒト)、遺伝毒性試験、急性毒性試験 (マウス及びラット)、亜急性毒性試験 (ラット)、慢性毒性及び発がん性試験 (ラット)、生殖発生毒性試験 (マウス及びラット)、微生物学的影響に関する試験等の成績である。

各種遺伝毒性試験の結果から生体にとって問題となる遺伝毒性を示さないと考えられ、また、ラットを用いた 2 年間発がん性試験において発がん性はみられていないこと及び structural alert がないと考えられることから、ジョサマイシンは遺伝毒性発がん物質ではないと考えられ、ADI を設定することが可能であると判断した。

各種毒性試験で得られた、無毒性量 (NOAEL) 又は最小毒性量 (LOAEL) のうち最小値は、ラットの 1 年間慢性毒性試験の LOAEL 10 mg/kg 体重/日であったことから、これに安全係数 1,000 (種差 10、個体差 10 及び LOAEL を用いることを考慮した追加の 10) を適用し、毒性学的 ADI は、0.01 mg/kg 体重/日と設定することが適当であると考えられた。

微生物学的 ADI については、VICH 算出式により 0.00066 mg/kg 体重/日と算出した。

微生物学的 ADI は、毒性学的 ADI よりも小さいことから、ジョサマイシンの ADI を 0.00066 mg/kg 体重/日と設定した。

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：ジョサマイシン

英名：Josamycin

3. 化学名

IUPAC

英名：[(2S,3S,4R,6S)-6-[(2R,3S,4R,5R,6S)-6-[[[(4R,5S,6S,7R,9R,10R,11E,13E,16R)-4-acetyloxy-10-hydroxy-5-methoxy-9,16-dimethyl-2-oxo-7-(2-oxoethyl)-1-oxacyclohexadeca-11,13-dien-6-yl]oxy]-4-(dimethylamino)-5-hydroxy-2-methyloxan-3-yl]oxy]-4-hydroxy-2,4-dimethyloxan-3-yl]3-methylbutanoate

CAS (No. 16846-24-5)

英名：Leucomycin V 3-acetate 4^B-(3-methylbutanoate)

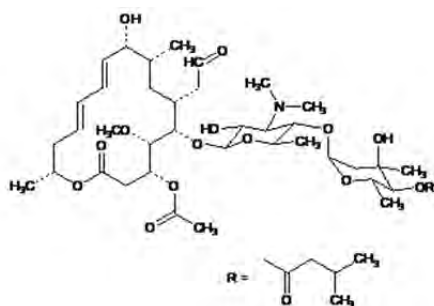
4. 分子式

C₄₂H₆₉NO₁₅

5. 分子量

827.99

6. 構造式



(参照 2)

7. 使用目的及び使用状況等

ジョサマイシンは土壌中の放線菌の一種である *Streptomyces narbonensis* var *josamyceticus* から産生された 16 員環のマクロライド系抗生物質で、グラム陽性球菌及びマイコプラズマに対し活性を有する。ジョサマイシンは、他のマクロライド系抗生物質同様、細胞質のリボソームサブユニットに作用する。

海外では、豚及び鶏のマイコプラズマ及びグラム陽性球菌による慢性呼吸器疾患等の予防及び治療に使用されている。(参照 3、4)

日本では、動物用医薬品として、豚のマイコプラズマ性肺炎、鶏（産卵鶏を除く。）の呼吸器性マイコプラズマ病及びすずき目魚類のレンサ球菌症を適応症とした飼料添加剤が承認されている。

ヒト用医薬品としては、ブドウ球菌属、レンサ球菌属等による感染症の治療にジョサマイシンの錠剤及びジョサマイシンプロピオン酸エステルシロップ剤が使用されている。

なお、ポジティブリスト制度導入に伴う残留基準値¹が設定されている。

II. 安全性に係る知見の概要

本評価書は、EMEA 評価書及び動物用医薬品承認時の試験成績等を基に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

(1) 薬物動態試験（マウス・吸収）

マウス（ICR-JCL 系、雄）にジョサマイシンを経口投与（200 mg(力価)/kg 体重）し、血漿中濃度をバイオアッセイにより測定したところ、投与 15 分後に C_{max} に達した。(参照 5)

(2) 薬物動態試験（マウス・吸収、分布）

マウス（ICR-JCL 系、雄 4 匹）に³H 標識ジョサマイシンを経口投与（200 mg(力価)/kg 体重）し、投与 1 及び 3 時間後の血漿及び組織中分布が放射活性の測定及びバイオアッセイにより調べられた。

放射活性及びバイオアッセイによる体内分布を表 1 に示す。

放射活性の測定では、血漿中濃度は、投与 1 及び 3 時間後にそれぞれ 22.9 及び 53.4 µg/mL であった。

バイオアッセイによる結果では、血漿中濃度は投与 1 及び 3 時間後にそれぞれ 2.6 µg/mL 及び 0.6 µg/mL であった。各組織中濃度は投与 1 時間後では肝臓（11.6 µg/g）で、投与 3 時間後では肺（16.6 µg/g）で最も高かった。

バイオアッセイによる測定値が放射活性測定値より低いことから、ジョサマイシンは体内で速やかに代謝され、抗菌活性を失うものと考えられた。(参照 5)

¹ 平成 17 年 厚生労働省告示第 499 号によって定められた残留基準値

表 1 マウスにおける ^3H 標識ジョサマイシンの経口投与 (200 mg (力価)/kg 体重) 後の体内分布 (組織 : $\mu\text{g/g}$ 、血漿 : $\mu\text{g/mL}$ 、尿 : $\mu\text{g/total}$)

試料	投与 1 時間後		投与 3 時間後	
	微生物学的力価 ^a	^3H 換算値	微生物学的力価 ^a	^3H 換算値
肝臓	11.6	161.1	1.5	146.5
肺	2.4	30.9	16.6	2,392
腎臓	6.1	57.7	12.2	47.5
血漿	2.6	22.9	0.6	53.4
尿 ^b	133	1,032	400	1,607

a : バイオアッセイによる測定値 b : 総尿量中の値

放射活性の体内分布を調べたところ、投与 3 時間後の組織中では、消化管で最も高く、次いで肺、肝臓、筋肉、心臓の順であった。また、放射活性は尿中に多く排泄され、胆汁及び糞中への排泄は少なかった。(参照 5)

(3) 薬物動態試験 (ラット・吸収、分布、排泄)

ラット (SD 系、雄 3 匹) に ^{14}C 標識ジョサマイシンを経口投与 (400 mg(力価)/kg 体重) し、血漿、組織中、尿、糞及び胆汁中の抗菌活性及び放射活性が測定された。

血漿及び組織中の抗菌活性及び放射活性を表 2 に示す。

血漿中濃度では、抗菌活性は投与 1 時間後に、放射活性は投与 2 時間後に C_{max} に達した。

各組織中の抗菌活性は投与 1 時間後で最高値に達し、最も高い抗菌活性は肺でみられ、次いで脾臓、肝臓、腎臓、血漿の順であった。その後漸減し、腎臓を除き各組織中から投与 6 時間後まで検出された。

放射活性は各組織とも抗菌活性より遅く最高値に達し (投与 2~4 時間後)、最も高い放射活性は肝臓でみられ、次いで脾臓、腎臓、肺、血漿の順に高かった。抗菌活性が放射活性よりも低いことから、ジョサマイシンが組織中で速やかに代謝され抗菌活性を失うものと考えられ、肝臓及び腎臓では代謝速度が速いと考えられた。(参照 5)

表 2 ラットにおける ^{14}C 標識ジョサマイシンの経口投与 (400 mg(力価)/kg 体重) 後の抗菌活性及び放射活性濃度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$ 又は g)

	試料	投与後時間 (h)				
		1	2	4	6	8
抗菌活性	肝臓	8.7	7.3	2.9	2.1	0
	腎臓	6.6	5.4	0	0	0
	肺	12.7	9.1	5.4	4.6	0
	脾臓	10.8	8.2	2.2	3.1	0
	血漿	4.0	3.5	1.7	1.4	0.1
放射活性	肝臓	147.4	188.1	109.6	99.8	34.7
	腎臓	94.4	131.5	62.4	63.1	23.8
	肺	40.5	73.4	37.8	57.6	14.8
	脾臓	53.4	149.9	176.2	88.7	24.2
	血漿	31.8	35.8	20.8	18.2	10.2

n=3

抗菌活性及び放射活性の尿及び糞中への排泄率を表 3 に、胆汁中への排泄率を表 4 に示す。

投与後 24 時間の尿中放射活性排泄率は 22.5%であったが、抗菌活性排泄率は 0.4%と低かった。糞中放射活性排泄率は投与後 24 時間で 65.5%、投与後 96 時間で 75.7%であった。

投与後 24 時間の胆汁中放射活性排泄率は 15.8%で、抗菌活性排泄率は 0.45%であった。(参照 5)

表 3 尿及び糞中の抗菌活性及び放射活性排泄率 (%)

試料	測定項目	投与後時間 (h)				
		0~6	6~24	24~48	48~72	72~96
尿	放射活性	18.41	4.04 (22.45)	0.57 (23.02)	0.07 (23.09)	0.04 (23.13)
	抗菌活性	0.34	0.06 (0.40)	0		
糞	放射活性	65.54		7.90 (73.44)	1.65 (75.09)	0.57 (75.66)

n=3 () =累計

表 4 胆汁中の抗菌活性及び放射活性排泄率 (%)

試料	測定項目	投与後時間 (h)			
		0~3	3~6	6~24	24~48
胆汁	放射活性	3.00	2.77 (5.77)	9.80 (15.77)	1.58 (17.15)
	抗菌活性	0.073	0.057 (0.130)	0.323 (0.453)	0.017 (0.470)

n=3 () =累計

(4) 薬物動態試験 (豚・吸収)

豚にジョサマイシンを強制経口投与 (20 mg(力価)/kg 体重) 又は静脈内投与 (10 mg(力価)/kg 体重) し、血清中濃度がバイオアッセイにより測定された。

結果を表 5 に示す。

経口投与では、血清中濃度は投与 2 時間後に C_{max} (2.7 μg (力価)/mL) に達し、その後急速に低下し、投与 12 時間後には検出限界未満になった。

静脈内投与では、投与後急速に低下し、投与 9 時間後には検出限界未満になった。(参照 5)

表 5 豚におけるジョサマイシンの強制経口又は静脈内投与後の血清中濃度 (μg (力価)/mL)

投与経路	投与量 (mg(力価)/kg 体重)	投与後経過時間 (h)									
		1/60	0.25	0.5	1	2	3	6	9	12	24
経口	20	ND	ND	ND	0.38	2.70	1.97	0.78	0.22	ND	ND
静脈内	10	10	7.3	5.0	2.70	1.35	0.57	0.22	ND	ND	ND

ND : 検出されず

(5) 薬物動態試験 (豚・分布) (参考データ)

豚 (3 頭/時点) にジョサマイシンを混餌投与 (5 mg (力価)/kg 体重、同量のタイロシンと混合投与) し、血清及び組織中濃度が測定された。飼料は自由摂取で 15 分以内に完全摂取させた。

結果を表 6 に示す。

血清及び肺中濃度は、投与 1 時間後に最高値 (それぞれ 0.15 μg (力価)/mL 及び 0.11 μg (力価)/g) に達し、投与 8 時間後には検出されなかった。肝臓及び腎臓ではいずれの時点でも検出されなかった。胆汁中濃度は、投与 2 及び 8 時間後に二相性のピークを示した。(参照 5)

表 6 豚におけるジョサマイシンの混餌投与 (5 mg(力価)/kg 体重) 後の平均組織中濃度 (µg(力価)/mL 又は g)

試料	投与後時間 (h)			
	1	2	4	8
血清	0.15	0.080	0.066	ND
肺	0.11	0.077	0.080	ND
肝臓	ND	ND	ND	ND
腎臓	ND	ND	ND	ND
胆汁	36	48	5.8	44

n=3 ND: 検出されず

検出限界: 血清) 0.05 µg(力価)/mL、胆汁) 1.0 µg(力価)/mL、他の組織) 0.05 µg(力価)/g

(6) 薬物動態試験 (鶏・吸収)

鶏にジョサマイシンを 5 日間飲水投与 (18,000 IU/羽/日) しても血中には蓄積しなかった。ジョサマイシン濃度は、最終投与 24 時間後で 0.1 µg/mL 未満であった。(参照 4)

(7) 薬物動態試験 (鶏・分布)

鶏に (3 羽/時点) にジョサマイシンを単回強制経口投与 (300 mg(力価)/kg 体重) し、血清、組織及び胆汁中濃度がバイオアッセイにより測定された。

結果を表 7 に示す。

血清中濃度は、投与 1 時間後に C_{max} (9.37 µg(力価)/mL) に達し、投与 8 時間後には 1.15 µg(力価)/mL となった。最も高かったのは胆汁中濃度で、投与 1 時間後に 909.0 µg(力価)/mL となり、その後急減したが投与 8 時間後に再び上昇し最高値 (1,721 µg(力価)/mL) に達した。組織中濃度はいずれも投与 1 時間後に最高値に達し、最も高い濃度は肺で見られ、次いで肝臓、小腸、脾臓、腎臓、心臓、卵巣、脂肪、筋胃、皮膚、血清、筋肉の順であった。各組織中濃度は徐々に減少した。(参照 5)

表 7 鶏におけるジョサマイシンの単回強制経口投与 (300 mg(力価)/kg 体重) 後の体内分布 (μg(力価)/mL 又は g)

試料	投与後経過時間 (h)					
	0.25	0.5	1	2	4	8
血清	3.57	5.27	9.37	3.60	2.90	1.15
胆汁	48.0	166.0	909.0	24.5	47.5	1,721
肺	5.7	20.5	126.0	21.3	12.3	3.0
肝臓	36.9	44.7	67.3	38.3	37.7	26.7
脾臓	10.4	27.5	36.2	12.3	15.2	4.2
腎臓	5.1	21.1	32.3	10.4	13.2	5.3
心筋	4.7	10.3	24.5	5.5	4.2	0.6
筋胃	15.7	14.4	13.9	4.0	14.1	0.7
小腸	5.5	6.9	42.0	8.2	12.7	4.2
筋肉	ND	2.4	5.6	2.6	4.4	ND
卵巣	4.6	20.1	20.7	14.7	14.6	9.0
脂肪	3.7	8.2	17.0	7.5	5.1	ND
皮膚	8.5	1.5	9.6	4.4	3.9	0.8

n=3 ND: 検出されず

(8) 薬物動態試験 (ぶり・吸収、分布①)

ぶり (5 尾/時点) にジョサマイシンを単回経口投与 (30 mg(力価)/kg 体重) し、血漿及び組織中濃度がバイオアッセイにより測定された。

結果を表 8 に示す。

血漿及び組織中濃度は投与 3 時間後に最高値に達し、最も高い濃度は脾臓でみられ、次いで血漿、腎臓、肝臓、筋肉、脳の順であった。血漿及び組織中濃度は漸減したが、投与 24 時間後には脳以外の血漿及び組織中から検出され、投与 48 時間後には脳、脾臓以外の血漿及び組織中から検出された。(参照 6)

表 8 ぶりにおけるジョサマイシンの単回経口投与 (30 mg(力価)/kg 体重) 後の平均血漿及び組織中濃度 (µg(力価)/mL 又は g)

試料	投与後時間 (h)					
	1	3	6	12	24	48
血漿	18.97	23.75	11.46	5.19	2.83	0.63
肝臓	5.74	9.59	3.13	1.28	0.88	0.14
腎臓	4.47	10.57	5.15	2.62	1.25	0.53 ^a
脾臓	10.69	59.71	15.24	6.01	2.27	ND
筋肉	1.97	7.15	2.29	0.30	0.20	0.03 ^a
脳	0.41	0.80	0.44	0.22	ND	ND

n=5 検出限界 (µg(力価)/mL 又は g) : 血漿 0.3、肝臓 0.06、腎臓 0.17、脾臓 0.83、筋肉 0.05、脳 0.11
 ND : 検出限界未満 a : 検出限界未満は0として計算した。

(9) 薬物動態試験 (ぶり・吸収、分布②)

ぶりにジョサマイシンを5日間混餌投与 (50 mg(力価)/kg 体重/日) し、血漿及び組織中濃度がバイオアッセイにより測定された。

結果を表9に示す。

投与開始1日目では、血漿及び組織中濃度は投与6時間後に最高値に達し、最も高い濃度は血漿でみられ、次いで脾臓、肝臓、腎臓、脳、筋肉の順であった。

5日間の投与後では、血漿及び各組織中濃度は、ほぼ一定濃度を維持しており、蓄積はみられなかった。(参照6)

表 9 ぶりにおけるジョサマイシンの5日間混餌投与 (50 mg(力価)/kg 体重/日) 後の平均血漿及び組織中濃度 (µg(力価)/mL 又は g)

試料	投与後時間					
	1日			2日	3日	5日
	1h	3h	6h	1h	1h	1h
血漿	1.80	2.93	3.16	3.29	2.51	1.81
肝臓	0.42	0.84	0.99	0.84	0.66	0.55
腎臓	0.45	0.54	0.67	0.71	0.46	0.39
脾臓	ND	0.98	1.37	1.28	0.83	0.57
筋肉	ND	ND	0.29	0.28	0.17	0.15
脳	0.28	0.47	0.66	0.55	0.40	0.20

検出限界 : 0.05 µg(力価)/mL 又は g ND : 検出限界未満

(10) 薬物動態試験 (ヒト)

健康成人男子5名にジョサマイシンを有効成分とする錠剤1gを単回経口投与したとき、投与1時間後にC_{max} (2.86 µg/mL)に達し、以後漸減したが投与6時間後においても0.77 µg/mLが検出された。

健康成人男子 6 名に同剤 1 g を経口投与した場合の血中濃度の各測定値を基に、1-コンパートメントモデル (one compartment model) により、薬物動態パラメータを求めたところ、 T_{max} は 35 分、 $T_{1/2}$ は 104 分であった。

ジョサマイシンは体内で代謝され大部分が胆汁中に排泄される。尿中へは投与後約 6 時間以内にかかなりの部分が排泄されるものと考えられ、投与後 24 時間の尿中排泄率は 11%以下であった。(参照 7~12)

(11) 代謝物

① *in vivo* 試験

各動物種におけるジョサマイシンの尿、血漿及び胆汁中の代謝物を TLC により同定した。主な代謝物を表 10 に、各動物種における代謝物の同定結果を表 11 に示す。(参照 5、6)

表 10 ジョサマイシン (JM) の尿、血漿及び胆汁中の主要代謝物

代謝産物	略号
Deisovalery Josamycin	DeIv-JM
β^2 -Hydroxy-Josamycin	JM-O1
15-Hydroxy-Josamycin O2	JM-O2
Josambose	JB

表 11 各動物種における尿、血漿及び胆汁中の主要代謝物

動物種	経口投与量 (mg(力価)/kg 体重)	試料	主要代謝物
ラット (SD 系、雄)	50	24 時間尿	DeIv-JM、JB
イヌ (ビーグル種、雌)	100	4 時間尿、 4~8 時間尿	JM、JM-O1、JM-O2、 DeIv-JM、未知代謝物
サル (アカゲザル、雌)	50	8 時間尿、 8~24 時間尿	JM、JM-O1、JM-O2、 DeIv-JM
豚	25	0~8 時間尿 8~24 時間尿	JM-O1、JM-O2、JM、 DeIv-JM
鶏	100	血漿、胆汁	JM-O2、DeIv-JM、JB
ぶり	50	血漿、胆汁	JM-O1、JM-O2、DeIv-JM
ヒト	1,000 mg/ヒト	4 時間尿、 4~8 時間尿	JM、JM-O1、JM-O2、 DeIv-JM

② *in vitro* 試験

ジョサマイシンをマウスの肝臓、ラット及びイヌの肺、肝臓、腎臓、脾臓及び小腸のホモジネート及び血漿とともにインキュベートし、代謝物を TLC により同定した。

マウス及びラットの肝ホモジネートでは、ほとんどが DeIv-JM に代謝されたのに対し、イヌの肝臓では DeIv-JM の代謝能が低かった。

ラットの組織を用いた試験では、肝臓を除く他の組織において代謝物がほとんどみられなかったことから、ジョサマイシンは主として肝臓で DeIv-JM に加水分解されて尿中に排泄されるものと考えられた。(参照 5)

2. 残留試験

(1) 残留試験 (豚)

① 5 日間投与試験

豚 (1 頭/時点) にジョサマイシンを 5 日間投与 (18 mg/kg 体重/日、投与経路不記載) し、組織 (肝臓、筋肉、脂肪及び腎臓) 中の残留がバイオアッセイにより測定された (定量限界: 肝臓、筋肉及び脂肪: 100 µg/kg、腎臓: 200 µg/kg)。

最終投与 5 日後には全ての組織中残留は定量限界未満となった。(参照 3)

② 14 日間飲水投与試験

豚 (4 頭/時点) にジョサマイシンを 14 日間飲水投与 (18 mg/kg 体重/日) し、可食部組織中残留がバイオアッセイ (定量限界: 100 µg(力価)/kg) 及び HPLC (定量限界: 100 µg/kg、検出限界: 50 µg/kg) により測定された。

バイオアッセイによる測定結果を表 12 に示す。

HPLC による測定では、ジョサマイシン濃度は定量限界又は検出限界に近い値であった。(参照 3)

表 12 豚におけるジョサマイシンの 14 日間飲水投与後のバイオアッセイによる組織中残留 (µg(力価)/kg)

試料	最終投与後時間 (日)			
	1	3	7	14
筋肉	3,000	~190	<100 又は ND	
脂肪		4,100		
皮膚		780		
腎臓	200	<100~1,660		
肝臓	ND~130	—		

ND: 不検出 —: 不明 定量限界: 100 µg(力価)/kg

③ 21 日間混餌投与試験

豚 (交雑種(LWDH)、3 か月齢、去勢雄 3 頭/時点/群) にジョサマイシン製剤を 21 日間混餌投与 (ジョサマイシンとして 0、200、400 又は 1,000 ppm) し、血清及び各組織中の残留がバイオアッセイにより測定された (検出限界: 血清: 0.1 µg(力価)/mL、胆汁: 0.3 µg(力価)/mL、その他の組織: 0.04 µg(力価)/g)。

結果を表 13 に示す。

1,000 ppm 投与群の胆汁中では最終投与 72 時間後まで検出されたが、他の組織中では全て最終投与 24 時間以内に検出限界未満になった。筋肉及び脂肪中ではいずれの時点においても検出されなかった。(参照 5)

表 13 豚におけるジョサマイシンの 21 日間混餌投与後の平均組織中残留
($\mu\text{g}(\text{力価})/\text{mL}$ 又は g)

試料	混餌濃度 (ppm)	最終投与後時間 (h)				
		0	8	24	72	240
肝臓	200	ND	ND	ND	ND	ND
	400	ND	ND	ND	ND	ND
	1,000	0.208	0.049	ND	ND	ND
腎臓	200	ND	ND	ND	ND	ND
	400	0.092	ND	ND	ND	ND
	1,000	0.158	ND	ND	ND	ND
肺	200	ND	ND	ND	ND	ND
	400	0.098	ND	ND	ND	ND
	1,000	0.294	0.077	ND	ND	ND
小腸	200	ND \sim 0.110 ^a	ND	ND	ND	ND
	400	0.149	0.046	ND	ND	ND
	1,000	0.269	0.065	ND	ND	ND
背最長筋	200	ND	ND	ND	ND	ND
	400	ND	ND	ND	ND	ND
	1,000	ND	ND	ND	ND	ND
大腿二頭筋	200	ND	ND	ND	ND	ND
	400	ND	ND	ND	ND	ND
	1,000	ND	ND	ND	ND	ND
脂肪	200	ND	ND	ND	ND	ND
	400	ND	ND	ND	ND	ND
	1,000	ND	ND	ND	ND	ND
血清	200	ND	ND	ND	ND	ND
	400	ND \sim 0.133 ^a	ND	ND	ND	ND
	1,000	0.180	ND \sim 0.140 ^a	ND	ND	ND
胆汁	200	25.98	9.26	0.51	ND	ND
	400	37.96	12.75	0.68	ND	ND
	1,000	50.07	19.53	6.64	0.42	ND

n=3 検出限界 ($\mu\text{g}(\text{力価})/\text{mL}$ 又は g) : 血清 : 0.1、胆汁 : 0.3、その他の組織 : 0.04

ND : 検出限界未満 a : 測定値の一部が ND

(2) 残留試験 (鶏)

① 5日間投与試験

鶏 (4羽/時点) にジョサマイシンを 5日間投与 (18 mg/kg 体重/日、投与経路不記載) しバイオアッセイで残留を測定したところ、最終投与 3日後には可食部組織中からジョサマイシンは検出されなかった。(参照 4)

② 7日間混餌投与試験

鶏 (肉用鶏(アーバーエーカー)、5週齢、雌雄各 3羽/時点/群) にジョサマイシン製剤を 7日間混餌投与 (ジョサマイシンとして 0 又は 500 ppm) し、血清及び各組織中の残留がバイオアッセイにより測定された (検出限界 : 0.04 µg(力価)/g 又は mL)。分析は雌雄 2羽から得られた試料を混合し 1分析試料として測定した。

結果を表 14 に示す。

最高値は最終投与終了直後の胆汁でみられ、最終投与 24 時間後まで検出されたが、最終投与 72 時間後には検出限界未満になった。最終投与直後には、血清を除く各組織から検出されたが、胆汁を除き最終投与 8 時間後には全て検出限界未満になった。血清ではいずれの時点においても検出されなかった。(参照 5)

表 14 鶏におけるジョサマイシンの 7日間混餌投与 (500 ppm) 後の平均組織中残留 (µg(力価)/mL 又は g)

試料	最終投与後時間 (h)					
	0	8	24	72	120	168
肝臓	0.16	ND	ND	ND	ND	ND
腎臓	0.08	ND	ND	ND	ND	
肺	0.07	ND	ND	ND	ND	
筋胃	0.08	ND	ND	ND	ND	
小腸	0.24	ND	ND	ND	ND	
大腿二頭筋	ND~0.08 ^a	ND	ND	ND	ND	
腹腔内脂肪	ND~0.04 ^a	ND	ND	ND	ND	
血清	ND	ND	ND	ND	ND	
胆汁	18.93	5.96	0.37	ND	ND	

n=6 (雌雄各 2羽を 1分析試料として測定)

ND : 検出限界 (0.04 µg(力価)/mL 又は g) 未満

a : 測定値の一部が ND

③ 21日間混餌投与試験

鶏 (肉用鶏(アーバーエーカー)、5週齢、8羽/時点/群) にジョサマイシン製剤を 21日間混餌投与 (ジョサマイシンとして 0、500、1,000 又は 2,500 ppm) し、血清及び各組織中の残留がバイオアッセイにより測定された (検出限界 : 血清 : 0.1 µg(力価)/mL、胆汁 : 0.3 µg(力価)/mL、その他の組織 : 0.04 µg(力価)/g)。

結果を表 15 に示す。

胆汁では、500 ppm 投与群では、最終投与 8 時間まで、1,000 及び 2,500 ppm 投与群で最終投与 24 時間後まで検出されたが、他の組織では最終投与 24 時間後までにすべて検出限界未満になった。浅胸筋、腹腔内脂肪及び血清では、全投与群において最終投与直後から検出されなかった。最終投与 72 時間後には全ての組織で検出限界未満となった。(参照 5)

表 15 鶏におけるジョサマイシンの 21 日間混餌投与後の平均組織中残留
(μg (力価)/mL 又は g)

試料	混餌濃度 (ppm)	最終投与後時間 (h)				
		0	8	24	72	240
肝臓	500	0.094	ND	ND	ND	ND
	1,000	0.173	ND~0.080 ^a	ND	ND	ND
	2,500	0.580	0.162	ND	ND	ND
腎臓	500	ND~0.063 ^a	ND	ND	ND	ND
	1,000	0.083	ND	ND	ND	ND
	2,500	0.148	ND~0.046 ^a	ND	ND	ND
肺	500	0.077	ND	ND	ND	ND
	1,000	0.158	ND	ND	ND	ND
	2,500	0.375	ND~0.213 ^a	ND	ND	ND
小腸	500	0.375	ND	ND	ND	ND
	1,000	0.687	ND~0.095 ^a	ND	ND	ND
	2,500	1.517	0.245	ND	ND	ND
浅胸筋	500	ND	ND	ND	ND	ND
	1,000	ND	ND	ND	ND	ND
	2,500	ND	ND	ND	ND	ND
大腿二頭筋	500	ND	ND	ND	ND	ND
	1,000	ND	ND	ND	ND	ND
	2,500	0.090	ND	ND	ND	ND
腹腔内脂肪	500	ND	ND	ND	ND	ND
	1,000	ND	ND	ND	ND	ND
	2,500	ND	ND	ND	ND	ND
血清	500	ND	ND	ND	ND	ND
	1,000	ND	ND	ND	ND	ND
	2,500	ND	ND	ND	ND	ND
胆汁	500	81.58	ND~15.81 ^a	ND	ND	ND
	1,000	150.74	16.19	ND~4.56 ^a	ND	ND
	2,500	593.40	233.06	20.29	ND	ND

n=8 検出限界 (μg (力価)/mL 又は g) : 血清 : 0.1、胆汁 : 0.3、その他の組織 : 0.04

ND : 検出限界未満 a : 測定値の一部が ND

④ 7日間混餌投与試験（皮膚中残留）

鶏（肉用鶏（アーバーエーカー）、5週齢、雌雄各3羽/時点/群）にジョサマイシン製剤を7日間混餌投与（ジョサマイシンとして0又は1,000 ppm）し、皮膚中の残留がバイオアッセイにより測定された（検出限界：0.05 µg(力価)/g）。

結果を表16に示す。

最終投与0時間後には、平均0.15 µg(力価)/g（0.11～0.22 µg(力価)/g）が検出されたが、最終投与24時間後に雄の1例で0.05 µg(力価)/gが検出された以外、全例が検出限界未満になった。（参照5）

表16 鶏におけるジョサマイシンの7日間混餌投与後の平均皮膚中残留（µg(力価)/g）

試料	最終投与後時間（h）				
	0	24	72	120	168
皮膚	0.15	ND～0.05 ^a	ND	ND	ND

n=6 ND：検出限界（0.05 µg(力価)/g）未満 a：測定値の一部がND

⑤ 鶏卵中残留試験

鶏（卵用鶏（白色レグホン種）、24か月齢、30羽/300 ppm投与群及び20羽/1,500 ppm投与群：鶏卵5個/時点/群）にジョサマイシン2%製剤を10日間混餌投与（ジョサマイシンとして300又は1,500 ppm）し、卵黄及び卵白中の残留がバイオアッセイにより測定された（検出限界：0.04 µg(力価)/g）。

結果を表17に示す。

300 ppm投与群では全時点で卵黄及び卵白とも検出限界未満であった。1,500 ppm投与群では、卵黄で、投与開始5日後から最終投与5日後まで検出されたが、最終投与7日後には検出限界未満になった。卵白では投与開始1日後から最終投与1日後まで検出されたが、最終投与5日後には検出限界未満になった。（参照5）

表17 鶏におけるジョサマイシンの10日間混餌投与後の平均鶏卵中残留（µg(力価)/g）

混餌濃度（ppm）	試料	投与開始後時間（日）					
		1	5	7	8	9	10
300	卵黄	ND	ND	ND			ND
	卵白	ND	ND	ND			ND
1,500	卵黄	ND	ND～0.25 ^a		0.13	0.20	0.38
	卵白	ND～0.09 ^a	ND～0.16 ^a		0.12	0.16	ND～0.16 ^a

混餌濃度 (ppm)	試料	最終投与後時間 (日)			
		1	5	7	10
300	卵黄	ND	ND	ND	ND
	卵白	ND	ND	ND	ND
1,500	卵黄	0.17	ND~0.19 ^a	ND	ND
	卵白	ND~0.37 ^a	ND	ND	ND

n=5 ND: 検出限界 (0.04 µg(力価)/g) 未満 a: 測定値の一部が ND

(3) 残留試験 (ぶり)

① 7日間混餌投与試験 (当歳魚・低水温期及び高水温期)

ぶり (当歳魚、5尾/時点) にジョサマイシン製剤を低水温期 (水温: 16.8~19.0°C) にはジョサマイシンとして 100 mg(力価)/kg 体重/日を、高水温期 (水温: 28.0~29.5°C) にはジョサマイシンとして 60 mg(力価)/kg 体重/日を 7日間混餌投与し、各組織中残留がバイオアッセイにより測定された (検出限界: 0.05 µg(力価)/g)。

結果を表 18 に示す。

筋肉からは、最終投与直後に 100 mg(力価)/kg 体重/日投与群で 2例に、60 mg(力価)/kg 体重/日投与群で 1例に残留が認められたが、以降は検出されなかった。最も高い残留は、最終投与直後の消化管でみられ、60 及び 100 mg(力価)/kg 体重/日投与群でそれぞれ最終投与 72 及び 168 時間後に検出限界未満になった。(参照 6)

表 18 ぶり (当歳魚) におけるジョサマイシンの 7日間混餌投与後の平均組織中残留 (µg(力価)/g)

試料	投与量 (mg(力価)/kg 体重/日)	最終投与後時間 (h)						
		0	6	24	72	120	168	240
筋肉	100 (低水温期)	ND~ 1.45 ^a	ND	ND	ND	ND	ND	ND
肝臓		1.07	ND~ 0.39 ^a	ND	ND	ND	ND	ND
腎臓		3.62	1.44	ND~ 0.57 ^a	ND	ND	ND	ND
消化管		17.53	6.49	3.21	1.49	0.37	ND	ND
筋肉	60 (高水温期)	ND~ 0.10 ^a	ND	ND	ND	ND	ND	
肝臓		0.28	0.12	ND~ 0.10 ^a	ND	ND	ND	
腎臓		0.28	0.25	0.15	0.10	ND	ND	
消化管		19.06	0.59	0.11	ND	ND	ND	

n=5 (腎臓のみ 100 及び 60 mg(力価)/kg 体重/日投与群でそれぞれ n=3 及び 2)
ND: 検出限界 (0.05 µg(力価)/g) 未満 a: 測定値の一部が ND

② 7日間混餌投与試験（ぶり・高水温期）

ぶり（当歳魚、5尾/時点）にジョサマイシン製剤を7日間混餌投与（ジョサマイシンとして100 mg(力価)/kg 体重/日、水温：24.0～28.0℃）し、各組織中残留がバイオアッセイにより測定された（検出限界：0.05 μg(力価)/g）。

結果を表 19 に示す。

筋肉からは最終投与直後に3例から検出されたのみで、以降は検出されなかった。最も高い残留は消化管（投与直後 3.09 μg(力価)/g）で認められ、最終投与 48 時間後まで検出された。（参照 6）

表 19 ぶり（当歳魚）におけるジョサマイシンの7日間混餌投与後の平均組織中残留（μg(力価)/g）

試料	投与量 (mg(力価)/kg 体重/日)	最終投与後時間 (h)					
		0	6	24	48	72	120
筋肉	100	ND～0.47 ^a	ND	ND	ND	ND	ND
肝臓		1.04	0.78	ND～0.36 ^a	ND	ND	ND
腎臓		1.44	0.74	ND～0.37 ^a	ND	ND	ND
消化管		3.09	2.32	1.11	0.46	ND	ND
脾臓		1.27	0.59	0.39	ND	ND	ND

n=5（腎臓：n=3、脾臓：n=2）

ND：検出限界（0.05 μg(力価)/g）未満

a：測定値の一部が ND

③ 7日間混餌投与試験（ぶり・高水温期）

ぶり（2年魚、5尾/時点）にジョサマイシン製剤を7日間混餌投与（ジョサマイシンとして100 mg(力価)/kg 体重/日、水温：23.5～25.0℃）し、血漿及び各組織中残留がバイオアッセイにより測定された（検出限界：血漿及び脳：0.01 μg(力価)/g 又は mL、その他の組織：0.05 μg(力価)/g）。

結果を表 20 に示す。

最終投与 1 時間後の残留は、血漿中で最も高かった（20.3 μg(力価)/g）が、最終投与 96 時間後には検出限界未満になった。筋肉及び脳では最終投与 96 時間後に、肝臓では最終投与 168 時間後には検出限界未満となった。腎臓、脾臓及び腸では最終投与 240 時間後まで検出された。（参照 6）

表 20 ぶり (2年魚) におけるジョサマイシンの7日間混餌投与後の平均組織中残留 (µg(力価)/g 又は mL)

試料	最終投与後時間 (h)				
	1	3	6	24	48
筋肉	1.84	2.59	2.28	0.21	ND~0.17 ^a
肝臓	7.42	6.26	4.58	0.68	0.42
腎臓	4.99	4.52	5.62	2.54	0.87
腸	5.48	6.79	4.55	1.99	2.24
脾臓	8.46	10.0	6.67	2.99	1.78
脳	0.43	0.34	0.39	0.31	0.16
血漿	20.3	14.6	10.8	2.21	0.47

試料	最終投与後時間 (h)				
	72	96	120	168	240
筋肉	ND~0.17 ^a	ND	ND	ND	ND
肝臓	0.19	0.25	0.16	ND	ND
腎臓	0.70	0.54	0.35	0.10	0.13
腸	2.20	ND~0.70 ^a	ND~0.31 ^a	ND~0.12 ^a	0.06
脾臓	0.48	0.35	0.28	ND~0.42 ^a	ND~0.07 ^a
脳	ND~0.10 ^a	ND	ND	ND	ND
血漿	ND~0.20 ^a	ND	ND	ND	ND

n=5 ND: 検出限界 (血漿、脳: 0.1 µg(力価)/g 又は mL、その他の臓器: 0.05 µg(力価)/g) 未満
a: 測定値の一部が ND

3. 遺伝毒性試験

ジョサマイシンの *in vitro* 及び *in vivo* の遺伝毒性試験結果を表 21 に示す。

復帰突然変異試験、DNA 修復試験及び小核試験のいずれの試験においても陰性の結果であり、また、EMEA の評価書においても、*S. typhimurium* を用いた復帰突然変異試験、チャイニーズハムスター由来 V79 細胞を用いた遺伝子突然変異試験及びマウス小核試験においていずれも陰性だったことが報告されていることから、ジョサ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。(参照 4、5)

表 21 ジョサマイシンの遺伝毒性試験

試験	対象	用量	結果
<i>in vitro</i> 試験			
復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> (±S9) TA98、TA100、TA1535、 TA1537、TA1538、 <i>Escherichia coli</i> (±S9) WP2 <i>uvrA</i>	0.001、0.01、0.1、1、 10、100 µg/plate	陰性
DNA 修復試験	<i>Bacillus subtilis</i> M45 株 (rec ⁻)、H17 株 (rec ⁺)	0.01、0.1、1、10、100、 1,000 µg/disk	陰性
<i>in vivo</i> 試験			
小核試験	マウス (ICR 系、雄) 骨髓細胞	1、5 g/kg 体重 24 時間間隔で 2 回経口 投与	陰性

4. 急性毒性試験

ジョサマイシンの急性毒性試験結果を表 22 及び 23 に示す。(参照 5)

表 22 ジョサマイシン (0.5%CMC 溶液に懸濁) の LD₅₀ (mg/kg 体重)

動物種	投与経路	雄	雌	症状及び死亡
マウス (ICR 系、 7 週齢)	経口	>7,000 ^a	>7,000 ^a	2/10 例 (雌雄各 1 例) が死亡 わずかに自発運動低下、12 時間後 回復
	皮下	>3,000 ^a	>3,000 ^a	死亡例なし やや自発運動低下
	腹腔内	>3,000	>3,000	死亡例あり 自発運動低下、12 時間後回復
ラット (Wistar 系、 7 週齢)	経口	>7,000 ^a	>7,000 ^a	死亡例なし わずかに自発運動低下、12 時間後 回復
	皮下	>3,000 ^a	>3,000 ^a	死亡例なし やや自発運動低下
	腹腔内	>3,000	>3,000	死亡例あり 自発運動低下、12 時間後回復

a 最小致死量

表 23 ジョサマイシン（酒石酸水溶液）のLD₅₀（mg/kg 体重）

動物種	投与経路	雄	雌	症状及び死亡
マウス (ICR系、 7週齢)	皮下	>5,000 ^a	>5,000 ^a	自発運動低下、腹位姿勢、12時間後回復
	静脈内	>355	>372	四肢痙攣、興奮、全身震え、跳躍、間代性・強直性痙攣 死亡は30分以内
ラット (Wistar系、 7週齢)	皮下	>5,000 ^a	>5,000 ^a	自発運動低下、腹位姿勢、12時間後回復
	静脈内	>390	>395	四肢痙攣、興奮、全身震え、跳躍、間代性・強直性痙攣 死亡は30分以内

a 最小致死量

ジョサマイシンの主要代謝物についてマウスに静脈内投与した時のLD₅₀は、未変化体が323 mg(力価)/kg体重、JM-Oが657 mg(力価)/kg体重、DeIv-JMが315 mg(力価)/kg体重であった。臨床症状として、振戦、痙攣、呼吸数減少、運動失調、自発運動の低下及び筋緊張度低下がみられた。(参照5)

5. 亜急性毒性試験

(1) 5週間亜急性毒性試験（ラット）

ラット（Wistar系、雌雄各10匹/群）を用いたジョサマイシンの5週間強制経口投与（0、100、300、1,000又は3,000 mg/kg体重/日）による亜急性毒性試験が実施された。

一般状態、体重及び摂餌量に投与による影響はみられなかった。

血液学的検査では、300 mg/kg体重/日以上投与群の雌でRBCが減少し、3,000 mg/kg体重/日の雌雄でHt及びHbが減少した。なお100から1,000 mg/kg体重/日投与群の雌で観察されたWBCの減少は最高用量では認められなかった。

血液生化学的検査では、雌の全投与群でALTの増加が、1,000 mg/kg体重/日以上投与群の雄でTPの減少がみられたが、関連する病理組織学的変化はみられなかった。なお、雌の100、300及び1000 mg/kg体重/日投与群でALPの増加がみられたが、最高用量では認められなかった。

臓器重量では、300 mg/kg体重/日以上投与群の雌で肝重量の増加がみられたが、3,000 mg/kg体重/日投与群の雌1例に胆管上皮の腫脹及び胆管の軽度の過形成がみられた以外に病理組織学的変化はみられなかった。(参照4、5)

本試験におけるNOAELは100 mg/kg体重/日と考えられた。

(2) 13週間亜急性毒性試験（ラット）

ラット（Fischer系、6週齢、雌雄各10匹/群）を用いたジョサマイシンの13週間混餌投与（0、1,600、3,200、6,300、12,500又は25,000 ppm：雄、0、91、168、361、

717 又は 1,467 mg/kg 体重/日並びに雌、0、98、196、386、773 又は 1,484 mg/kg 体重/日に相当) による亜急性毒性試験が実施された。

1,600、6,300、12,500 及び 25,000 ppm 投与群の雄で体重が対照群を軽度以下に下回ったが、用量相関性はなく統計学的有意差もなかった。

血液学的検査では、6,300 ppm 以上投与群の雌で PLT の有意な減少がみられたが、その程度は軽度であった。

血液生化学的検査では、1,600 ppm 以上投与群の雌雄で TP の減少がみられ、25,000 ppm 投与群の雌で Alb の有意な減少がみられた。TP の減少については、用量相関性のない軽度なものであった。

12,500 ppm 及び 25,000 ppm 投与群の少数例で盲腸拡張がみられたが、抗菌性物質の投与による腸内細菌叢の変動に伴う変化であり、げっ歯類等の盲腸の特異性を考慮すると、毒性学的意義に乏しい変化と考えられた。(参照 13)

6,300 ppm 以上投与群の雌で PLT の有意な減少がみられたことから、本試験における NOAEL は 3,200 ppm (196 mg/kg 体重/日) と考えられた。

(3) 6 か月間亜急性毒性試験 (ラット)

ラット (Wistar 系、雌雄各 10 匹/群) を用いたジョサマイシンの 6 か月間強制経口投与 (0、300、1,000 又は 3,000 mg/kg 体重/日) による亜急性毒性試験が実施された。

300 mg/kg 体重/日投与群を除き対照群を含む各群に死亡例がみられたが、用量相関性はみられなかった。

1000 mg/kg 以上投与群で軽度な体重低下が認められた。血液学的検査において、一部対照群との有意差がみられたが、用量相関性に乏しく正常範囲内の値であり、一般状態、血液生化学的検査、剖検、臓器重量及び病理組織学的検査に投与による影響はみられなかった。(参照 5)

本試験における NOAEL は 300 mg/kg 体重/日と考えられた。

(4) 6 か月間亜急性毒性試験 (イヌ、プロピオン酸ジョサマイシン) (参考データ)

イヌを用いたプロピオン酸ジョサマイシンの 6 か月間亜急性毒性試験 (0、50、120、300 又は 1,800 mg/kg 体重/日、投与経路不記載) が実施され、300 mg/kg 体重/日の用量まで毒性影響はみられなかった。(参照 4)

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)

ラット (Fischer 系、6 週齢、雌雄各 10 匹/群) を用いたジョサマイシンの 1 年間混餌投与 (0、200、1,000、5,000 又は 25,000 ppm : 雄、0、10、50、260 又は 1,310 mg/kg 体重/日並びに雌、0、10、60、290 又は 1,460 mg/kg 体重/日に相当) による慢性毒性試験が実施された。

25,000 ppm 投与群の雄で体重増加抑制がみられたが、摂餌量に変化はなかった。

25,000 ppm 投与群の雌で、肝比重量と胆管増生の発生率が、血清総ビリルビン値の増加を伴って対照群より有意に増加したが、雄ではみられなかった。

血液学的検査では、雌雄ともに用量相関的に PLT の減少がみられたが、病理組織学的検査では骨髄に変化はみられなかった。PLT の減少は、雄では 200 ppm 以上投与群で、雌では 25,000 ppm 投与群で対照群より有意であった。

血液生化学的検査では、5,000 及び 25,000 ppm 投与群の雄で BUN の増加がみられたが、腎臓に病理組織学的変化はみられなかった。また、1,000 ppm 以上投与群の雌雄で AST の増加がみられた。

25,000 ppm 投与群の雄で体重増加抑制に伴い、脾臓の比重量が有意に減少し、脳の比重量が有意に増加したが、病理組織学的変化はみられなかった。

1,000 ppm 以上投与群の雄及び 5,000 以上投与群の雌の少数例で盲腸拡張がみられたが、抗菌性物質の投与による腸内細菌叢の変動に伴う変化であり、げっ歯類等の盲腸の特異性を考慮すると、毒性学的意義に乏しい変化と考えられた。

(参照 14)

200 ppm 以上投与群の雄で PLT の有意な減少がみられたことから、本試験における LOAEL は 10 mg/kg 体重/日と考えられた。

(2) 2年間発がん性試験 (ラット)

ラット (Fischer 系、雌雄各 50 匹/群) を用いたジョサマイシンの 2 年間混餌投与 (0、12,500 又は 25,000 ppm : 雄、0、529 又は 1,116 mg/kg 体重/日並びに雌、0、621 又は 1,290 mg/kg 体重/日に相当) による発がん性試験が実施された。

死亡率、摂餌量及び血液学的検査のパラメータに、用量依存的な影響はみられなかった。25,000 ppm 投与群で、対照群に比べ雌雄各々 10.32 及び 6.74% の体重増加抑制がみられた。

全投与群で軽度から中等度の盲腸拡張がみられたが、抗菌性物質の投与による腸内細菌叢の変動に伴う変化であり、げっ歯類等の盲腸の特異性を考慮すると、毒性学的意義に乏しい変化と考えられた。

対照群を含む全ての投与群で多くの組織に腫瘍がみられた。

雄では、発生率は精巣で最も高く、次いで下垂体、副腎、脾臓、肝臓、甲状腺及び膵臓の順に高かった。

雌では、子宮で最も高く、次いで下垂体、乳腺、脾臓、甲状腺、肝臓、肺及び副腎の順に高かった。

腫瘍病変は他の組織でもみられたが、発生率は非常に低いものであり、対照群と投与群で腫瘍発生率に統計的有意差はなかった。

発がん性はみられなかった。(参照 15)

なお、EMEA では、ジョサマイシンは structural alert がなく、遺伝毒性もないことから、発がん性試験は必要ないとされている。(参照 4)

7. 生殖発生毒性試験

多世代生殖毒性試験は実施されていない。

(1) 発生毒性試験 (マウス)

マウス (ICR 系、20 匹/群) の妊娠 7 日から妊娠 13 日までジョサマイシンを強制経口投与 (0、300 又は 3,000 mg/kg 体重/日) し、発生毒性試験が実施された。妊娠 18 日に各群 15 匹を帝王切開し、胎児を検査した。残りの各群 5 匹は自然分娩させ児動物について生後 21 日まで観察した。

母動物では、投与による影響はみられなかった。

胎児では、3,000 mg/kg 体重/日投与群で死亡率の増加がみられた。着床数、生存胎児数、外表及び骨格検査結果等に、投与に起因する影響はみられなかった。

児動物については、平均出産児数、死亡児数、平均体重並びに外表、内臓及び骨格異常に投与による影響はみられなかった。(参照 4、5)

本試験における NOAEL は、胎児に対して 300 mg/kg 体重/日であり、催奇形性は認められなかったとしている。

(2) 発生毒性試験 (ラット)

ラット (Wistar、20 匹/群) の妊娠 8 日から妊娠 14 日までジョサマイシンを強制経口投与 (0、300 又は 3,000 mg/kg 体重/日) して発生毒性試験が実施された。妊娠 21 日に各群 15 匹を帝王切開し、胎児を検査した。残りの各群 5 匹は自然分娩させ児動物について生後 21 日まで観察した。

その結果、母動物、胎児及び出産後の児の発育ともに投与による影響はみられなかった。(参照 4、5)

本試験における NOAEL は、最高用量である 3,000 mg/kg 体重/日であり、催奇形性は認められなかったとしている。

8. 対象動物を用いた安全性試験

(1) 14 日間安全性試験 (豚)

豚 (交雑種(LW)、1 か月齢、去勢雄 4 頭/群) を用いたジョサマイシンの 14 日間強制経口投与 (0、10 又は 20 mg(力価)/kg 体重/日) による安全性試験が実施された。

剖検で、20 mg(力価)/kg 体重/日投与群において肺の軽度の肝変化及び腎臓の軽度の退色が各 1 例にみられたのみで、その他の検査項目に投与による影響はみられなかった。

(参照 5)

(2) 14 日間安全性試験 (鶏)

鶏 (肉用鶏、35 日齢、雌雄各 10 羽/群) を用いたジョサマイシンの 14 日間混餌投与 (0、600 又は 1,200 ppm) による安全性試験が実施された。

1,200 ppm 投与群で軽度かつ一過性の体重増加抑制がみられたのみで、その他の検査項目に投与に起因する影響はみられなかった。(参照 5)

(3) 7 日間安全性試験 (ぶり)

ぶり (20 尾/群) を用いたジョサマイシンの 7 日間混餌投与 (0、60 又は 120mg(力価)/kg 体重/日) による安全性試験が実施された。

死亡例はみられず、一般状態、体重、血液学的検査及び病理組織学的検査に投与に起因する影響はみられなかった。(参照 6)

9. 微生物学的影響に関する試験

(1) *in vitro* の MIC に関する知見

ヒトの腸内細菌叢への影響の可能性を評価するために *in vitro* 試験が実施され、*Bacteroides fragilis* における MIC₅₀ が 0.70 µg/mL であった。他の 2 種 (*Escherichia coli* 及び *Bifidobacterium* sp.) は耐性を示した。(参照 4)

(2) 臨床分離菌に対する MIC

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調査」(平成 18 年 9 月～平成 19 年 3 月実施)において、ヒト臨床分離株等に対するジョサマイシンの約 5×10⁶ CFU/spot における MIC が調べられている(表 24)。(参照 16)

表 24 ヒト腸内細菌におけるジョサマイシンの 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～>128
<i>Enterococcus</i> sp.	30	2	1～>128
嫌気性菌			
<i>Bacteroides</i> sp.	30	4	0.12～>128
<i>Fusobacterium</i> sp.	20	>128	64～>128
<i>Bifidobacterium</i> sp.	30	0.12	≤0.06～>128
<i>Eubacterium</i> sp.	20	≤0.06	≤0.06～0.25
<i>Clostridium</i> sp.	30	16	2～>128
<i>Peptococcus</i> sp./ <i>Peptostreptococcus</i> sp.	30	1	≤0.06～4
<i>Prevotella</i> sp.	20	0.12	≤0.06～2
<i>Lactobacillus</i> sp.	30	1	0.25～4
<i>Propionibacterium</i> sp.	30	≤0.06	≤0.06～32

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 *Eubacterium* sp. 及び *Propionibacterium* sp. の ≤0.06 µg/mL であり、MIC_{calc}² は 0.180 µg/mL (0.00018 mg/mL) と算出された。

² 薬剤がその菌に対して活性を有する関連のある属の平均 MIC₅₀ の 90%信頼限界の下限值から算出

(3) 主要代謝物の抗菌性

JM-O₁及びJM-O₂はジョサマイシンの2分の1の抗菌活性を示したが、DeIv-JMの抗菌性はジョサマイシン及びJM-Oより低かった。(参照5、17)

表 25 主要代謝物の抗菌性の比較 (µg(力価)/mL)

菌株	JM	JM-O ₁	JM-O ₂	DeIv-JM
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	0.39	0.78	0.78	6.25
<i>Staphylococcus aureus</i> FDA 209P	0.78	1.56	1.56	12.5
<i>S. aureus</i> Smith	1.56	3.13	3.13	25
<i>S. aureus</i> Shimanishi	>100	>100	>100	>100
<i>S. aureus</i> Onuma	>100	>100	>100	>100
<i>S. aureus</i> Kogure	1.56	1.56	3.13	25
<i>S. aureus</i> Tanaka	1.56	1.56	3.13	12.5
<i>S. aureus</i> (JM-resistant)	>100	>100	>100	>100
<i>Mycobacterium</i> 607	3.13	6.25	6.25	>100
<i>Mycobacterium phlei</i>	1.56	3.13	3.13	100
<i>E. coli</i> NIHJ	>100	100	>100	>100
<i>E. coli</i> Kauffmann O- II	>100	>100	>100	>100
<i>Klebsiella pneumoniae</i> PCI 602	12.5	12.5	25	>100
<i>Salmonella</i> Tyhi H901W	>100	>100	>100	>100
<i>Shigella flexneri</i> 2a 1675	50	50	50	>100
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 8689	>100	>100	>100	>100
<i>Proteus vulgaris</i> OXK	>100	>100	>100	>100

10. その他

(1) 抗原性試験 (モルモット)

モルモットを用いて、ジョサマイシンの抗原性について検討されたが、アナフィラキシーは起こさず、Schultz-Dale 反応及びPCA 反応もみられなかった。(参照4)

(2) 局所刺激性試験 (ウサギ)

ウサギ (日本白色種、雄、10 匹) にジョサマイシンの水溶液 (約 1.5 mg/mL) を左眼に点眼 (0.1 mL/匹) し、右目に蒸留水を同量点眼後、0.5、1、2、4、8 及び 24 時間後に Draize 法により刺激性を検査した。

その結果、ウサギの眼に対する刺激性は認められなかった。(参照4)

Ⅲ. 食品健康影響評価

1. EMEA における評価

EMEA では、毒性学的 ADI の設定について、ラットの 5 週間亜急性毒性試験の NOAEL 100 mg/kg 体重/日に、毒性試験の期間が不十分であることを考慮した安全係数 200 を適用して、毒性学的 ADI 0.5 mg/kg 体重/日を設定した。(参照 4)

微生物学的 ADI については、*in vitro* の *Bacteroides fragilis* における MIC₅₀ 0.0007 mg/mL に基づき設定している。これに糞便量 150 mL、腸内細菌叢が暴露される分画として 0.85、ヒト体重に 60 kg を適用し、CVMP の算出式により、微生物学的 ADI は、下記のとおり算出された。

$$\text{ADI} = \frac{\frac{\text{最小 MIC (0.7 } \mu\text{g/mL)} \times \text{CF2 (1)}}{\text{CF1 (1)}} \times \text{1 日の糞便量 (150 mL)}}{\text{微生物が利用可能な分画 (0.85)} \times \text{ヒト体重 (60 kg)}}$$
$$= 0.002 \text{ mg/kg 体重/日}$$

CF1、CF2：最も感受性の高い菌種の MIC を ADI 算出の用いたため 1 を適用した。

微生物学的 ADI (0.002 mg/kg 体重/日) が毒性学的 ADI (0.5 mg/kg 体重/日) の 250 分の 1 の値であることから、EMEA では、ジョサマイシンの ADI として、微生物学的 ADI を採用することが適当であるとしている。(参照 4)

2. 毒性学的 ADI について

ジョサマイシンは、各種遺伝毒性試験の結果から生体にとって問題となる遺伝毒性を示さないと考えられた。また、ラットを用いた 2 年間発がん性試験において発がん性はみられていないこと及び structural alert がないと考えられることから、ジョサマイシンは遺伝毒性発がん物質ではないと考えられ、ADI を設定することが可能であると判断した。

各種毒性試験で得られた、NOAEL 又は LOAEL のうち最小値は、ラットの 1 年間慢性毒性試験における PLT の減少による LOAEL 10 mg/kg 体重/日であった。

毒性学的 ADI の設定に当たっては、安全係数として種差 10、個体差 10 に LOAEL を用いることを考慮した追加の 10 の 1,000 を適用することが適当と考えられた。

したがって、ジョサマイシンの毒性学的 ADI は 0.01 mg/kg 体重/日と設定することが適当であると考えられた。

3. 微生物学的 ADI について

VICH ガイドラインに基づく新たな試算を行うに足る詳細な知見が、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調査」から得られており、この結果から微生物学的 ADI を算出することができる。

ジョサマイシンの MIC_{calc} に 0.00018 mg/mL、結腸内容物に 220 g/日、細菌が暴露される分画に 1、ヒト体重に 60 kg を適用し、VICH の算出式に基づいて微生物学的 ADI を算出すると、以下のとおりとなる。

$$ADI = \frac{0.00018^{*1} \times 220^{*3}}{1^{*2} \times 60} = 0.00066 \text{ (mg/kg 体重/日)}$$

*1：薬剤がその菌に対して活性を有する関連のある属の平均 MIC_{50} の 90%信頼限界の下限值から算出

*2：細菌が暴露される分画

*3：結腸内容物の量

微生物学的 ADI については、現時点において国際的コンセンサスが得られている VICH 算出式により求められた 0.00066 mg/kg 体重/日を採用するのが適当と考えられる。

4. ADI の設定について

微生物学的 ADI (0.00066 mg/kg 体重/日) は、毒性学的 ADI (0.01 mg/kg 体重/日) よりも小さいことから、ジョサマイシンの ADI としては、次の値を採用することが適当と考えられる。

ジョサマイシン 0.00066 mg/kg 体重/日

暴露量については、当評価結果を踏まえ暫定基準値の見直しを行う際に確認することとする。

〈別紙：検査値等略称〉

略称	名称
ADI	一日摂取許容量
Alb	アルブミン
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
CMC	カルボキシメチルセルロース
CVMP	欧州医薬品審査庁動物用医薬品委員会
EMA	欧州医薬品審査庁
Hb	ヘモグロビン (血色素) 量
HPLC	高速液体クロマトグラフィー
Ht	ヘマトクリット値
LD ₅₀	半数致死量
LOAEL	最小無毒性量
MIC	最小発育阻止濃度
MIC ₅₀	50%最小発育阻止濃度
NOAEL	無毒性量
PLT	血小板数
RBC	赤血球数
T _{1/2}	消失半減期
TLC	薄層クロマトグラフィー
T _{max}	最高濃度到達時間
TP	総タンパク質
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
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、厚生労働省告示第 499 号）
2. The Merck Index, 14th Edition, 2006
3. EMEA: COMMITTEE FOR VETERINARY MEDICINAL PRODUCTS, JOSAMYCIN (pigs), SUMMARY REPORT, 1998
4. EMEA: COMMITTEE FOR VETERINARY MEDICINAL PRODUCTS, JOSAMYCIN (CHICKEN), SUMMARY REPORT, 1995
5. 動物用ジョサマイシンの試験成績の概要
6. 水産用ジョサマイシンの試験成績の概要
7. 大藪卓, 矢野邦一郎, 宮本文雄, 渡辺俊一, 石田仁, 長谷川嘉朗ら: ジョサマイシンの研究 第 3 報. THE JAPANESE JOURNAL OF ANTIBIOTICS, 1969 ; XX II -2 ; 159-172
8. 立花章男: ジョサマイシンの薬動学的プロフィール. 新薬と治療, 1978 Vol.28 No.1 ; 8-11
9. 真下啓明, 加藤康道, 斉藤玲, 富沢磨須美, 桜庭喬匠, 松本義孝ら: Josamycin の基礎的臨床的研究. CHEMOTHERAPY, 1969 Vol17 No.4 ; 604-609
10. 勝正孝, 藤森一平, 小川順一, 大迫六郎, 伊藤周治, 島田佐仲: Josamycin の使用経験. CHEMOTHERAPY, 1969 Vol17 No.4 ; 630-635
11. 川島正好, 酒井克治, 中尾純一: Josamycin の基礎的研究ならびに臨床試用成績について. CHEMOTHERAPY, 1969 Vol17 No.4 ; 694-699
12. 石神襄次, 原信二, 福田泰久, 速見晴朗: 泌尿器科領域における Josamycin の応用. CHEMOTHERAPY, 1969 Vol17 No.4 ; 701-704
13. 池崎信一郎, 西川秋佳, 古川文夫, 今沢孝喜, 三井雅之及び榎並倫宣ら: ジョサマイシンの F344 ラットにおける 13 週間亜慢性毒性試験. 衛生試験所報告, 1995 ; 第 113 号 : 44-50
14. K Kasahara, A Nishikawa, F Furukawa, S Ikezaki, Z Tanakamaru, IS Lee, et al: A chronic toxicity study of josamycin in F344 rats. Food and Chemical Toxicology, 2002; Vol.40: 1017-1022
15. K KASAHARA, A NISHIKAWA, F FURUKAWA, S IKEZAKI, Z TANAKAMARU, H TAKAGI, et al: Suppressive Effects of Josamycin on the Development of Altered Liver Cell Foci and Chronic Nephropathy in a Carcinogenicity Study. Food and Chemical Toxicology, 1999; Vol.37: 61-67
16. 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
17. Takashi Osono, Kiruko Moriyama, Akio Tachibana, Kuniichiro Yano and Takuro Sado: Metabolism of Josamycin. 山之内研報, 1977; No.3:143-157