

ナタマイシンを添加物として定めることに 係る食品健康影響評価について

1 はじめに

ナタマイシンは、*Streptomyces natalensis* の培養により生成されるポリエンマクロライド系抗生物質であり、かび及び酵母の生育を特異的に阻害する。

現在、ナタマイシンは 50 カ国以上で、食品添加物としてチーズ等への使用が認められている。EU では、ハード、セミハード及びセミソフト・チーズ等の表面処理用として使用が認められており、最大量で 1mg/dm² 表面（1dm²=100cm²）で、かつ 5mm の深さで存在しないこととされている。米国ではチーズへの使用が認められており、使用量は最終製品で 20ppm 以下とされている。コーデックスにおけるチーズ一般規格においても、チーズ表面への使用が認められている。

FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議（JECFA）は 1976 年の会合でヒトにおける消化管への影響に基づき、ナタマイシンの一日摂取許容量（ADI）を 0 ～ 0.3mg/kg 体重と設定し、2001 年の WHO Food Additive Series: 48 において、ADI に変更のないことが確認されている。

2 背景等

厚生労働省は、平成 14 年 7 月の薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会での了承事項に従い、JECFA で国際的に安全性評価が終了し、一定の範囲内で安全性が確認されており、かつ、米国及び EU 諸国等で使用が広く認められていて国際的に必要性が高いと考えられる食品添加物 46 品目については、企業等からの指定要請を待つことなく、指定に向けた検討を開始する方針を示している。これに該当するナタマイシンについては、指定の要請もあったことから、食品健康影響評価が食品安全委員会に依頼されたものである。

3 添加物指定の概要

今般、ナタマイシンについて、ハード、セミハード・チーズに、チーズの表面積 100 平方 cm 当たり 1mg 以下、かつ当該チーズの深さ 5mm の部位で存在してはならない旨規定し、JECFA や日本薬局方等の規格を参考に規格を定めた上で、新たに添加物として指定しようとするものである。

4 物理化学的性質等

ナタマイシン（別名：ピマリシン）

英名：Natamycin、Pimaricin

化学名：22-(3-アミノ-3,6-ジテオキシ-β-D-マンピラノシルオキシ)-1,3,26-トリヒドロキシ-12-メチル-10-オキソ-6,11,28-トリオキサトリシクロ[22.3.1-O^{5,7}]オクタコサ-8,14,16,18,20-ヘンタイン-25-カルボキシル酸

化学式：C₃₃H₄₇NO₁₃

分子量；665.7

CAS 番号：7681-93-8

性状：白～乳白色の結晶状粉末で、ほとんど無臭

有機溶媒（氷酢酸、ジメチルホルムアミドなど）に可溶、メタノールにやや溶解し、脂肪油、鉱油及び水にはほとんど不溶

ナタマイシンは、被覆剤との組み合わせ、あるいは噴霧／浸漬によりチーズ表面に使用される。

5 安全性に関する検討

1) 経口投与毒性

急性毒性

単回投与による LD₅₀ 値は 450 ～ 4,670mg/kg 体重であった。

供試動物	LD ₅₀ (mg/kg 体重)	文献 No.
マウス	1,500	12
ラット	1,500	
ラット 雄	2,730	13
雌	4,670	
モルモット	450	1
ウサギ 雄	1,420	13
イヌ	1,000	12

短期反復投与毒性試験

ラットに 50 ～ 70mg/kg 体重/日のナタマイシンを 5 ～ 10 週間反復経口投与したところ、発育、血液又は組織に影響はなく、150mg/kg 体重/日の 9 週間反復投与では、多少の発育抑制がみられ、500mg/kg 体重/日の投与では 30 % のラットが 2 週間以内に死亡した。

各群雌雄各 20 匹のラットに 0、125、500、2,000、及び 8,000ppm（約 0、10、45、190 及び 750mg/kg 体重）のナタマイシンを 94 ～ 96 日間混餌投与した結果、2,000 及び 8,000ppm 投与群で発育が遅れ、摂餌量が減少したが、血液検査結果及び器官重量は正常範囲にあった。

ビーグル犬に 0、312、625、1,250 及び 5,000ppm のナタマイシンを 7 週間混餌投与したところ、5,000ppm 投与群で下痢、嘔吐及びほぼ完全な食餌拒否が観察され、4 日後に投与中止され、625 及び 1,250ppm 投与群では下痢がみられたが、その頻度と重度は次第に減少した。1,250ppm 投与群では食餌拒否が発生した。

90 日反復投与毒性試験

各群雌雄各 2 匹のビーグル犬に 0、375 及び 750ppm (約 0、12.5 及び 25mg/kg 体重) のナタマイシンを混餌投与した結果、全投与群で 1 日以上の下痢が観察され、750ppm 投与群の 1 匹が 36 日で嘔吐した。750ppm 投与群では、わずかな体重の減少及び平均摂餌量の減少がみられた。下痢を除き、用量依存的な投与による毒性の兆候はみられず、一過性の下痢はおそらく局所的な腸の刺激によると考えられている。

長期毒性試験

各群雌雄各 35 ~ 40 匹のラットに 0、125、250、500、1,000 及び 8,000ppm (0、18、38、75、142 及び 750mg/kg 体重/日) のナタマイシンを 2 年間 (8,000ppm 投与群については 3 ヶ月) 混餌投与した。8,000ppm 投与群では、3 ヶ月経過後の平均体重及び摂餌量が対照群に比べ減少したが、特に有害反応はみられなかった。1,000ppm 投与群で総摂餌量の減少と軽度の成長の遅れがあったが、連続した 2 世代で繁殖あるいは授乳能力に影響はなく、子の離乳時の平均体重は対照群に比べて低かった。500ppm 以下の投与群では 2 年以上の反復投与に十分耐えた。

各群雌雄各 3 匹のビーグル犬への 0、125、250 及び 500ppm ナタマイシン 2 年間混餌投与により、250ppm 投与群で 1 匹死亡し (投与とは無関係)、500ppm 投与群の雄で初期の体重増加のわずかな減少がみられた。血液学的検査等に異常はみられず、ナタマイシン投与によると考えられる影響はみられていない。

繁殖性試験

0 及び 1,000ppm のナタマイシンを混餌投与されたラットを 181 及び 223 日後に交配させ、別に 48、184 及び 260 日間投与後に交配させてその出生仔から対照群の雌と被験用の雌を各々 4 匹とり、これらに両親と同一の食餌を与え、107 日令で交配させた。ナタマイシン投与群の子は離乳時に対照群の子よりも平均体重が低かったが、54 交配組の試験結果では、出生率、妊娠、泌乳及び生存数は対照群と同じか上回った。本試験における子の異常発生は低かった。

0、5、15、50 及び 100mg/kg 体重/日のナタマイシンのラットへの 11 週間混餌投与による 3 世代繁殖試験の 100mg/kg 体重/日投与群で、死産数の増加、出産数の減少及び 21 日生存数の低下がみられ、子の体重は F0 及び F1 世代の 2 腹目の同腹仔並びに F2 世代の 1 腹目、2 腹目の同腹仔で減少した。5、15 及び 50mg/kg 体重/日投与群では発育又は繁殖に検知可能な影響はみられなかった。

3 世代繁殖試験の F1 世代の 2 腹目の同腹仔の 10 匹の雄ラットに対照食餌を与え、成熟時にナタマイシン (0、5、15、50 及び 100mg/kg 体重/日) を胃挿管法により 7 日間反復投与し、2 匹の未処理の雌と交配させた。交配後 13 日で屠殺、検査した結果、着床場所、生存及び死亡胎仔数並びに変異原性に関する対照群との差はみられなかった。

0、5、15、50 及び 100mg/kg 体重/日のナタマイシンを混餌投与したラット 3 世

代試験で出生した雌雄各 5 匹にコルヒチン (1.0mg/kg) を屠殺 3 ~ 4 時間前に投与し、骨標本を作製した。中期染色体標本に投与の影響は認められていない。

催奇形性試験

ラット 3 世代試験の F1 世代の 2 腹目の同腹仔の雌 20 匹を成熟後、未処理の雄と交配させた。当該雌に妊娠 6 ~ 16 日間、胃挿管法により両親と同量のナタマイシン (0、5、15、50 及び 100mg/kg 体重/日) を投与し、妊娠 20 日目に屠殺、検査したところ、妊娠数、生存及び死亡胎仔数、柔組織及び骨組織の異常性等に对照群と差はなかった。

各群 10 ~ 12 匹の雌ウサギに妊娠 6 ~ 18 日間、胃挿管法により 0、5、15 及び 50mg/kg 体重日のナタマイシンを投与し、29 日目に検査した結果、着床、母体又は胎仔生存における有害影響は検出されず、柔組織又は骨組織にみられる異常性の数は对照群と差はなかった。

各群 15 匹のダッチ・ベルテッドウサギに妊娠中 6 ~ 18 日間、胃挿管法により 0、5、15 及び 50mg/kg 体重日のナタマイシンを投与し、29 日目に検査した結果、雌親の一般的外観、行動及び体重に影響はなく、妊娠、着床、生存及び死亡胎仔数、吸収数に統計的な差はみられなかった。15mg/kg 体重/日投与群の生存胎仔の平均体重は对照群より低く、15 及び 50mg/kg 体重/日投与群で胎仔に余分な胸骨分節がみられたが、これは変異と考えられ、明確な催奇形性の兆候ではなかった。柔組織検査は对照群と差はなかった。

発がん性試験

各群雌雄各 35 ~ 40 匹のラットに 0、125、250、500 及び 1,000ppm (0、18、38、75 及び 142mg/kg 体重/日) のナタマイシンを 2 年間混餌投与した。2 年後の生存ラットは全投与群で 50 % 以上であった。1,000ppm 投与群で、雌雄の平均体重は对照群に比べ約 10 % 減少し、摂餌量は、雄で最初の 1 年間で对照群より約 1g/日、雌で 2 年間を通じて平均で約 1g/日少なかった。ヘモグロビン、ヘマトクリット、総白血球数、各種白血球数及び器官重量に投与による影響はみられなかった。剖検における肉眼的検査及び顕微鏡検査では、腫瘍の発生増加あるいは他の病変発生の増加は認められなかった。

変異原性試験

ナタマイシン及び Delvocid (水にナタマイシンを 50 % 懸濁した液) について、Rec-Assay あるいは復帰突然変異試験 (S9mix の有無、0.2mol/L までの亜硝酸塩との組み合わせで評価) が行われ、Delvocid に亜硝酸塩約 0.2mol/L を添加した試験で軽微な陽性反応がみられたが、Delvocid の存在によるものではないとされた他、いずれも陽性反応は観察されていない。

微生物の耐性

ナタマイシンは、皮膚糸状菌及び他の真菌、酵母及び酵母様微生物に対して活

性があり、細菌又は放線菌には不活性である。酵母等はナタマイシンに対して耐性を示すとの報告はないが、ある種の皮膚糸状菌は耐性がある。酵母にナタマイシン耐性を誘発させることは困難であり、耐性培養物は病原性が減少していた。また、臨床上の使用において耐性が発生したという記録はないとのことである。

アムホテリシン B はナタマイシンに交差耐性を示さず、ナイスタチン及びアムホテリシン B 耐性微生物はナタマイシンの影響を受け、広く選択したナイスタチン耐性酵母もナタマイシンに対して通常の反応を示した。ナタマイシン、ナイスタチン及びアムホテリシン B の間の交差耐性を示唆する文献もある。

分解物の試験

擬似胃液、0.5 %クエン酸及び尿中でナタマイシンの分解物(ナタマイシンに関連するテトラエンであり、主としてアグリコン 2 量体及び/又は脱炭酸化合物)が生成する。約 50 %のナタマイシンが擬似胃液中で 1 時間で分解した。

A) 急性毒性試験

1 %又は 5 %ナタマイシン懸濁液をクエン酸、光、水酸化ナトリウム、過酸化水素あるいは紫外線で処理したもの(分解率 0 ~ 100 %)のマウス腹腔内投与による LD₅₀ は、分解率 0 %のものは 150 ~ 250 及び 170 (mg/kg 体重)で、その他のもの(分解率 5 ~ 100 %)は 200 ~ 800 以上 (mg/kg 体重)であった。

ナタマイシンとその分解物(塩酸マイコサミン、アポナタマイシン、ジナタマイシノライドジオール)をマウスに腹腔内投与したところ、分解物の LD₅₀ はいずれもナタマイシンよりも大きな値であった。

B) 短期反復投与毒性試験

ラットに 500ppm ナタマイシン又は酸分解ナタマイシンの 5 %溶液(約 14 %の活性が残るまで 0.5 %クエン酸に懸濁したもの)を 98 日間混餌投与したところ、死亡はなく、体重増加、血液学的検査、腎及び肝の絶対重量及び器官の顕微鏡検査に投与による影響はみられなかった。

0.5 及び 5 %ナタマイシン懸濁液で処理した(25ml/1,000cm² チーズ)チーズ(フレッシュ及びオールド・チーズ)のラットへの 7 週間給餌では、心臓、脾臓、腎臓及び肝臓の重量は投与の影響を受けなかったが、投与群の肺と胸腺は対照群よりも小さく、360ppm 投与群では副腎の重量がやや増加した。肉眼的及び顕微鏡的観察からは投与に起因するとみられる差はなかった。

C) 変異原性試験

アポナタマイシン、ジナタマイシノライドジオール及び塩酸マイコサミンに変異原性は認められていない。

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、剖検及び顕微鏡検査

において投与による影響はみられなかった。

アレルギー試験

ナタマイシンの製造に平均 5 年間従事した作業員 73 名にアレルギー反応の履歴はなく、皮膚又は皮内投与を実施した 71 名にアレルギー反応は発生しなかった。湿疹患者 102 名での反復パッチ・テストで感作の可能性は示されなかった。

人における観察

300 ~ 400mg のナタマイシンのヒトへの経口投与により、時折悪心、嘔吐及び下痢が発生したが、末梢血液の変化は観察されなかった。

全身性糸状菌症の患者 10 名への 25 ~ 1,000mg/日 13 ~ 180 日間経口投与において、悪心、嘔吐及び下痢の発生が報告されている。

2) 体内動態

ラットに ^{14}C -ナタマイシン 50mg/kg 経口投与後の分布を測定した結果、結腸には抗生物質活性が観察されず、血中に少量のナタマイシンが吸収され、大部分は糞便中に排泄されることが示され、ナタマイシンは盲腸と結腸の菌叢によって非活性物質に分解されることが考えられた。

0.1 ~ 10mg/kg の放射能ラベルしたナタマイシンのラットへの経口投与では、吸収は 5 ~ 7 % で、少なくとも 90 % のナタマイシンが糞便中に排出された。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ったが、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た。吸収された放射能の大部分は膀胱で検出された。

ナタマイシンをチーズのプラスチック被覆剤中に 0.75 ~ 0.88mg/kg 含むもの、ゼラチン・カプセル中に 1.00 ~ 1.03mg/kg 含むもの、又は 1 % デンプン溶液に 0.95 ~ 1.0mg/kg 含むもののイヌへの経口投与では、大部分の放射能が 24 時間以内に糞便中に排泄され、尿中へは投与量の 4 % 以下であった。 ^{14}C -ナタマイシン 5mg 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、これは吸収が胆汁排泄を伴っていることを示している。

ボランティアにナタマイシンを経口投与後、尿サンプルの汚染によるとされる初期の偶発的な陽性結果を除き、尿中にナタマイシンは検出されなかった。

3) 1 日摂取量の推計等

平成 13 年度の我が国における 1 人 1 年当たりのチーズの摂取量 1.9kg (食料需給表による) から、チーズに最大 20mg/kg 使用すると、1 日体重 kg 当たりのナタマイシン摂取量は 0.002mg となる (体重: 50kg)。JECFA の設定した ADI 0 ~ 0.3mg/kg 体重/日と比較すると、推定摂取量は ADI の約 0.7 % に相当する。

ナタマイシン安全性試験結果

試験 標	投与期間	供試 動物	1群当たり の動物数	投与量又は 餌中濃度	結果 NOAEL 又は LOAEL (mg/kg 体重/日)	文献 No.
短期反復投与	5-10 週間	ラット		50-70mg/kg 体重/日	発育、血液又は組織に影響なし。 NOAEL : 70	1
	9 週間	ラット		150mg/kg 体重/日	多少の発育抑制がみられた。 LOAEL : 150	
	2 週間	ラット		500mg/kg 体重/日	30%のラットが死亡した。 LOAEL : 500	
	94-96 日間	ラット	雌雄各 20	0、125、500、2,000、 8,000ppm(約 0、10、 45、190、750mg/kg 体重/日)	2000、8000ppm 群で発育の遅れ、摂餌量の減少。 血液検査、器官重量は正常範囲内。 NOAEL : 45	13
	7 週間	イヌ		0、312、625、1,250、 5,000ppm (体重の記載なし)	5,000ppm 群で下痢、嘔吐、食餌拒否のため 4 日 で中止。1,250 群で食餌拒否。625、1,250 群で下 痢がみられた。	
90 日反復投与	90 日間	イヌ	雌雄各 2	0、375、750ppm(約 0、12.5、25mg/kg 体 重)	750ppm 群の 1 匹は 36 日で嘔吐し、わずかな体重、 平均摂餌量の減少があった。それ以外の異常はな かった。 NOAEL : 12.5	14
長期毒 性	2 年間 (8,000ppm 群は 3 ヶ月)	ラット	雌雄各 35~40	0、125、250、500、 1,000、8,000ppm(0、 18、38、75、142、 750mg/kg 体重)	8,000ppm 群で 3 ヶ月後の体重及び摂餌量が減少 したが、特に有害反応はなかった。1,000ppm 群 で総摂餌量の減少と軽度の緩やかな成長の遅れ があった。500ppm 以下の投与量では、ラットは 2 年以上の反復投与に耐えた。 NOAEL : 75mg/kg 体重	13 15
	2 年間	イヌ	雌雄各 3	0、125、250、500ppm (体重の記載なし)	500ppm 群の雄で初期の体重増加のわずかな減少 がみられた。血液学的検査等に異常はみられてい ない。	13
繁殖 性	多世代	ラット	F0 : 雌 10、雄 5、	0、1,000ppm	投与群の子は離乳時に対照群よりも平均体重が 低かった。	16
	11 週間	ラット	雄 10、 雌 20	0、5、15、50、 100mg/kg 体重/日	100mg/kg 体重/日群で、死産数の増加、出産数の 減少及び 21 日生存数の低下。子の体重は F0、F1 の 2 腹目及び F2 の 1、2 腹目の同腹仔で減少した。 NOAEL : 50	17
	7 日間	ラット	雄(3世代試 験の F2) 10、雌(未 処理)2	0、5、15、50、 100mg/kg 体重/日	着床場所、生存及び死亡胎児数並びに変異原性 に関する差はみられなかった。 NOAEL : 100	16
		ラット	雌雄各 5 (3 世代試験 の子)	3 世代試験の投与量 : 0、5、 15、50、100mg/kg 体重/日	屠殺 3~4 時間前にコルヒチン 1.0mg/kg を投与。 投与群の中期染色体標本に投与の影響は認めら れていない。	17
催奇 形性	妊娠中 6~15 日間	ラット	雌(3 世代試 験の F2)20	0、5、15、50、 100mg/kg 体重/日	妊娠数、生存及び死亡胎児数、柔組織、骨組織の 異常性等に対照群と差はみられなかった。 NOAEL : 100	17
	妊娠中 6~18 日間	ウサギ	雌各 10 ~12	0、5、15、50mg/kg 体重/日	着床、母体又は胎児生存における有害影響は検出 されず、柔組織又は骨組織にみられる異常性の数 は対照群と差はなかった。 NOAEL : 50	18
	妊娠中 6~18 日間	ウサギ	雌各 15	0、5、15、50mg/kg 体重/日	15mg/kg 体重/日群の生存胎児の平均体重は対照 群より低く、15、50mg/kg 体重/日群で胎児に余分 な胸骨分節がみられたが、これは変異と考えら れ、明確な催奇形性の兆候ではなかった。柔組織 検査は対照群と差はなかった。 NOAEL : 5	19

発がん性	2年間	ラット	雌雄各35～40	0、125、250、500、1,000ppm (0、18、38、75、142mg/kg 体重)	1,000ppm 群の雌雄で平均体重が対照群に比べて約10%減少した。剖検における肉眼的検査及び顕微鏡検査では、腫瘍の発生増加あるいは他の病変発生の増加は認められなかった。NOAEL:75	15
変異原性	Rec-assay (Kada) イキョウ-ション 24時間 (37℃)	Bacillus subtilis, H17 由来 M45 変異株		1% 0.5μl/paper disk	ナタマイシン分解物(0.5%)も含め、陰性であった。	20
	Rec-assay (Kada) イキョウ-ション 24時間 (37℃)	Bacillus subtilis, H17 由来 M45 変異株		0.1～1.0% 50μl/paper disk	ナタマイシン分解物(0.5%)も含め、paper disks によるスポットテストで陰性であった。	21
	Ames イキョウ-ション 1又は2日間 (37℃)	TA98, TA100, TA1535, TA1538 WP2trp ⁺ WPuvrA ⁺		0.04～1.0%(50%懸濁液)	S9mix 有無にかかわらず変異原性は示さなかった。	21
	7日間	ラット	雄(3世代試験のF2)10、雌(未処理)2	0、5、15、50、100mg/kg 体重/日	着床場所、生存及び死亡胎児数並びに変異原性に関する差はみられなかった。 NOAEL:100	16
		ラット	雌雄各5 (3世代試験の子)	3世代試験の投与量:0、5、15、50、100mg/kg 体重/日	屠殺3～4時間前にコルヒチン1.0mg/kgを投与。投与群の中期染色体標本に投与の影響は認められていない。	17
一般薬理	90日間	イヌ	雌雄各2	0、375、750ppm (約0、12.5、25mg/kg 体重)	血液検査、尿検査、心電図、眼科学的検査、剖検及び顕微鏡検査において投与による影響はみられなかった。	14
人における観察			不明	300～400mg/日	時折悪心、嘔吐及び下痢が発生。末梢血液の変化は観察されなかった。	37
			2,500以上	不明	刺激感受性又は有害反応なし	
			不明	400mg/日～	600mg/日以上で一時的な悪心又は鼓腸	
	13～180日間	(全身性糸状菌症患者)	10	25～1,000mg/日	悪心、嘔吐、下痢の発生	38