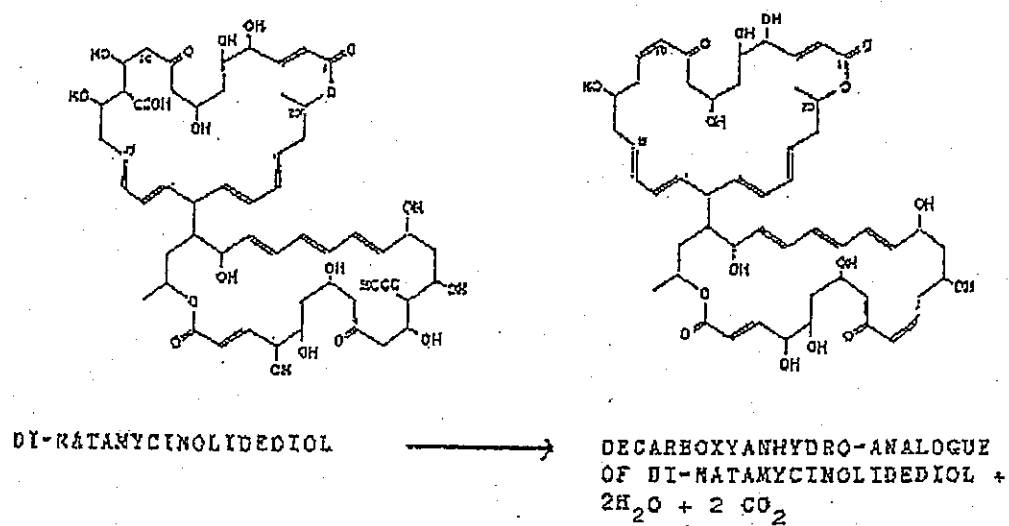
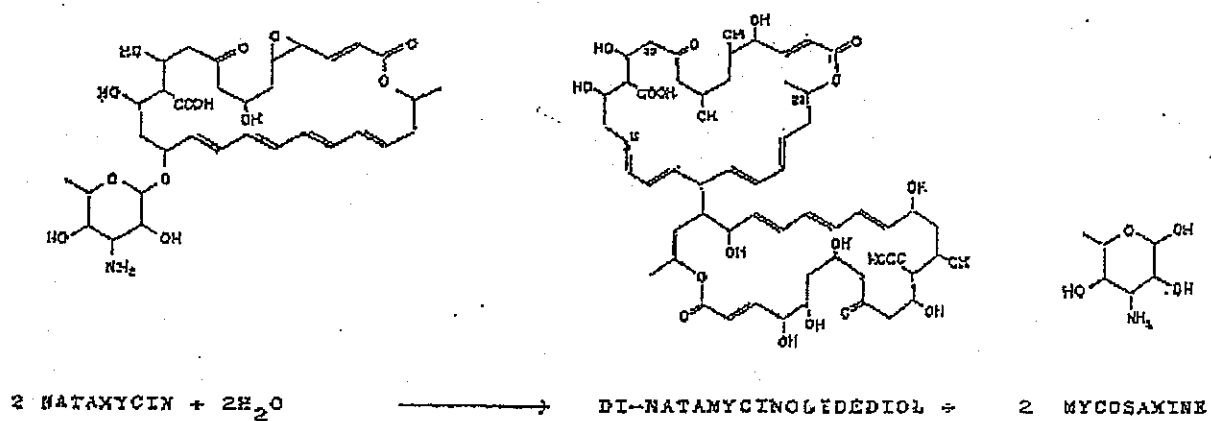
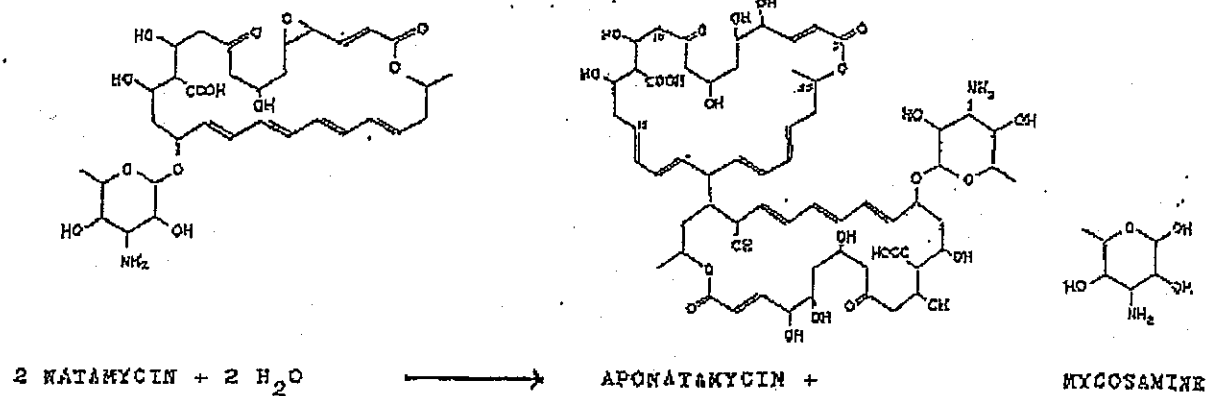


別紙6： ナタマイシンの分解物



急性毒性 30)

1% 又は 5% 懸濁液の処理物	分解率 %	マウス i.p. LD50 mg/kg
クエン酸で pH 2.2 に保持	74	200
暗所で pH 6.3 に保持	13	200-400
明所で pH 6.3 に保持	80	400-600
pH 8.5 に保持 (NaOH)	0	150-250
pH 8.5 に保持 (NaOH)	5	450
pH 8.5 に保持 (NaOH)	100	> 800
pH 6.3 に保持 (0.1% H ₂ O ₂)	9	200-400
pH 5.0 に保持 (UV 光線)	0	170
pH 5.0 に保持 (UV 光線)	50	200

マウスでの腹腔内投与による急性毒性

当該試験物と3種の分解物の急性毒性については腹腔内投与で毒性を試験した。これらの3種のナタマイシン分解物、即ちアポナタマイシン、塩酸マイコサミン及びジナタマイシノライドジオールは貯蔵中におけると同様に微生物によってもナタマイシンから作られるかも知れない。当該毒性物は1%デンプン懸濁液として、分解物は0.9%食塩水溶液として投与した。Levinskas¹³⁾が報告しているように当該毒物では性別による毒性の違いがあったが分解物には見られなかった。下記のLD50値が計算された(pは常に0.05である)。

ナタマイシン	950 mg/kg	(759-1240)
塩酸マイコサミン	3722 "	(3218-4304)
アポナタマイシン	3189 "	(2651-3837)
ジナタマイシノライドジオール	>4000 "	

当該毒性物の分解物の急性毒性は当該毒性物自身よりも明らかに低いことが結論付けられる³¹⁾。

短期反復投与毒性試験

ラット

雌雄各15匹の投与群にコントロール群として5%の水、5%又は0.5%のクエン酸を含む食餌、試験群として500ppmのナタマイシン又は酸分解ナタマイシン

の5% 溶液（ナタマイシンはほぼ14%の活性が残るまで0.5% クエン酸に懸濁させた）を含む食餌を98日間給餌した。死亡はなく、体重増加は処理に影響されず、血液学的検査又は腎臓と肝臓の絶対体重測定の結果に有害反応は見られなかった。関連する器官の重量に小さな差があるのは偶然で処理によるものではないと考えられた。器官を広範囲に顕微鏡検査したところ、ナタマイシン分解物による障害は検出出来なかった³²⁾。

試験中に、ラットにナタマイシンで処理したチーズを7週間給餌した。当該チーズにはフレッシュとオールド・チーズの両者が含まれた。行動又は外観に異常な現象は見られなかった。ナタマイシンは0.5% 及び5% 懸濁液として5mm厚のスライスチーズに使用され、結果として各25mlの本懸濁液が1,000平方cmのチーズに使用された。スライスチーズはラットの基礎食に組み込まれた（食餌の20% まで）。心臓、脾臓、腎臓及び肝臓の重量はナタマイシン又はその分解物の影響を受けた偏差は示されなかった。処理群の肺と胸腺は対照群より小さかった。高投与群（360ppm）での副腎の重量はやや増加した。顕微鏡的及び肉眼的観察からは、ナタマイシン又はその分解物に由来すると見られる偏差はなかった。投与によりフレッシュチーズを給餌されたラットで食欲が減少したが、これはオールド・チーズの場合には観察されなかった³³⁾。

他の試験では、表面をナタマイシンで処理したりんとソーセージを規定食餌3に対して1の割合で混合してラットに3ヶ月間給餌した。りんごとソーセージの表面に使用したナタマイシン濃度はヨーロッパでこれらの表面に通常使用される濃度のものと、その25倍のものであった。人が1日に摂取するりんごとソーセージの量から計算した安全係数は、処理したりんごで少なくとも1,250、ソーセージで25,000であった³⁴⁾。

(1 1) 一般薬理試験

イヌにおける血液検査、尿検査、心電図、眼科学的検査で影響の兆候は見られなかった。剖検、顕微鏡検査も何ら変化はなかった¹⁴⁾。

(1 2) アレルギー反応に対する試験

アレルギー反応の履歴はナタマイシンの製造に平均5年間従事した73名の作業員で検出されなかった。アレルギー反応は皮膚又は皮内攻撃投与により試験された71名で発生しなかった³⁵⁾。種々の形態の湿疹患者102名で行った反復パッチ・テストではナタマイシンによる感作の可能性は何も示されなかった³⁶⁾。

(13) 人における観察

被験者人数	ナタマイシン経口投与量	症 状	
不明	300～400 mg/日	時々悪心、嘔吐、下痢	(37)
2500人以上	不明	刺激感受性又は有害反応なし	
不明	400～600 mg/日	有害反応なし	
不明	600 mg/日以上	一時的な悪心又は鼓腸	
1	600～1000 mg/日	悪心、嘔吐、下痢	(38)

人における悪心、嘔吐及び下痢は時折1日当たり300～400 mg のナタマイシンの経口投与により発生した。末梢血液の変化は観察されなかった。2500人以上がナタマイシン処理を受けたが感作或いは有害反応はなかった。毎日、400～600 mg のナタマイシンの経口投与を受けた被験者に有害反応はなかった。1日600 mg 以上の人への投与は一時的な悪心又は鼓腸を発生させた³⁷⁾。

全身性糸状菌症等で1日当たり25～1,000 mgを13～180日間反復経口投与された10人の患者群のうち、1日当たり600～1000 mgを投与された1人は悪心、嘔吐及び下痢が発生した³⁸⁾。

2 体内動態

代謝試験

通常の発酵工程の基質として¹⁴C-ラベルの酢酸ナトリウムを加えることによりナタマイシンが¹⁴Cでラベルされた。¹⁴C-ラベルは環状システムが酢酸塩から成っているため、環状システムの中で均一に分布されていると想定された。1.48 mcu/g の特殊な放射能を持つA118バッチが使用された。精製工程にかけても挟雑物を全て除去することは不可能であった；TLC（薄層クロマトグラフィ）に基づく挟雑物レベルは1～2%であった。

ラット

ラットは50 mg/kg の¹⁴C-ナタマイシンの経口投与が行われた後、オートラジオグラフ及びバイオオートグラフによる分布が測定された。

結腸には抗生物質活性が観察されなかった。放射能写真による試験結果は、微量のナタマイシンが血液に吸収され、大部分は糞便中に排泄されることを示している。投与後24時間で盲腸と結腸に抗生物質活性が見られず放射能が存在するのは、ナタマイシンが盲腸と結腸の菌叢によって非生物活性物質に分解されると見なすべきである³⁹⁾。

放射能をラベルしたナタマイシンをラットに経口投与した数種の試験では、0.1～

10 mg/kg の投与範囲ではたった5-7% の経口投与放射能のみが吸収されうると結論付けられる。少なくとも90%の投与ナタマイシンが胃腸を通過し吸収されずに糞便中に排出される。薄層クロマトグラフによる分析では、胃と腸のナタマイシンは完全な形であることが示された。しかし、盲腸では急速な部分的分解により親水性の高い物質がつくられている。腎臓は吸収された放射能のバリアと考えられる。それは吸収された放射能の大部分が膀胱で検出されるからである。さらに、放射能の排泄は尿中では主としてナタマイシンの分解物中及び少量の完全なナタマイシン中に検出される⁴⁰⁾。

イヌ

チーズのプラスチック被覆剤中にナタマイシンを0.75-0.88 mg/kg 含むもの、ゼラチン・カプセル中に1.00-1.03 mg/kg 含むもの、又は1%デンプン溶液に0.95-1.0 mg/kg 含むものがイヌに投与されて、ナタマイシンの吸収と排泄がオートラジオグラフで測定された。もう1件の実験では、¹⁴C-ナタマイシンを1 mg/ml の濃度で含む5 ml のプロピレングリコールが静脈に注射された。チーズの実験では、約2%のナタマイシン含量の放射性プラスチック被覆剤を20 g のチーズ・ブロックの1つの面に付着させた。単独のナタマイシンは通常の発酵工程中の基質である酢酸ナトリウムをラベルして結合させた。投与後に2-5日にわたって毎日糞便と尿を集めて液体シンチレーション・カウンターで放射能を測定した。経口投与では、大部分の放射能が24時間以内に糞便中に排泄され、尿中には投与量の4%以下であった。この排泄パターンは3種の経口投与とも一定であった。プロピレングリコールに含ませたナタマイシンの静脈注射では、ほぼ等量のナタマイシンが糞便と尿で測定された。これは吸収が胆汁の排泄を伴って行われることを示している。経口投与後の糞便中のナタマイシンの排泄は胃腸での吸収が行われなかったためか或いは胆汁を介して全体的なナタマイシンの吸収が行われるのかは、この実験からは明白でない³⁹⁾。

人

ボランティアの尿が経口投与後にナタマイシンについて検査された。実験条件は尿の全ての偶発的汚染経路が回避されるように設定された。この人の全ての連続したサンプル（総数で27）には尿中にナタマイシンが検出されなかった。初期の試験におけるボランティアの尿での偶発的な陽性結果は尿サンプルの汚染によると結論付けられる⁴¹⁾。

人におけるナタマイシンの吸収、分散、排泄、或るいは代謝に関する情報は殆ど入手出来ない。人に500 mg のナタマイシンを注射した後の血液中にナタマイシンは検出されなかった(<1 µg/ml)。この知見はナタマイシンが動物或いは人の消化管から吸収され

ないとする記述 (Raab, 1972)²²⁾ の確証となるものである³⁹⁾。

3. 食品添加物の1日摂取量等

JECFAによる評価 (ADIの設定) 等

1969年にFAO/WHO 合同食品添加物専門家委員会 (JECFA) はナタマイシンを評価した³⁷⁾。委員会の評価及び意見、勧告は次の通りである；

食品中の残存量の許容レベル

有効な毒性データに基づいて、体重 kg 当たりナタマイシン 0 - 0.25 mg の暫定的 ADI が確定された。

この上で、人間が1日当たり1kg 以上のチーズを食べないと仮定して、チーズ中の 15 ppm が許容される。もし当委員会が勧告した分析方法を使用すると、このレベルの量はチーズ全体とリンドとのホモジェネートでは検出できないであろう。

しかし、当該チーズとリンドを別々に計量してホモジナイズし、各々のホモジェネートに含まれるナタマイシンを測定することにより、存在するナタマイシンのより正確な量が得られる。その測定結果からチーズ全体としての濃度が計算できる。

残存量の影響

微生物に与える影響：真菌の有意な耐性は示されていない。

毒性の影響：上記のレベルで毒性の影響は発生しない。

アレルギーの影響：上記のレベルでアレルギーの影響は発生しない。

勧告

(1) ハードチーズに対してナタマイシンを外面に使用することは許容できると考える。条件としては、人間の1日当たりのナタマイシン摂取量が、暫定 ADI として提案されている数字である 0.25 mg/体重を超えないことである。

(2) ナタマイシン分解物及びそれらが微生物に与える可能性がある影響に関する更なる情報はナタマイシンの使用継続に問題が起きる前に得られるべきである。

続いて1976年の会合で下記の意見と評価が示された⁴²⁾。

意見

ナタマイシンの代謝における有効な情報では、ナタマイシンは胃腸で有意な量が吸収されない。動物実験で検出された唯一の有害反応は食餌摂取量の減少と体重増加率の減少である。イヌはラットよりも敏感と見られ、イヌにおけるこの反応は10 mg/kg/日のオーダーの投与量で現れた。人間では穏やかな胃腸症状が約5 mg/kg の1日当たり投与量で現れ始める。しかしこれよりはるかに高い投与量レベルが有害な結果が観

察されずに実施されている。適切な実験は、繁殖や発癌性、変異原性或いは催奇形性の可能性における有害な反応を示していない。分解物の組成に関する研究は、食品中で生成されたこれらの物質が胃の中の酸性状態で生成される物質と同一であるらしいと示唆している；それ故、ナタマイシンで実施された給餌試験は分解物にも関連している。ラットに分解物或いはクエン酸分解したナタマイシンを含む食餌を与えた研究もナタマイシンの分解物から有害な反応が出そうもないことを示唆している。ナタマイシンは広範囲に使用されているがアレルギー反応の報告はない。委員会は、ナタマイシンという治療上有益な抗菌物質を食品添加物として使用することに関して一般的な留保はあるとしても、臨床上の有意な微生物耐性或いは交差耐性の発生に関する問題がナタマイシンに発生しそうもないことがデータによって示されたことを承認した（第20回報告の付記4参照）。

評価

毒性学的影響をもたらさないレベル

ラット — 食餌中に500ppm、25mg/kg 体重と同等

イヌ — 食餌中に250ppm、6mg/kg 体重と同等

人間 — 約200mg/人/日、3mg/kg 体重と同等

人間に対する ADI の決定

0－0.3mg/kg 体重

2001年にまとめられた WHO 食品添加物シリーズ：48の評価における ADI は下記の通りである⁴⁰⁾；

委員会は、以前に人間の胃腸への影響を観察した結果に基づいて確立されたナタマイシンの ADI、0－0.3mg/kg 体重を確認した。委員会は、GSFA(General Standard for Food Additives)の草案で提案され、チーズ及び加工肉における最大使用レベルに基づいて確認されたナタマイシンの摂取量がこの ADI を超えないように留意した。

EU の食品に対する科学委員会 (SCF) による評価

SCF はナタマイシンを評価し、肯定的な意見を報告した (1979)⁴³⁾。その内容は下記の通りである；

背景

ナタマイシンは人用医薬品に、及び或る程度まで獣医薬に使用される抗生物質である。人用医薬品としての主な用途はカンジダ菌による膺炎や或る種の眼球真菌症のような真菌汚染の治療用である。

ナタマイシンは長年にわたって、かなり長期間の熟成と貯蔵をしてから販売されるタ

イプのチーズ及びソーセージにも防かび剤として使用されてきた。ハムやワイン及びその他の飲料に使用することも提案されてきている。ナタマイシンは真菌を抑制することによりマイコトキシンの産生も防止するとの主張がなされている。

同様な効果を達成するためにソルビン酸のような他の保存料を使用することは、これまではセミハード・チーズ及び或る種のソーセージで完全に満足の行く結果が証明されていない。

現時点での再調査

委員会は、人用医薬品及び獣医薬に使用される抗生物質は通常は食品に使用すべきではないと強行に主張してきている。その理由は FAO/WHO 合同食品添加物専門家委員会によって提出された意見(第20回会合の報告)と同様である。この基本方針は、食料品へのナタマイシン使用に関する現時点の再調査を行っている時に合わせて作成された。

委員会は、ナタマイシンの長期間の研究や数種の分解物の90日間の研究と共に、うさぎの変異原性における最近の研究やラットの多世代繁殖試験を含む有用な毒性学的データに注目してきた。ナタマイシンがチーズやソーセージに使用されている現状に関しては、これらの調査で十分であり、何ら心配はない。ナタマイシン或いはその主要分解物は消化管から吸収されず、ナタマイシンが人間の腸管の菌叢に有意な影響を与えるという確証はない。委員会はナタマイシンの微生物学的性質について J.C.Gould 教授から助言を受け、次の結論を受理した。

- (a) 刺激感応性の範囲は比較的狭い
- (b) 高度の耐性株を自然に発生させることはない
- (c) ポリエンで処置を受けた患者で、誘発された耐性が示されたことはない
- (d) ポリエン間の交差耐性の現象は非常に限られている
- (e) 母集団中の耐性株のばらつきは示されていない

委員会は、ポリエンに対する耐性試験は真菌では容易に達成できないこと、さらに誘発された変異株は通常環境でかろうじて発育することに留意した。

委員会は、保存料を使用しない或る種のチーズに汚染かびによるマイコトキシンが産生されるという報告に注目しており、保存料問題の持つこの重要な側面に関する更なる情報が必要であるので、その提供を望んでいる。委員会は或る種のセミハード・チーズ及びソーセージの最終製品の表面処理にナタマイシンが必要とされる事例を認識している。委員会は、グッド・マニュファクチャリング・プラクティスが販売時点のケーシング又はリンドという表面部位の残存量を $1 \text{ mg}/100 \text{ cm}^2$ 以下にすること及び 5 mm 以上の深さには残存しないことを保証するであろうと理解している。しかし委員会は、食料品に抗生物質を使用するという不当性に関する一般的基本方針として、ハムやワイン及びその他の飲料にナタマイシンを使用するような、食品への使用を広

げることには強く反対するものである。

結論

1. ナタマイシンの人用医薬品の用途は限られているが重要であり、そのために食品の内部及び表面に普遍的に使用される食品添加物としては認められない
2. ゴーダ及びエダムのような好氣的条件で熟成される全体圧縮チーズ(セミハード)のリンドの表面処理や、販売前に熟成させる必要がある或る種のソーセージのケーシングへのナタマイシンの使用は下記の条件で認める；
 - (i) ナタマイシンは最終製品にのみ使用される
 - (ii) 販売時の食品のナタマイシン残存量はケーシング又はリンドの表面部位で示すと $1\text{ mg}/100\text{ cm}^2$ 以上ではなく、 5 mm 以上の深さには残存しない
3. これらの食品のケーシングにナタマイシンを使用することは適切なラベル表示によって明確に示されるべきである
4. 治療領域でのナタマイシンの使用が有意に増加しているならば、現在の立場は再評価すべきである

摂取量の検討

0.3 mg/kg 体重の ADI に基づくと、相当量のナタマイシン処理チーズをリンドを含めて毎日食することが可能である。

例：高さが 5 cm の円筒状の 1 kg のチーズを仮定する（チーズの比重を 1 と見なして半径は約 8 cm となる）。

このチーズの内部チーズ量 (kg) と 5 mm の深さの表皮量 (kg) は次の通りである。
内部チーズ量 $= 7.5^2 (\text{cm}^2 \cdot \text{半径から表皮 } 5\text{ mm} \text{ 分を引く}) \times 4 (\text{cm} \cdot \text{高さから上下の表皮 } 1\text{ cm} \text{ 分を引く}) \times 3.14 (\text{円周率}) = 706.5(\text{g})$

表皮量 $= 1000 - 706.5 = 293.5(\text{g})$

表皮量のナタマイシン最大含有量 $= 20(\text{mg/kg}) \times 0.2935(\text{kg}) = 5.9(\text{mg})$

よって、この 1 kg の円筒形チーズの最大ナタマイシン含有量は 5.9 mg であり、人間の平均体重を 50 kg とした場合の ADI は 15 mg/ヒト/日 である。このチーズの表皮のみを食べると仮定して 1 日当たり約 750 g 、平均的に食べると仮定すると少なくとも 2 個を食べても ADI を超える摂取量にはならないと考えられる。