

理論最大摂取量の試算

ストレプトマイシン、ジヒドロストレプトマイシン

- ③ 全ての食肉を残留基準値の高い腎臓（基準値：1.0 ppm）で摂取した場合を仮定すると、食肉からの摂取量は、

$$1.0 \times 78.2 \text{ g} \div 1000 = 0.0782 \text{ mg}$$

- ② 乳からの摂取量は、

$$0.2 \times 127.6 \text{ g} \div 1000 = 0.0255 \text{ mg}$$

- ③ 従って、理論最大摂取量は、

$$\text{①} + \text{②} = 0.0782 \text{ mg} + 0.0255 \text{ mg} = 0.104 \text{ mg}$$

と算出でき、これが理論最大摂取量となる。

- ④ ADI (50 $\mu\text{g/kg}$ 体重/日) 比は、(体重 50kg とする)

$$0.104 \text{ mg} \times 1000 \div (50 \mu\text{g/kg} \times 50) \times 100 = 4.15 \%$$

ADI 比 4.15 %

78.2g : 平成 12 年国民栄養調査結果による肉類の摂取量

127.6g : 平成 12 年国民栄養調査結果による乳類の摂取量

小児（1～6 歳）の理論最大摂取量の試算

ストレプトマイシン、ジヒドロストレプトマイシン

- ① 全ての食肉を残留基準値の高い腎臓（基準値：1.0 ppm）で摂取した場合を仮定すると、食肉からの摂取量は、

$$1.0 \times 51.7 \text{ g} \div 1000 = 0.0517 \text{ mg}$$

- ② 乳からの摂取量は、

$$0.2 \times 181.0 \text{ g} \div 1000 = 0.0362 \text{ mg}$$

- ③ 従って、理論最大摂取量は、

$$\text{①} + \text{②} = 0.0517 \text{ mg} + 0.0362 \text{ mg} = 0.0879 \text{ mg}$$

と算出でき、これが理論最大摂取量となる。

- ④ ADI (50 $\mu\text{g/kg}$ 体重/日) 比は、

$$0.0879 \text{ mg} \times 1000 \div (50 \mu\text{g/kg} \times 15.8 \text{ kg}) \times 100 = 11.13 \%$$

ADI 比 11.13 %

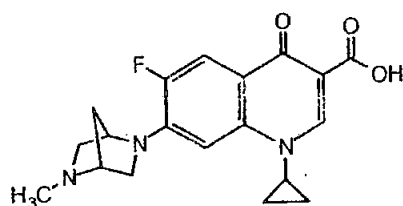
15.8kg : 平成 12 年国民栄養調査結果による 1～6 歳の平均体重

51.7g : 平成 12 年国民栄養調査結果による 1～6 歳の肉類摂取量

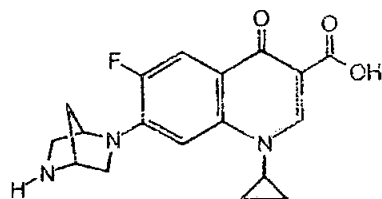
181.0g : 平成 12 年国民栄養調査結果による 1～6 歳の乳類の摂取量

(別添 3)

ダノフロキサシン (DANOFLOXACIN)



Danofloxacin



Desmethyldanofloxacin

ダノフロキサシン及びダノフロキサシン脱メチル化体の構造式

(1) 使用方法

ダノフロキサシンはフルオロキノロン系の抗菌性物質であり、立体特異的に合成された純粋 S (左旋性) 型である。ダノフロキサシンはメシル酸塩が動物用医薬品として、牛、豚および鶏の呼吸器病の治療に使用される。

(2) ADI 設定について

1) 吸収・分布・排泄

鶏を用いた 3 日間経口投与試験 (5mg/kg 体重/日) では、投与期間中、肺及び血漿中濃度はそれぞれ 0.43 及び 0.21µg/ml であった。半減期は、肺で 5.8 時間、血漿で 4.9 時間であった。 [^3H] 放射性同位元素標識ダノフロキサシンの 5 日間経口投与試験 (5mg/kg 体重/日) では、最終投与終了後 6 時間で排泄物中に未変化体のダノフロキサシンが 75% 検出された。ダノフロキサシン脱メチル化体は 5~7% であった。

豚を用いた単回筋肉内投与試験 (1.25mg/kg 体重) では、投与後約 1 時間で最高濃度 (血漿: 0.40µg/g、肺: 1.68µg/g) に達し、血漿半減期は約 7 時間であった。 [^3H] 放射線標識ダノフロキサシン筋肉内投与試験 (1.25mg/kg 体重、5 日間) では、1 日あたりの尿および糞便中の回収率は投与量の 75~81% であった。胆汁中の平均濃度は、投与終了の 12 時間後では 1.7µg/g、48 時間後までには 0.21µg/g に低下した。単回経口投与試験 (5mg/kg 体重) では、投与後約 3 時間で最高血漿濃度 (0.42µg/ml) に達した。生物学的利用能は単回筋肉内投与で 76%、単回経口投与で 89% と推定された。

牛を用いた単回筋肉内投与試験 (1.25mg/kg 体重) では、投与後 1 時間で最高濃度 (血漿: 0.35µg/ml、肺: 1.44µg/ml) に達し、血漿半減期は 3.4 時間であった。単回皮下投与、単回筋肉内投与試験 (1.25mg/kg 体重) では、投与後約 1 時間で最高血漿濃度 (0.37µg/ml) に達し、生物学的利用能はほぼ 100% であった。 [^3H] 放射性同位元素標識ダノフロキサシン 5 日間反復筋肉内投与試験 (1.25mg/kg

体重/日)では、排泄物中のダノフロキサシン関連物質の濃度が投与3日までにプラトーに達し、尿中及び糞中の排泄量はほぼ等しかった。未変化体が糞便中排泄物質の約48%、尿中排泄物質の89%をしめた。脱メチル代謝物は尿サンプル中の12%をしめたが、糞便中では検出されなかった。

2) 生体内代謝

ダノフロキサシンの生体内変化については、ラット、犬、鶏、豚および牛で試験されている。いずれの動物種においても、糞便中の残留物質の多くは未変化体のダノフロキサシンで、ダノフロキサシン脱メチル化体は少量検出されている。牛、犬、およびラットにおける尿中の主要残留物質もダノフロキサシンであった。ラット、犬および豚の尿中にはダノフロキサシン脱メチル化体、N-オキサイドダノフロキサシンおよびβ-グルクロニドが含まれていた。

ほとんどの動物種の肝臓でも、主な残留物質は未変化体のダノフロキサシンであったが、代謝物であるダノフロキサシン脱メチル化体も有意に存在していた。雄牛および雌牛の胆汁にピペラジン環分解産物がそれぞれ放射性同位元素標識物質中43%及び27%検出されたが、ラットと犬の胆汁からはごくわずかな量しか検出されなかった。犬の胆汁には、N-オキサイドダノフロキサシンが含まれていたが、この残留物質は他の動物種にはごくわずかし存在していない。

3) 毒性試験

①単回投与試験

マウス及びラットへの経口投与でのLD₅₀は、ダノフロキサシンで>2,000mg/kg体重、ダノフロキサシン脱メチル化体では1,500~>2,000 mg/kg体重である。

また、マウスへの静脈内投与でのLD₅₀は、ダノフロキサシンで50~100 mg/kg体重、ダノフロキサシン脱メチル化体で7.5~10mg/kg体重であり、ラットではダノフロキサシンが100~150mg/kg体重、ダノフロキサシン脱メチル化体では40~50mg/kg体重である。

②反復投与試験

ラットに対する経胎盤および授乳期暴露を母動物に0、25、75及び150mg/kg体重/日を投与する形で行った。さらに離乳後3ヶ月間、同量を経口により投与した。雌において投与量と相関的に尿蛋白の増加がみられ、その増加は個体における尿細管性腎症の発現と相関していた。雄では75及び150mg/kg体重/日を投与した群において、絶対及び相対精巣重量が無処置対照群に比して10%低かった。別の、より低用量で行った3ヶ月試験では、処置によると考えられる影響は最高用量群(6.25mg/kg体重/日)においても認められなかった。よって、尿細管性腎症に関するNOELは6.25mg/kg体重/日と結論した。

ダノフロキサシン脱メチル化体のラットに対する経胎盤及び授乳期暴露を母動物に0、1、2.5及び6.25mg/kg体重/日を投与する形で行った。さらに離乳後3ヶ月間、同量を経口投与した。いずれの用量においても有害作用は観察されなかった。

6ヶ月令の犬に0、5、10及び25mg/kg体重/日のダノフロキサシンをゼラチンカプセルの形で3ヶ月間経口投与した。10及び25mg/kg体重/日投与群で関節痛の兆候が認められた。病理学的検査では全ての投与群において、軟骨剥離と糜爛といった関節症の所見が観察され、その重篤度は投与量に相関していた。別の3ヶ月試験では、5ヶ月令のイヌに0、1及び2.4mg/kg体重/日のダノフロキサシンをゼラチンカプセルの形で経口投与した。その結果、関節症その他、いかなる処置に関連する影響も観察されなかった。以上2試験に基づき、イヌにおける関節症のNOELは2.4mg/kg体重/日と結論した。

さらに4から6ヶ月令のイヌに0、2.5、5及び10mg/kg体重/日のダノフロキサシン脱メチル化体をゼラチンカプセルの形で3ヶ月間投与する試験を行った。最高量を投与された雄3例のうち1例と、最低量を投与した雌3例のうち1例で痛みの兆候が見られた。雄では、関節1ヶ所で軟骨に形態的变化が観察された。また、ダノフロキサシン脱メチル化体を0、0.25、0.5mg/kg体重/日投与する試験を繰り返し行った。0.5mg/kg体重/日を投与された雄3例のうち1例に、右膝にキノロン誘発による関節症の典型的な組織病理学的変化がみられた。関節症に関するダノフロキサシン脱メチル化体のNOELは0.25mg/kg体重/日であった。

③長期/発がん性試験

ICR系マウスを用いた2年間混餌投与試験(10、50、100mg/kg体重/日)において、死亡率、体重、摂餌量および血液学的検査のパラメータに用量依存的な影響は認められなかった。また、発がん性を示す徴候も認められなかった。

Long-Evans系ラットを用いた2年間経口投与試験(10、50、100mg/kg体重/日)において、投与終了時では100mg/kg群の雄で平均白血球数及び好中球数の有意な減少、この群の雌では平均ヘモグロビン量、ヘマトクリット値及びリンパ球数の減少が認められた。雄では、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ(AST)及びソルビトールデヒドロゲナーゼ値の有意な上昇、平均グロブリン値の低下及びそれに伴うA/G比の上昇が認められた。ソルビトールデヒドロゲナーゼ値の上昇は50mg/kg群の雄でも認められたが、雌では血液学的検査値に対する影響は認められなかった。尿検査値に投与に関連した変化はみられなかった。100mg/kg群で精巣の対体重平均相対重量が有意に減少したが、絶対臓器重量に有意な変化は認められなかった。肉眼病理検査で、薬物投与群において盲腸肥大の発生率が増加したが、これに関連した病理組織学的所見は認められなかった。病理組織学的検査では、腎乳頭浮腫、精子低形成、精巣上体内容物の異常が100mg/kg群に認められた。

薬物投与群の雌に、子宮および膣顆粒細胞腫の発生率の有意な増加が見られたが、多重比較補正すると有意差は認められなかった。顆粒細胞小増殖巣と腫瘍を合わせた場合の発生率には群間に有意な差は認められなかった。雌の下垂体腺腫の発生率に有意な増加傾向がみられたが多重比較補正した場合には有意差は認められなかった。また、下垂体腺腫の発生率は背景頻度の範囲内であった。

④遺伝毒性試験

(ダノフロキサシン)

細菌を用いる復帰突然変異試験、ラット肝初代培養細胞を用いた不定期 DNA 合成 (UDS) 試験、マウスリンフォーマ TK 試験、チャイニーズハムスター細胞株を用いた前進突然変異試験、ヒトリンパ球を用いる染色体異常試験及びマウスを用いる小核試験が行われており、*in vitro* 染色体異常試験以外はすべて陰性の結果であった。*in vivo* で染色体異常誘発性を検討する小核試験が陰性であり、*in vitro* で認められた染色体異常誘発性が生体内で発現する可能性は低いものと考えられる。

(ダノフロキサシン脱メチル化体)

細菌を用いる復帰突然変異試験、ラット肝初代培養細胞を用いた UDS 試験及びマウスリンフォーマ TK 試験が、また *in vivo* 試験としてラット肝を用いる UDS 試験及びげっ歯類を用いる小核試験が行われており、*in vitro* での UDS 試験のみ陽性で有り、それ以外は陰性の結果であった。しかし、十分高用量まで検討された *in vivo* UDS 試験の結果は陰性であり、脱メチル化体に関しても生体にとって特段問題とするものではないものと考えられる。

⑤生殖毒性試験

Long-Evans 系ラットを用いた 2 世代生殖毒性試験 (0、25、75、150mg/kg 体重/日：経口投与) において、150mg/kg 群の母動物は妊娠期間中に他の群と比較して体重増加量が低下し、着床数および出生児数が減少した。新生児の体重は出生時および哺育期間を通して有意に低下した。同様の影響が、F₁ 動物の 1 回目の交配時にもみられ、2 回目の交配時にはさらに顕著で、全薬物投与群で妊娠率に悪影響が認められた。薬物投与群の F_{2b} 動物の体重は用量依存的な減少を示した。

3 世代生殖毒性試験 (0、1、2.5、6.25、150mg/kg 体重/日：雄は雌雄同居 (1 : 1) の 9 週間前、雌は 2 週間前から経口投与を開始して妊娠期間、分娩および F₁ 動物の離乳まで投与を継続。その後、F₁ 世代の動物は F_{2b} 動物の離乳まで、F_{2b} 世代の動物は F₃ 動物の離乳まで投与を続けた。) において、親動物の生存率、体重増加量、摂餌量および一般状態に薬物投与の影響はみられなかった。150mg/kg 群の親動物の交尾率と妊娠率は低下し、妊娠期間は延長した。150mg/kg 群では、その他に同腹児数の減少、出生児体重の減少、新生児の体重増加量の低下、および 4 日生存数の低下がみられた。NOEL は 6.25mg/kg 体重/日であった。

ダノフロキサシンの代わりにダノフロキサシン脱メチル化体 (0、1、2.5、6.25mg/kg 体重/日) を用いて上記と全く同じ方法で試験を実施したが、親動物と児動物に薬物投与の影響は認められなかった。

⑥催奇形性試験

ICR マウスを用いた催奇形性試験 (0、50、100、200mg/kg 体重/日：妊娠 6 ~13 日の間、経口投与、妊娠 18 日に屠殺) において、200mg/kg の用量の連続投与終了 5 時間後の羊水中ダノフロキサシンの濃度は、血漿中濃度と同等で

あったが、胎児ホモジネート中の濃度は母動物の血漿中濃度の 2～3 倍であった。200mg/kg 群では母動物の 1 例に妊娠 7～10 日に立毛および虚脱がみられたほか、投与期間中、母動物の平均体重増加量が有意に低下した。胚吸収率、胎児死亡率ならびに性比に薬物投与の影響は認められなかったが、200mg/kg 群では、胎児の平均重量が雌雄とも有意に低下し、骨化遅延が増加した。催奇形性の徴候は認められなかった。母体毒性および胎児毒性から判断して、NOEL は 100mg/kg 体重/日であった。

SD ラットを用いた催奇形性試験 (0、50、100、200mg/kg 体重/日：妊娠 6～15 日の間、経口投与、妊娠 20 日に屠殺) において、200mg/kg の用量の連続投与終了 5 時間後の羊水中ダノフロキサシンの濃度は、血漿中濃度と同等であったが、胎児ホモジネート中の濃度は母動物の血漿中濃度の約 3 倍であった。100 及び 200mg/kg 群で母動物の体重増加量は用量依存的に減少し、平均胎児重量も有意に減少を示した。100、200mg/kg 群で胎児の骨化遅延および脳室拡張が有意に増加した。母体毒性および胎児毒性から判断して、NOEL は 50mg/kg 体重/日であった。

New Zealand white 系ウサギを用いた催奇形性試験 (0、2.5、7.5、15mg/kg 体重/日：妊娠 6～20 日の間、経口投与、妊娠 28 日に屠殺) において、15mg/kg 群の母動物 11 例が体重及び摂餌量の減少を示し、妊娠 22～28 日に胎児を流産した。15mg/kg 群の生存胎児が得られた母動物の平均摂餌量は妊娠 13～20 日に有意に減少した。同腹児数、性比、胎児重量、および奇形または変異の発現率に薬物投与の影響は認められなかった。母体毒性から判断して、NOEL は 7.5mg/kg 体重/日であった。

⑦特殊試験

遅延型接触過敏症に関する特殊試験

モルモットを用いた Buehler 閉塞パッチ法試験で、既知の感作性物質ジニトロクロロベンゼンは遅延接触過剰感作性陽性を示したが、メシル酸ダノフロキサシンは陰性であった。

微生物学的影響に関する特殊試験

ダノフロキサシンの抗菌作用を、人腸内嫌気性微生物叢の分離菌について MIC₅₀ を調べた。人における消化管内優勢細菌叢の中で MIC₅₀ 値が最低であったのは *Eubacterium* spp. 及び *Peptostreptococcus* spp. の 0.5μg/ml であった。

人における所見

ダノフロキサシンは人への使用は認められておらず、情報は得られていない。

4) ADI の設定

以上の試験成績から、以下のように ADI が算定される。

ダノフロキサシンはフルオロキノロン系に属し、グラム陰性好気性菌に抗菌作用を示す。微生物学的試験から求めた MIC₅₀ を用いて以下のように ADI を算出した。

$$\begin{array}{l} \text{微生物学的} \\ \text{ADI} \end{array} = \frac{0.5 \mu\text{g/g}^{\text{a}} \times 220 \text{ g}}{0.1^{\text{b}} \times 1^{\text{c}} \times 60 \text{ kg}} = 18 \mu\text{g/kg 体重}$$

- a 人の消化管内優勢細菌叢で最も感受性の高い菌属である、*Eubacterium* spp. 及び *Peptostreptococcus* spp. の MIC₅₀ 値を採用した。
- b 5mg/kg 体重/日を経口投与した豚での試験に基づいて、生物学的利用能は約 90%とした。
- c 関連する多くの微生物学的データが得られていることから安全係数として 1 を用いた。

一方、毒性試験では、反復毒性及び長期/発がん性試験の結果を比較した結果、未成熟犬を用いた 3 ヶ月投与試験において最も低い用量で関節症がみられ、この所見が最も感受性が高い毒性指標であると考えられた。従って、これに基づく最低の NOEL は 2.4mg/kg 体重/日であり、安全係数 100 を考慮して、ADI は 24μg/kg 体重/日となり、これよりも微生物学的 ADI の方が低いため、ダノフロキサシンの ADI を 18μg/kg 体重/日と設定した。

ダノフロキサシン脱メチル化体の NOEL を 0.25mg/kg 体重/日としたが、薬物動態試験および代謝試験の結果から、ダノフロキサシンの経口投与を受けた場合、その主な代謝物であるダノフロキサシン脱メチル化体にも同時に暴露されており、ダノフロキサシン脱メチル化体について別に ADI を設定する必要はないものとした。しかし残留基準値の検討及び理論最大摂取量の計算にあたっては、この代謝物の毒性が約 10 倍であるということを考慮した。

(3) 残留基準値の設定について

残留基準値については、国際基準と同様に設定しても、日本人 1 日あたりの肉の平均摂取量（厚生労働省国民栄養調査成績）から試算される理論最大摂取量は（2）の 4）で得られた ADI を越えないことから、以下のとおりとする。

肉（牛・鶏）	0.20	ppm
肝臓（牛・鶏）	0.40	ppm
腎臓（牛・鶏）	0.40	ppm
脂肪（牛）	0.10	ppm
脂肪/皮（鶏）	0.10	ppm
豚肉	0.10	ppm
豚肝臓	0.05	ppm
豚腎臓	0.20	ppm
豚脂肪	0.10	ppm

（ダノフロキサシンとして）

理論最大摂取量の試算

動物毎の残留データから最大残留量を試算すると以下のとおりとなる。

Df: ダノフロキサシン、Des: ダノフロキサシン脱メチル化体 UR: その他の代謝物

動物種・部位	残留基準値	Des(mg/kg)		UR(mg/kg)		合計(mg/kg)
	Df(mg/kg)		Df 当量		Df 当量	Df 当量として
牛—肉	0.20	0	0	0	0	0.2
脂肪	0.10	0	0	0	0	0.1
肝臓	0.40	0.4	4.0	0.8	0.8	5.2
腎臓	0.40	0	0	0.4	0.4	0.8
豚—肉	0.10	0	0	0.15	0.15	0.25
脂肪	0.10	0	0	0	0	0.1
肝臓	0.05	0.45	4.5	0	0	4.55
腎臓	0.20	0	0	0.6	0.6	0.8
鶏—肉	0.20	0	0	0.02	0.02	0.22
脂肪	0.10	0	0	0	0	0.1
肝臓	0.40	0.12	1.2	0.28	0.28	1.88
腎臓	0.40	0	0	0	0	0.4

- ①全ての食肉を最大残留量が最も多い牛の肝臓（基準値：0.40ppm、最大残留量：5.2ppm(ダノフロキサシン当量として)) で摂取した場合を仮定すると、食肉からの摂取量は、

$$5.2 \times 78.2g \div 1000 = 0.407mg$$

と算出でき、これがダノフロキサシンに換算した理論最大摂取量となる。

- ②ADI (18 μ g/kg 体重/日) 比は、(体重 50kg とする)

$$0.407mg \times 1000 \div (18\mu g/kg \times 50) \times 100 = 45.2\%$$

ADI 比 45.2%

78.2g：平成 12 年国民栄養調査結果による肉類の摂取量

小児（1～6 歳）の理論最大摂取量の試算

- ①全ての食肉を最大残留量が最も多い牛の肝臓（基準値：0.40ppm、最大残留量：5.2ppm(ダノフロキサシン当量として)) で摂取した場合を仮定すると、食肉からの摂取量は、

$$5.2 \times 51.7g \div 1000 = 0.27mg$$

②ADI (18μg/kg 体重/日) 比は、

$$0.27\text{mg} \times 1000 \div (18\mu\text{g/kg} \times 15.8\text{kg}) \times 100 = 94.9\%$$

ADI 比 94.9%*

15.8kg : 平成12年国民栄養調査結果による1～6歳の平均体重

51.7g : 平成12年国民栄養調査結果による1～6歳の肉類摂取量

*摂取している全ての食肉を残留量が最も多いウシの肝臓（基準値：0.40ppm、最大残留量：5.2ppm(ダノフロキサシン当量として)）で摂取した場合を仮定した ADI 比であり、全てブタの筋肉（基準値：0.10ppm、最大残留量：0.25ppm(ダノフロキサシン当量として)）で摂取したと仮定し算出すると、理論最大摂取量は 12.9μg となり、ADI 比は 4.5%となる。