

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21

(案)

動物用医薬品評価書

ホスホマイシン

2008年7月

食品安全委員会動物用医薬品専門調査会

1 **I. 評価対象動物用医薬品の概要**

2 **1. 用途**

3 抗菌剤

4
5 **2. 有効成分の一般名**

6 和名：ホスホマイシンナトリウム

7 英名：Fosfomycin Sodium

8
9 **3. 化学名**

10 CAS (No.26016-99-9)

11 和名：

12 英名：Disodium (2*R*,3*S*)-3-methyloxiran-2-ylphosphonate

13
14 **4. 分子式**

15 $C_3H_5Na_2O_4P$

16
17 **5. 分子量**

18 182.02

19
20 **6. 構造式**



21 **Disodium (2*R*,3*S*)-3-methyloxiran-2-ylphosphonate**

22
23 **7. 開発の経緯**

24 ホスホマイシンは、*Streptomyces fradiae* の培養により産生あるいは合成により製造
25 される抗生物質で、広い抗菌スペクトルと殺菌的作用を有し、他の抗生物質と交差耐性が
26 認められない。参考資料②

27 ホスホマイシンカルシウム（以下ホスホマイシン Ca と表記）は経口剤として、ホスホ
28 マイシンナトリウム（以下ホスホマイシン Na と表記）は注射剤として使用される。ホス
29 ホマイシンナトリウムはわが国では動物用医薬品として牛の注射剤（適応症：パスツレラ
30 性肺炎）、またヒト用医薬品として注射剤や点鼻薬として使用されている。添付資料1 日
31 本医薬品集 2007

32 使用禁止期間は、牛は食用に供するためにと殺する前 5 日間、牛乳については食用に
33 供するために搾乳する前 48 時間と設定されている。参考資料②

1 II. 安全性に係る知見の概要

2 1. 体内動態

3 (1) 薬物動態試験

4 ① 体内動態試験（ホスホマイシン Na、ラット、静脈内） 補足資料 10-③

5 Donryu 系ラット（雄、3 匹/群）を用いて ^3H -標識ホスホマイシン Na の単回静脈内投
6 与（10 mg(力価)/kg 体重、尾静脈に投与）試験及び ^3H -標識ホスホマイシン Na の連続静
7 脈内投与（2 mg/mL の希塩酸溶液、0.6~0.7 mL/hr の速度で下大腿静脈から投与）試験
8 が実施され、 ^3H 標識ホスホマイシン Na の体内動態について検討された。投与後経時的
9 に血清中濃度、尿中排泄及び組織中濃度が生物検定または放射能測定により定量され、尿
10 の一部は薄層クロマトグラフィーにより代謝物が検索された。

11 ホスホマイシン Na の経時的な組織及び尿中放射活性分布は表 1 に示されている。

12 表.1 静脈内投与後の血清、組織及び尿中平均放射活性分布（L 値*） n=3

組織	投与後時間 (h)		
	0.5	1	24
血清	1.6889	0.7823	0.0033
筋肉	0.1896	0.1119	0.0028
肺	0.5574	0.2676	0.0032
肝臓	0.5977	0.3695	0.0345
脾臓	0.3918	0.3416	0.0035
腎臓	5.0651	2.7643	0.0319
尿	996.7720	238.3462	3.8478

14 *：組織 1 g または 1 mL 中の放射エネルギーをラット体重 1 g 当たりの投与放射エネルギーで割った値で、投与
15 薬物の局在性を示すパラメーターである。

16
17 尿中排泄は投与後 1 時間で 65 %、投与後 6 時間で 90 % となり、排泄速度は著しく速
18 やかであった。

19 代謝については、投与後 1 時間の尿においてホスホマイシン Na と Rf 値が異なる代謝
20 物が検出されなかったこと、投与後の血清中濃度の生物検定と放射能測定の結果に有意差
21 が認められなかったことから、ホスホマイシン Na は体内で抗菌力価に影響を及ぼすよう
22 な代謝は受けないと考えられた。

23 血清中濃度の薬動学的解析結果及び経時的な組織中濃度の測定結果より、ホスホマイ
24 シン Na は組織への移行が速やかに体内に広範囲に分布し、血清中濃度の低下に伴い、各
25 組織中濃度も低下し、速やかに尿中に排泄されることが判明した。

26 また、連続投与の場合、尿排泄速度は投与開始 2~3 時間後に一定となり、投与 5 時間
27 後の組織中濃度及び単回投与後の体内分布から解析した結果、単回投与及び連続投与に体
28 内の薬動学的システムに差はないと考えられた。

1 **② 体内動態及び薬動学的試験（ホスホマイシン Na、ウサギ・イヌ、静脈内）** 補足資料
2 10-④

3 ウサギ（雌雄）及びビーグル犬（雄）を用いてホスホマイシン Na 静注製剤（731 µg/m(力
4 価)）の単回あるいは反復迅速静脈内投与（ウサギ：10、20、40、80 mg(力価)/kg 体重、
5 イヌ：10、20、40 mg/kg 体重、注入時間：約 3 秒）及び点滴静脈内投与（投与量が一定
6 になるよう被験物質濃度を変更、定速注入ポンプ使用）試験が実施された。ウサギでは耳
7 静脈、イヌでは前腕皮静脈から被験物質が投与された。反復投与試験において、迅速静脈
8 内投与は 3 時間毎 1 日 3 回 7 日間、点滴静脈内投与（点滴時間：0.5 時間）は 3.5 時間毎
9 1 日 3 回 7 日間投与された。投与後、経時的に血清中濃度、尿中排泄及び組織中濃度が円
10 筒平板法により測定され、薬動学的解析が行われた。

11 血清中濃度及び尿中排泄は、迅速静脈内投与試験において、血清中濃度及び尿中排泄の
12 実測値及び計算曲線が一致していたことから、Two compartment model により解析した
13 結果、得られた薬動学定数はウサギ及びイヌのいずれにおいても投与量 10~80 mg(力
14 価)/kg 体重の範囲で変動幅が少なく、ほぼ一定に保たれた。AUC は両動物において投与
15 量に比例して増加した。迅速静脈内投与試験で得られた薬動学定数を使用して血清中濃
16 度及び尿排泄をシュミレーションした結果、計算曲線は迅速静脈内及び点滴静脈内投与の
17 単回、反復投与両試験の実測値近くに分布し、投与 8 時間後にはいずれの投与量におい
18 ても血清中濃度はほぼ定量限界未満となり、尿中排泄はほぼ 100 %になることが推察された。
19 また、ウサギの点滴静脈内投与試験における血清中濃度の経時変化から、 $T_{1/2}$ が 0.9 時
20 間とヒトのほぼ半分であることが判明し、適当な点滴時間を設定することによりヒト点滴
21 後の血清中濃度の推移をウサギにおいて再現できると考えられた。

22 迅速静脈内投与試験のウサギにおける組織中濃度は、いずれの組織においても投与 0.5
23 時間後に投与量に比例して C_{max} を示し、その後漸減した。ウサギ迅速静脈内投与後の組
24 織内分布から得られた定数を使用して任意の投与条件における組織中濃度をシュミレー
25 ションした結果は肝臓の値を除いて実測値とよく一致した。また、点滴静脈内投与の場合
26 は、点滴終了 0.5 時間後の組織中濃度は点滴時間の延長に伴い漸次低下した。

27
28 **③ 吸収・分布・排泄試験（ホスホマイシン Ca、ラット・ウサギ・イヌ、経口）** 補足資料
29 10-⑤

30 Wistar 系ラット（雄）、ウサギ（雌雄、系統不明）及び雑種イヌ（雌）を用いて、約
31 17 時間の絶食後ホスホマイシン Ca の単回経口投与（ラット：20、40 mg(力価)/kg 体重、
32 ウサギ及びイヌ：20 mg(力価)/kg 体重）試験が実施された。被験物質は、ラットにおけ
33 る投与試験では懸濁液（0.5 % Sodium carboxymethylcellulose 水溶液による）として、
34 ウサギ及びイヌにおける投与試験では水溶液及び懸濁液として投与された。経時的に血
35 液、尿、糞が採取され、円筒平板法で各試料中濃度を定量することにより吸収、分布、
36 排泄について検討された。

37 ラット（5 匹/群）に 20 及び 40 mg(力価)/kg 体重のホスホマイシン Ca を単回経口投与
38 後 72 時間までの尿及び糞中排泄率は表 2 に示されている。

39 尿中排泄率は投与後 24 時間では 20 mg(力価)/kg 体重投与群の方が 40 mg/kg 体重投与
40 群より明らかに高かったが、その後の排泄率は後者の方が高くなり、投与後 72 時間の累

1 積値はそれぞれ 77.2 %及び 64.2 %とその差は小さくなった。また、投与後 72 時間の糞
 2 中排泄率は明らかに 40 mg(力価)/kg 体重投与群の方が高くなり、両排泄率の合計は
 3 77.9 %及び 80.0 %となり投与量の多少による差は認められなかった。

4
 5 表.2 ラットにホスホマイシン Ca を経口投与したときの平均尿及び糞中排泄率 n=5

用量 (mg(力価)/kg 体重)	尿中排泄率 (%)			累積排泄率 (%)		合計 (%)
	0~24 h	24~48 h	48~72 h	尿	糞	
				0~72 h	0~72 h	
20	62.6±4.56	8.6±1.33	1.0±0.42	77.2±4.12	5.7±1.67	77.9±2.67
40	*46.8±3.52	14.0±4.32	3.4±0.94	64.2±2.95	**15.8±2.39	80.0±4.02

6 * : 有意差 (p<0.05) ** : 有意差 (p<0.01)

7
 8 ウサギ及びイヌに 20 mg(力価)/kg 体重のホスホマイシン Ca (懸濁液・水溶液) を単回
 9 経口投与後の血清 C_{max} 及び投与後 10 時間の尿及び糞中排泄率は、表 3 に示されている。

10 ウサギ及びイヌを用いた試験では、C_{max} 及び尿中排泄率が懸濁液より水溶液で投与し
 11 た方が高値を示し、吸収性がよいと考えられた。

12
 13 表.3 ウサギ及びイヌにホスホマイシン Ca を経口投与したときの平均血清 C_{max} 及び
 14 尿及び糞中排泄率

動物種	T _{max} (h)		C _{max} (µg(力価)/mL)		尿中排泄率 (%)	
	懸濁液	水溶液	懸濁液	水溶液	懸濁液	水溶液
ウサギ	2	2	10.3	13.3	35.5	47.1
イヌ	2	2	16.2*	17.9*	52.2	65.3

15 ウサギ : 懸濁液投与・n=4、水溶液投与・n=5

16 イヌ : 懸濁液投与・n=8、水溶液投与・n=8

17 * : 実測最高値

18
 19 また、ラット、ウサギ、イヌの尿中排泄率から、消化管吸収性はラット>イヌ>ウサギ
 20 の順に高く、多少動物種により異なるが比較的良好であると考えられた。

21
 22 **④ 吸収試験 (ホスホマイシン Ca、イヌ、経口) 補足資料 10-⑥**

23 ビーグル犬 (雌) 及び雑種イヌ (雌) を用いて、約 17 時間の絶食後ホスホマイシン
 24 Ca 製剤 (ドライシロップ剤、カプセル剤(1 カプセル中 250 mg(力価)含有、500 mg(力価)
 25 含有)) 及び原末の単回経口投与試験 (製剤と原末の約 10 日間間隔の交叉試験) が実施
 26 された。ドライシロップ剤は水溶液、カプセル剤はそのまま、原末は 0.5 % Sodium
 27 carboxymethylcellulose 水溶液による懸濁液として投与された。経時的に血液、尿、糞
 28 及び各組織が採取され、円筒平板法で各試料中濃度を定量することにより剤型の違いに
 29 による吸収について検討された。

30 ホスホマイシン Ca の原末及びドライシロップ剤を経口投与 (20 mg(力価)/kg 体重) し

1 た場合の平均血清 C_{max} (実測値) はそれぞれ 19.4 及び 18.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ と大差なく、実際の
2 C_{max} は投与 1~2 時間に発現したと考えられた。

3 経時的な尿及び糞中排泄率は、表 4 に示されている。ホスホマイシン Ca の原末及びド
4 ライシロップ剤の吸収性はほとんど同等で製剤化 (ドライシロップ剤) により変化しない
5 と考えられた。

6

7 表.4 原末及びドライシロップ剤投与 (20mg(力価)/kg 体重) 後の尿及び糞中排泄率 n=6

剤型	糞中排泄率 (%)			投与 0~72 h の累積排泄率(%)			総計 (%)
	0~24 h	24~48 h	48~72 h	尿	ケージ*	糞	
原末	5.8±2.12	0	0	66.7±2.82	0.01±0.01	5.8±2.12	72.6±3.20
ドライシロップ	5.9±2.68	0	0	67.1±1.54	0.01±0.01	5.9±2.68	73.0±2.49

8 *: 代謝ケージからの回収率

9

10 ホスホマイシン Ca の原末及びカプセル剤を経口投与 (500 mg(力価)/イヌ) した場合
11 の平均血清 C_{max} (実測値) は、原末 : 30.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、250 mg カプセル : 29.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、500
12 mg カプセル : 33.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ で三者間に大差なかった。 C_{max} 発現時間は原末よりやや遅れ
13 た。

14 経時的な尿及び糞中排泄率は、表 5 に示されている。20 mg(力価)/kg 投与の場合と異な
15 り、投与 24~48 時間の尿中にも活性が認められた。

16

17 表.5 原末及びカプセル剤投与 (500 mg(力価)/イヌ) 後の尿及び糞中排泄率 n=6

剤型	糞中排泄率 (%)			投与 0~72 h の累積排泄率(%)			総計 (%)
	0~24 h	24~48 h	48~72 h	尿	ケージ*	糞	
原末	15.7±4.13	1.3±0.81	0	42.1±2.65	0.2±0.06	17.0±4.09	59.3±3.23
カプセル (250 mg 含有)	9.5±2.54	0.5±0.27	0	49.9±4.63	0.2±0.07	10.1±2.43	60.2±4.08
カプセル (500 mg 含有)	13.0±3.71	0.4±0.28	0	48.6±2.54	0.1±0.04	13.4±3.77	62.0±3.98

18 *: 代謝ケージからの回収率

19

20 ドライシロップ剤投与の場合と比較すると、カプセル剤投与の場合は尿中排泄、糞中排
21 泄ともに持続的で、尿中排泄率は低く、逆に糞中排泄率は高かったが両排泄率の合計に差
22 は認められなかった。

23 以上より、本試験におけるホスホマイシン Ca のイヌに対する原末、ドライシロップ剤、
24 カプセル剤の吸収性はほとんど同等であると考えられた。

25

26

27 ⑤ 体内分布試験 (ホスホマイシン Na、牛、静脈内) 補足資料 10-①

28 Holstein 種牛 (3~4 ヶ月齢、雌、3 頭) を用いてホスホマイシン Na の単回静脈内投与

1 (20 mg(力価)/kg 体重) 試験が実施された。被験物質は左頸静脈から投与され、投与 1
 2 時間後の各組織中濃度が微生物学的定量法により分析された (検出限界: 0.05 µg(力価)/g)。
 3 各被験動物におけるホスホマイシン Na の各組織中濃度は表 6 に示されている。
 4 各組織中濃度は腎臓 (66 µg(力価)/g) 及び血漿 (19µg(力価)/g) に高濃度に認められ、以
 5 下、平均値で肺>心臓>肝臓>小腸>筋肉>胆汁>脂肪の順に分布が確認された。

7 表.6 ホスホマイシン Na 投与後 1 時間の各組織中濃度 (µg(力価)/g)

個体 No	501	502	503	平均 (n=3)
筋肉	1.4	1.6	2.2	1.7
脂肪	0.96	1.4	1.3	1.2
肝臓	5.2	7.0	6.1	6.1
腎臓	64	68	67	66
小腸	5.0	5.3	3.5	4.6
血漿	21	18	17	19
胆汁	0.74	1.9	1.7	1.4
心臓	6.4	6.3	6.8	6.5
肺	7.0	8.6	8.6	8.1

8 検出限界 : 0.05 µg(力価)/g

9
 10 **⑥ 体内動態試験 (ホスホマイシン Na、牛、静脈内)** 補足資料 10-②

11 Holstein 種牛 (4~5 ヶ月齢、雄、5 頭) を用いてホスホマイシン Na の単回静脈内投与
 12 (20 mg(力価)/kg 体重) 試験が実施された。被験物質は左頸静脈から投与された。血漿
 13 及び糞尿は経時的 (血漿: 投与前、投与 10、30 分、1、2、4、8、10、12、24 時間後、
 14 糞尿: 投与前、投与 4、8、12、24 時間後) に採取され、ホスホマイシン Na の濃度推移
 15 について微生物学的定量法により分析された (検出限界: 0.05 µg(力価)/g)。また、対照
 16 試料に常用標準ホスホマイシンを 1.0 µg(力価)/g を添加して分析 (n=3) し、回収率が算
 17 出された。

18 試験期間中、一般状態に特に異常は認められなかった。

19 経時的な血漿中ホスホマイシン濃度は、表 7 に示されている。

20 血漿中ホスホマイシン濃度は、投与 1 時間後に分布相がほぼ終わり、その時点での濃度
 21 は平均 26 µg(力価)/g であった。また、血漿中濃度推移のパラメーターを薬物動態学的に
 22 Two compartment model に従って解析した結果、消失相の半減期 ($T_{1/2\beta}$) はばらつき
 23 が少なく、平均 1.8 時間であった。

24 表.7 静脈内投与後の平均血漿中ホスホマイシン濃度の推移

n=5

投与後時間	10 min	30 min	1 h	2 h	4h	8 h	12 h	24 h
平均濃度 (µg(力価)/g)	121.8 ±128.61	37.8 ±4.21	26.0 ±2.92	16.6 ±4.39	6.54 ±1.055	1.37 ±0.373	0.294 ±0.081	<0.05

26

尿及び糞中の経時的な累積排泄量は表 8 に示されている。投与後 24 時間の尿及び糞中排泄量はそれぞれ 51.1 %及び 0.89 %であった。

表.8 静脈内投与後の尿及び糞中ホスホマイシン平均累積排泄率 n=5

投与後時間	4 h	8 h	12 h	24 h
平均尿中排泄率(%)	37.2	47.2	49.9	51.1
平均糞中排泄率(%)	0.54	0.63	0.75	0.89

また、添加回収試験の結果、血漿、尿及び糞の平均回収率はそれぞれ 75、80、77 %であった。尿採取時における回収率が 90 %程度であることを考慮すると、投与後 24 時間に約 70 %のホスホマイシンが尿中に排泄されたと考えられる。

以上より、ホスホマイシン Na を牛に静脈内投与した場合、血漿中ホスホマイシンは比較的速やかに消失し、主要な排泄経路は尿中であり、糞中にもわずかに排泄されることが示唆された。

(2) 残留試験

① 残留試験 (ホスホマイシン Ca、ウサギ、経口) 補足資料 10-⑤ (1)-③の試験

ウサギ (雌雄、系統不明) を用いて約 17 時間の絶食後ホスホマイシン Ca の単回経口投与 (40 mg(力価)/kg 体重) 試験が実施され、経時的に各組織を採取し円筒平板法で各組織中濃度を定量することにより残留性について検討された。

ウサギにおける経時的な組織中ホスホマイシン濃度は表 9 に示されている。

胃、腸管などの消化管以外の組織のうち最も高濃度を示したのは腎臓で、肺、心臓、脾臓、膵臓、胸腺、肝臓、筋肉の順に高かった。各組織中濃度の時間的推移は血清中濃度推移とほぼ相似的で特定臓器への残留性は特に認められなかった。

表.9 ウサギにホスホマイシン Ca を経口投与したときの平均組織中濃度の時間的推移 (µg(力価)/mL, mg(力価)/g) n=3

組織	投与後時間 (h)				
	1	2	4	6	24
血清	16.0	16.7	10.8	4.8	0.3
胸腺	1.2	1.4	1.4	0.2	0
肺	4.3	4.7	3.9	0.5	0
心臓	3.4	2.4	2.0	1.3	0
肝臓	0.7	0.9	0.9	0.5	0.1
脾臓	1.1	1.8	1.9	0.7	0
膵臓	2.1	1.7	0.7	0.6	0
腎臓	17.5	21.3	13.7	8.1	1.2
筋肉	0.2	0.2	0.4	0.2	0
十二指腸	62.3	22.8	4.0	1.9	1.1

胃	10.5	2.1	2.5	0.9	0.5
---	------	-----	-----	-----	-----

1 検出限界：不明

2
3 **② 残留試験（ホスホマイシン Na、牛、静脈内）** 補足資料 13-①

4 Holstein 種牛（4.5~5 ヶ月齢、雄、1 頭/対照群、15 頭/投与群）を用いてホスホマイシン Na の 3 日間連続静脈内投与（20、60 mg(力価)/kg 体重）試験が実施された。被験物質は頸静脈から投与され、経時的（最終投与 3 時間、3、5、7、10 日後）にホスホマイシンの血漿及び各組織中濃度が微生物学的定量法により測定された（検出限界：0.05 µg(力価)/g）。また、対照試料に常用標準ホスホマイシンを 1.0 µg(力価)/g を添加して分析（n=5）し、回収率が算出された結果平均 75 %以上であった。

9 牛における経時的な組織中ホスホマイシン濃度は、表 10 に示されている。

11 20 mg(力価)/kg 体重投与群では最終投与 3 日後に全組織中のホスホマイシン濃度が検出限界未満となった。60 mg(力価)/kg 体重投与群では最終投与 3 時間後に、腎臓が平均 102 µg(力価)/g、血漿が平均 26 µg(力価)/g と高濃度のホスホマイシン残留を示したが、最終投与 3 日後には筋肉以外の組織中濃度は検出限界未満となり、さらに最終投与 7 日後には筋肉中濃度も検出限界未満となった。

17 表.10 牛にホスホマイシン Na を 3 日間連続静脈内投与した場合の組織中平均ホスホマイシン濃度の推移① (µg(力価)/g) n=3

投与量 (mg(力価)/kg 体重)	組織	最終投与後時間			
		3 h	3 day	5 day	7 day
20 (常用量)	筋肉	1.4	<0.05	<0.05	/
	脂肪	0.20	<0.05	<0.05	
	肝臓	2.6	<0.05	<0.05	
	腎臓	39	<0.05	<0.05	
	小腸	2.1	<0.05	<0.05	
	血漿	11	<0.05	<0.05	
	胆汁	0.40	<0.05	<0.05	
60 (3 倍量)	筋肉	3.2	0.19	<0.05	<0.05
	脂肪	1.1	<0.05	<0.05	<0.05
	肝臓	7.4	<0.05	<0.05	<0.05
	腎臓	102	<0.05	<0.05	<0.05
	小腸	9.0	<0.05	<0.05	<0.05
	血漿	26	<0.05	<0.05	<0.05
	胆汁	3.3	<0.05	<0.05	<0.05

19 検出限界：0.05 µg(力価)/g

20 常用量投与群の最終投与 7 日後及び 10 日後、3 倍量投与群の最終投与 10 日後の分析は省略された。

1 **③ 残留試験（ホスホマイシン Na、牛、静脈内） 補足資料 13-②**

2 Holstein 種牛（約 3 ヶ月齢、雌、1 頭/対照群、12 頭/投与群）を用いてホスホマイシン
3 Na の 3 日間連続静脈内投与（20、60 mg(力価)/kg 体重）試験が実施された。被験物質は
4 頸静脈から投与され、経時的（最終投与 3 時間、3、5、7 日後）にホスホマイシンの血漿
5 及び各組織中濃度が微生物学的定量法により測定された（検出限界：0.05 µg(力価)/g）。
6 また、対照試料に常用標準ホスホマイシンを 1.0 µg(力価)/g を添加して分析（n=5）し、
7 回収率が算出された結果平均 73 %以上であった。

8 20 mg(力価)/kg 体重投与群の 1 例に軽度の食欲不振及び呼吸器症状が認められた以外
9 一般状態、体重変化及び摂餌量に大きな変動は認められなかった。

10 牛における経時的な組織中ホスホマイシン濃度は、表 11 に示されている。

11 結果は前述の試験（2）-②とほぼ同様で、20 mg(力価)/kg 体重投与群では最終投与 3
12 日後に全組織中のホスホマイシン濃度が検出限界未満となった。60 mg(力価)/kg 体重投
13 与群では最終投与 3 時間後に、腎臓が平均 113 µg(力価)/g、血漿が平均 43 µg(力価)/g と
14 高濃度のホスホマイシン残留を示したが、最終投与 3 日後には筋肉以外の組織中濃度は検
15 出限界未満となり、さらに最終投与 7 日後には筋肉中濃度も検出限界未満となった。

16
17 表.11 牛にホスホマイシン Na を 3 日間連続静脈内投与した場合の組織中平均ホスホ
18 イシン濃度の推移② (µg(力価)/g) n=3

投与量 (mg(力価)/kg 体重)	組織	最終投与後時間			
		3 h	3 day	5 day	7 day
20 (常用量)	筋肉	0.75	<0.05	<0.05	/
	脂肪	0.87	<0.05	<0.05	
	肝臓	1.4	<0.05	<0.05	
	腎臓	22	<0.05	<0.05	
	小腸	2.1	<0.05	<0.05	
	血漿	5.2	<0.05	<0.05	
	胆汁	0.19	<0.05	<0.05	
60 (3 倍量)	筋肉	4.1	0.09	<0.05	<0.05
	脂肪	9.1	<0.05	<0.05	<0.05
	肝臓	7.7	<0.05	<0.05	<0.05
	腎臓	113	<0.05	<0.05	<0.05
	小腸	10	<0.05	<0.05	<0.05
	血漿	43	<0.05	<0.05	<0.05
	胆汁	1.9	<0.05	<0.05	<0.05

19 検出限界：0.05 µg(力価)/g

20 常用量投与群の最終投与 7 日後の分析は省略された。

21
22 **④ 残留試験（ホスホマイシン Na、乳汁、静脈内） 補足資料 13-③**

23 Holstein 種牛（5~7 歳齢、3 頭/群）を用いて朝の搾乳後にホスホマイシン Na の 3 日

1 間連続静脈内投与 (20、60 mg(力価)/kg 体重) 投与試験が実施された。被験物質は頸静
 2 脈から投与され、経時的 (乳汁：投与前、最終投与 11、24、35、48、59、72、83、96、
 3 107、120、131、144、155、168 時間後、血漿：投与前、初回投与 5、10、30 分、1、2、
 4 3、5、7、10、24 時間後) にホスホマイシンの乳汁及び血漿中濃度が微生物学的定量法に
 5 より測定された (検出限界：0.05 µg(力価)/g)。また、対照試料に常用標準ホスホマイシ
 6 ンを 0.2 µg(力価)/g を添加して分析 (n=5) し、回収率が算出された結果血漿は平均 91 %、
 7 乳汁は平均 99 %であった。

8 牛における経時的な乳汁中ホスホマイシン濃度は、表 12 に示されている。

9 20 mg(力価)/kg 体重投与群では、最終投与 11 時間後に平均 0.16µg(力価)/g が検出され
 10 たが、最終投与 24 時間後には検出限界未満となった。60 mg(力価)/kg 体重投与群では、
 11 最終投与 11 及び 24 時間後にそれぞれ平均 0.86 及び 0.14 µg(力価)/g が認められたが、最
 12 終投与 35 時間後には検出限界未満となった。

14 表. 12 牛にホスホマイシン Na を 3 日間連続静脈内投与した場合の乳汁中平均ホス
 15 ホマイシン濃度の推移① (µg(力価)/g) n=3

投与量 (mg(力価)/kg 体重)	投与前	最終投与後時間 (h)				
		11	24	35	48	59~168
20 (常用量)	<0.05	0.16	<0.05	<0.05	—	—
60 (3 倍量)	<0.05	0.86	0.14	<0.05	<0.05	—

16 検出限界：0.05 µg(力価)/g

17 —：検出限界未満が 2 時点続いたため、分析を省略

18 牛における経時的な血漿中ホスホマイシン濃度は表 13 に示されている。

19 20 mg(力価)/kg 体重投与群では、血漿中ホスホマイシン濃度は初回投与 5 分後に C_{max}
 20 (平均 86 µg(力価)/g) を示し、最初は急速に初回投与 3 時間後以降緩徐に減衰し、初回
 21 投与 24 時間後には全例が検出限界未満となった。60 mg(力価)/kg 体重投与群でも初回投
 22 与 5 分後に C_{max} (平均 212 µg(力価)/g) を示し、20 mg(力価)/kg 体重投与群とほぼ同様
 23 に減衰したが、初回投与 24 時間後にも低濃度 (平均 0.21 µg(力価)/g) ながら残留が認め
 24 られた。
 25

27 表.13 牛にホスホマイシン Na 塩を 3 日間連続静脈内投与した場合の血漿中平均ホスホ
 28 マイシン濃度の推移① (µg(力価)/g) n=3

投与量 (mg(力価)/kg 体重)	投与前	初回投与後時間									
		5 min	10 min	30 min	1 h	2 h	3 h	5 h	7 h	10 h	24 h
20 (常用量)	<0.05	86	65	37	32	16	8.5	3.7	2.1	0.87	<0.05
60 (3 倍量)	<0.05	212	171	122	54	44	25	13	6.7	3.6	0.21

29 検出限界：0.05 µg(力価)/g

⑤ 残留試験（ホスホマイシン Na、乳汁、静脈内） 補足資料 13-④

Holstein 種牛（3~6 歳齢、3 頭/群）を用いて朝の搾乳後にホスホマイシン Na の 3 日間連続静脈内投与（20、60 mg(力価)/kg 体重）試験が実施された。被験物質は頸静脈から投与され、経時的（乳汁：投与前、最終投与 11、24、35、48、59、72、83 時間後、血漿：初回投与直前、最終投与 5、10、30 分、1、2、3、5、7、10、24 時間後、60 mg(力価)/kg 体重投与群では最終投与 36、48 時間後を追加）にホスホマイシンの乳汁及び血漿中濃度が微生物学的定量法により測定された（検出限界：0.05 µg(力価)/g）。また、対照試料に常用標準ホスホマイシンを 1.0 µg(力価)/g を添加して分析（n=5）し、回収率が算出された結果血漿は平均 82 %、乳汁は平均 86 %であった。

牛における経時的な乳汁中ホスホマイシン濃度は、表 14 に示されている。

20 mg(力価)/kg 体重投与群では、最終投与 11 時間後に平均 0.94µg(力価)/g が検出され、最終投与 24 時間後には 3 例中 2 例から検出されたが、最終投与 35 時間後には検出限界未満となった。60 mg(力価)/kg 体重投与群では、最終投与 11 時間後に平均 1.3 µg(力価)/g が認められ、最終投与 24 時間後には 3 例中 2 例から検出されたが、最終投与 35 時間後には検出限界未満となった。

表.14 牛にホスホマイシン Na を 3 日間連続静脈内投与した場合の乳汁中平均ホスホマイシン濃度の推移② (µg(力価)/g) n=3

投与量 (mg(力価)/kg 体重)	投与前	最終投与後時間 (h)				
		11	24*	35	48	59~83
20 (常用量)	<0.05	0.94	<0.05、0.06 0.10	<0.05	<0.05	—
60 (3 倍量)	<0.05	1.3	<0.05、0.06 0.07	<0.05	<0.05	—

検出限界：0.05 µg(力価)/g

—：検出限界未満が 2 時点続いたため、分析を省略

*：1 例のみが検出限界未満。他 2 例は低濃度ながら検出された。

牛における経時的な血漿中ホスホマイシン濃度は、表 15 に示されている。

20 mg(力価)/kg 体重投与群では、血漿中ホスホマイシン濃度は最終投与 1 時間後に C_{max}（平均 37 µg(力価)/g）を示し、急速に減衰して最終投与 24 時間後には全例が検出限界未満となった。60 mg(力価)/kg 体重投与群でも最終投与 1 時間後に C_{max}（平均 89 µg(力価)/g）を示し、20 mg(力価)/kg 体重投与群と同様急速に減衰し、最終投与 24 時間後には平均 0.14 µg(力価)/g となり、最終投与 36 時間後に全例が検出限界未満となった。

表.15 牛にホスホマイシン Na 塩を 3 日間連続静脈内投与した場合の血漿中平均ホスホマイシン濃度の推移② (µg(力価)/g) n=3

投与量 (mg(力価)/kg 体重)	投与前	最終投与後時間 (h)							
		1	2	3	5	7	10	24	36

20 (常用量)	<0.05	37	22	12	6.3	3.8	1.3	<0.05	—	—
60 (3 倍量)	<0.05	89	66	25	15	7.7	4.5	0.14	<0.05	<0.05

1 検出限界：0.05 µg(力価)/g

2 —：採材せず

4 2. 急性毒性試験 補足資料4-①

5 JCL-ICR 系マウス (4 週齢、雌雄各 10 匹) 及び Wistar 系ラット (5 週齢、雌雄各 10 匹)
6 を用いて、静脈内、腹腔内、筋肉内、皮下及び経口の各経路によるホスホマイシン Na の急
7 性毒性試験が実施された。各動物の LD₅₀ は、表 16 に示されている。

8 静脈内投与においては、雌雄各投与群とも投与直後から眼球突出、呼吸数減少、跳躍転倒、
9 苦悶の状を呈し、自発運動も減退したが、マウスの多くは投与 2~3 時間後、ラットでも投
10 与 24 時間後には回復した。マウス及びラットの死亡例は、生存例とほぼ同様の一般症状を
11 呈して、それぞれ投与 20~60 秒後及び投与 30 秒~2 分後に呼吸麻痺で死亡した。他のい
12 れの投与経路においても、両動物ともに一過性の呼吸数減少、自発運動低下及び沈うつ状態
13 が認められた。死亡例でも同様の症状を呈し、マウス及びラットの多くは強直性痙攣の後に
14 呼吸麻痺でそれぞれ投与 40 分~3 時間後及び投与 40 分~24 時間後に死亡したが、少数例で
15 は体重減少しそれぞれ投与 2~4 日後及び投与 3~4 日後に衰弱死した。病理組織学的検査で
16 は、両動物の腹腔内投与群において投与による薬物の局所刺激性と考えられる肝臓と腎臓の
17 癒着や被膜の癒着、肝臓辺縁部の肥厚が認められた以外特記すべき変化は認められなかった。

18 表.16 マウス及びラットにおける LD₅₀ (mg(力価)/kg) n=10

動物 (系統、週齢)	投与経路	雄	雌
マウス (JCL-ICR 系、4 週齢)	静脈内	1230 (1160~1303)	1225 (1108~1354)
	腹腔内	2175 (2063~2292)	2467 (2350~2590)
	筋肉内	2625 (2392~2879)	2662 (2526~2806)
	皮下	5100 (4112~6324)	6150 (5211~7257)
	経口	8020 (7638~8421)	7300 (6606~8067)
ラット (Wistar 系、5 週齢)	静脈内	1650 (1410~1930)	1560 (1289~1887)
	腹腔内	2060 (1943~2183)	2000 (1904~2100)
	筋肉内	2630 (2327~2971)	2460 (2320~2607)
	皮下	5100 (4340~5992)	4320 (3692~5054)
	経口	4700 (4234~5217)	4550 (3855~5369)

20 3. 亜急性毒性試験

21 (1) 35 日間亜急性毒性試験(ラット) 補足資料5-①

22 Wistar 系ラット (5 週齢、雌雄各 10 匹/群) を用いたホスホマイシン Na の 35 日間腹腔
23 内投与 (0、125、250、500、1,000、2,000 mg(力価)/kg 体重/日、週 1 日(日曜日)休薬) に
24 よる亜急性毒性試験で認められた毒性所見は以下のとおりであった。ただし、血液は最終投
25 与翌日に採取、尿は経時的 (投与前、投与後 10、20、35 日後) に採取され検査された。

1 死亡例は、2,000 mg(力価)/kg 体重/日投与群の雄 3 例、雌 5 例で、1,000 mg(力価)/kg 体
2 重/日以下投与群においては認められなかった。

3 一般状態では、各投与群において自発運動減退、呼吸数減少が認められ、2,000 mg(力
4 価)/kg 体重/日投与群では、全身性のトレモール、跳躍転倒、強直性痙攣を呈して呼吸麻痺
5 で死亡し、生存例では核投与群に認められた症状に加え一過性の葡萄運動も認められた。ま
6 た、各投与群に一過性のストレッチング体位、鳴叫が認められたが、腹腔内投与による局所
7 刺激に起因するものと考えられた。

8 体重変化では、1,000 mg(力価)/kg 体重/日以上投与群雄及び 2,000 mg(力価)/kg 体重/日投
9 与群雌に継続的あるいは一過性の体重増加抑制が認められた。

10 摂餌量では、1,000 mg(力価)/kg 体重/日以上投与群の雌雄において、一時的、散発的ある
11 いは断続的な摂餌量低下が認められた。

12 血液学的検査及び血液生化学的検査では、雄において、250 mg(力価)/kg 体重/日以上投与
13 群のほとんどで In.P の増加と BUN の減少、500 mg(力価)/kg 体重/日以下投与群で Na の
14 低下が認められた。雌においては、ほぼ全投与群に WBC の減少、500 mg(力価)/kg 体重/
15 日以上投与群で Cl の増加、Hb の減少等が認められたが、雌雄に共通の項目がなく、用量
16 相関性も明らかではなかった。

17 尿検査では著変は認められなかった。

18 臓器重量では、投与群の雄において脳、心臓等の散発的な絶対重量の減少が認められたが、
19 用量相関性は認められなかった。また、1,000 mg(力価)/kg 体重/日投与群の脳、2,000 mg(力
20 価)/kg 体重/日投与群の脳、肺、精巣(左右)は絶対重量で対照群を下回り、比重量¹で逆に
21 対照群を上回った。投与群の雌においては 250 mg(力価)/kg 体重/日以上投与群で腎臓(左
22 右)、1000 mg(力価)/kg 体重/日以上投与群で副腎(左)及び肝臓の絶対重量及び比重量の増
23 加が認められた。

24 病理学的検査では、雌雄ともに高投与群において被験物質の刺激によると考えられる肝臓
25 の癒着及び肝辺縁部の肥厚、回腸、盲腸の膨満及び消化吸收不全、腸管壁の肥厚、癒着が認
26 められたが、他の臓器に著変は認められなかった。

27 病理組織学的検査では、雌雄とも高投与群において病理学的所見に対応した肝被膜、回腸
28 盲腸漿膜の線維増生もしくは癒着等が認められたのみであった。

29 以上より、1,000 mg(力価)/kg 体重/日以上投与群雄での体重抑制、雌雄での摂餌量低下及
30 び腹腔内諸臓器の癒着を考慮して、本試験における NOAEL は 500 mg(力価)/kg 体重/日と
31 考えられた。

32

33 (2) 35 日間亜急性毒性試験(ウサギ) 補足資料 5-①

34 日本白色種ウサギ(雄 4 匹/群)を用いたホスホマイシン Na の耳静脈への 35 日間静脈内
35 投与(0、100、200、400 mg(力価)/kg 体重/日、週 1 日(日曜日)休薬)による亜急性毒性試
36 験で認められた毒性所見は以下のとおりであった。ただし、血液及び尿は経時的(投与前、
37 投与 18 及び 36 日後)に採取され、尿は各採材時点間の蓄尿の一部を使用して検査された。

38 死亡例は、いずれの投与群にも認められなかった。

¹ 体重比重量を比重量という。以下同じ。

1 一般状態についても著変は認められず、体重変化、摂餌量、血液学的検査、血液生化学的
2 検査についても各投与群に変化は認められなかった。

3 尿検査では、投与後 18 日の尿において 100 mg(力価)/kg 体重/日投与群に Na の増加が認
4 められたのみであった。

5 臓器重量及び病理学的検査には、いずれの臓器にも著変は認められなかった。

6 病理組織学的検査では、200 mg(力価)/kg 体重/日投与群の 1 例に腎皮質部の限局性脂肪化、
7 400 mg(力価)/kg 体重/日投与群の 1 例に腎皮質間質一部にリンパ球浸潤が認められた以外、
8 他の投与群では各臓器とも著変は認められなかった。

9 以上より、最高投与量の 400 mg(力価)/kg 体重/日投与群においても被験物質投与に起因
10 すると考えられる毒性所見が認められないことから、本試験における NOAEL は 400 mg(力
11 価)/kg 体重/日と考えられた。

12 13 (3) 182 日間亜急性毒性試験 (ラット) 補足資料 5-②

14 Wistar 系ラット (5 週齢、雌雄各 10 匹/群) を用いたホスホマイシン Na の 182 日間腹
15 腔内投与 (0、125、250、500、1,000、2,000 mg(力価)/kg 体重/日、週 1 日(日曜日)休薬)
16 による亜急性毒性試験で認められた毒性所見は以下のとおりであった。ただし、血液は最終
17 投与翌日に採取、尿は経時的 (投与前、投与後 1 ヶ月毎) に各採材時点間の蓄尿を使用して
18 検査された。

19 死亡例は、1,000 mg(力価)/kg 体重/日投与群の雄 3 例、雌 5 例、2,000 mg(力価)/kg 体重/
20 日投与群の全例 (雌雄各 10 匹) であった。500 mg(力価)/kg 体重/日以下投与群に死亡例は
21 認められなかった。

22 一般状態では、雌雄各投与群に投与直後から一過性のストレッチング体位、自発運動減退、
23 深呼吸、呼吸数減少及び沈うつ状態を示し、500 及び 1,000 mg(力価)/kg 体重/日投与群の
24 1~5 例、2,000 mg(力価)/kg 体重/日投与群の全例に投与直後の鳴叫が認められた。また、2,000
25 mg(力価)/kg 体重/日投与群の雌雄各 1 例に、初回のみ投与 1.5~2 時間後に強直性痙攣が認
26 められ、うち雌 1 例は呼吸麻痺で死亡した。

27 体重変化では、1,000 mg(力価)/kg 体重/日以上投与群の雄及び 2,000 mg(力価)/kg 体重/
28 日投与群の雌において体重増加抑制が認められた。

29 摂餌量では、2,000 mg(力価)/kg 体重/日投与群の雌雄において減少した。

30 血液学的検査及び血液生化学的検査では、雄の場合、125 mg(力価)/kg 体重/日投与群にお
31 いて K の増加、T.P、Alb、U.A 及び Al.P の減少、250 mg(力価)/kg 体重/日投与群において
32 K、Ne の増加 T.P、Ca、Al.P 及び Ly の減少、1,000 mg(力価)/kg 体重/日投与群において
33 In.P、K の増加、T.P、Glu、BUN、
34 GPT、Ht、RBC、Hb 及び Ly の減少が認められた。雌の場合、125 mg(力価)/kg 体重/日投
35 与群において Cl の増加及び WBC の減少、250 mg(力価)/kg 体重/日投与群において Cl の増
36 加及び WBC の減少、500 mg(力価)/kg 体重/日投与群において Cl の増加、1,000 mg(力価)/kg
37 体重/日投与群において In.P、U.A、K、Cl、WBC、Ne の増加、Alb、GPT、Ht、Hb 及び
38 Ly の減少が認められた。

39 尿検査では、2,000 mg(力価)/kg 体重/日投与群の雌雄に OP の低下傾向が認められたのみ
40 であった。

1 臓器重量では、雄の場合、250 mg(力価)/kg 体重/日以上投与群において腎臓（腎臓）及び
2 脳下垂体の比重量の増加、500 mg(力価)/kg 体重/日以上投与群において副腎（右）の絶対重
3 量及び比重量の増加、胸腺の絶対重量の減少、1,000 mg(力価)/kg 体重/日投与群において脳、
4 肝臓、精巣（左）の比重量、脾臓、副腎（左）の絶対重量及び比重量の増加、心臓の絶対重
5 量の減少が認められた。雌の場合は、125 mg(力価)/kg 体重/日以上投与群において肝臓の絶
6 対重量及び比重量の増加、250 mg(力価)/kg 体重/日投与群において腎臓（左右）の絶対重量
7 及び比重量の増加、1,000 mg(力価)/kg 体重/日投与群において胸腺、副腎（左）の絶対重量
8 及び比重量、副腎（右）の比重量の増加が認められた。

9 病理学的検査では、500 mg(力価)/kg 体重/日以上投与群の雄において肝臓の癒着、肥厚、
10 腸管の癒着、脾臓の肥厚、被膜白濁が認められ、雌でも主に 1,000 mg(力価)/kg 体重/日投与
11 群において同様の被験物質投与によると考えられる腹腔内諸臓器の癒着をはじめとする変
12 化が認められた。

13 病理組織学的検査では、500 mg(力価)/kg 体重/日以上投与群に膿瘍形成を伴う肺炎、消化
14 管漿膜炎または漿膜側脂肪織炎、肝細胞の軽度の退行変性像及び周囲炎(雌雄)、膵臓間質域
15 の慢性炎及び周囲炎、腎臓周囲炎（雌雄）、精巣周囲炎、感染脾及び脾臓周囲炎、骨髄での
16 顆粒球系を主とする過形成が認められた。その他、肝臓においてグリソン鞘における炎症性
17 細胞浸潤が雌の 125 及び 1,000 mg(力価)/kg 体重/日投与群に少数例ずつ、1,000 mg(力価)/kg
18 体重/日投与群に精巣精子形成減退を 3 例、卵巣周囲炎が 1 例認められた。病理組織学的検
19 査で認められた膿瘍形成を伴う肺炎、腹部臓器周囲炎、感染脾は被験物質の腹腔内投与によ
20 る刺激的影響、または大量投与による易感染性上昇に起因するものと考えられた。

21 以上より、500 mg(力価)/kg 体重/日以上投与群において雌雄に肝細胞の軽度の退行変性像
22 及び周囲炎が認められ、さらに腹腔内投与により諸臓器の癒着が認められたことから、本試
23 験における NOAEL は 250 mg(力価)/kg 体重/日と考えられた。

24 25 (4) 91 日間及び 182 日間亜急性毒性試験（イヌ） 補足資料 5-②

26 ビーグル犬（雌 2 匹/群）を用いたホスホマイシン Na の前腕正中皮静脈への 91 日間及び
27 182 日間静脈内投与（0、100、250、500 mg(力価)/kg 体重/日、週 1 日(日曜日)休薬）によ
28 る亜急性毒性試験で認められた毒性所見は以下のとおりであった。ただし、血液及び尿は経
29 時的（投与前、投与 56 日後までは 14 日毎、以降 28 日毎）に採取され、尿は各採材時点間
30 の蓄尿の一部を使用して検査された。各投与群の最終投与翌日に剖検及び病理組織学的検査
31 が実施されたが、182 日間投与群の肝臓及び腎臓については電子顕微鏡を用いて観察された。

32 全群において死亡例は認められなかった。

33 一般状態では、100 mg(力価)/kg 体重/日投与群では変化は認められなかったが、250 mg(力
34 価)/kg 体重/日以上投与群において一過性の黄色水溶液または泡沫状水溶液の嘔吐が散見さ
35 れた。この嘔吐は、抗生物質の静脈内投与においてしばしば認められるものと考えられた。

36 体重変化及び摂餌量では、各投与群に変化は認められなかった。

37 飲水量では、500 mg(力価)/kg 体重/日投与群において投与 16 日後以降増量した。

38 血液学的検査及び血液生化学的検査では、100 mg(力価)/kg 体重/日投与群では投与 56 日
39 後に LDH 及び GOT の上昇、250 mg(力価)/kg 体重/日投与群では投与 28 日後に RBC の減
40 少、投与 56 日後に Cl の減少、投与 119 日後に WBC の減少、投与 147 日及び 182 日後に

1 U.A の減少が認められた。また、500 mg(力価)/kg 体重/日投与群では投与 42 日後に Al.P
2 の増加、投与 91 日後に Chol の減少及び U.A の増加、投与 147 日後に GPT の減少が認め
3 られた。

4 尿検査では、100 mg(力価)/kg 体重/日投与群で投与 14 日後に OP の減少、500 mg(力価)/kg
5 体重/日投与群では投与 14 日後に K、Cl、OP の減少、投与 28 日後に OP の減少、投与 42
6 日後に K、Cl の減少、投与 56 日後に K、Cl 及び OP の減少が認められた。

7 臓器重量では、91 日間投与及び 182 日間投与のいずれにおいても絶対重量及び比重量と
8 もに変化は認められなかった。

9 病理学的検査では、91 日間投与では 500 mg(力価)/kg 体重/日投与群の 1 例に肝臓の一部
10 に軽度胆汁うっ滞を認めたのみであった。また、182 日間投与でも、250 mg(力価)/kg 体重
11 /日投与群の 1 例に肝臓の黄色顆粒の点在が認められたのみであった。

12 病理組織学的検査では、91 日間投与では被験物質投与によると考えられる変化は認めら
13 れなかった。182 日間投与では 250 mg(力価)/kg 体重/日投与群の 1 例に肝臓の小肉芽腫様
14 結節の点在、500 mg(力価)/kg 体重/日投与群の腎尿細管上皮細胞に腫大傾向が認められた。

15 電子顕微鏡検査では、肝臓では 100 mg(力価)/kg 体重/日投与群では変化が認められな
16 かったが、250 mg(力価)/kg 体重/日投与群では sER の増加、核の濃縮、sER 及び rER の内腔
17 拡張、ミトコンドリアの腫大、膨化が認められる細胞、クッパー星細胞の腫大、貪食像が認
18 められた。500 mg(力価)/kg 体重/日投与群では、異型のミトコンドリアや density の高いリ
19 ソゾーム、肝内胆管拡張が認められた。全体的にミトコンドリアと ER は増加傾向を示し、
20 投与量の増加に比例して sER が rER よりも増加する傾向を示した。腎臓では 500 mg(力
21 価)/kg 体重/日投与群で尿細管主部上皮細胞内に退行性変性産物、集合管細胞の変性及び脱
22 落像が認められた。

23 本試験において血液生化学的検査、電子顕微鏡所見及び病理組織学的所見を考慮すると
24 250 mg(力価)/kg 体重/日以下投与群における変化は肝臓及び腎臓の毒性的影響とは考えら
25 れないと判断された。

26 以上より、本試験における 91 日間投与の NOAEL は最高用量でも毒性影響が認められな
27 かったことから 500 mg(力価)/kg 体重/日 下線部の記載は資料中にはないが資料における考え方から
28 91 日間亜急性試験を独立したものと考えればこのような記載も可能ではないか?、182 日間投与の
29 NOAEL は 500 mg(力価)/kg 体重/日投与群の病理組織学的検査及び電子顕微鏡検査におけ
30 る腎臓所見から 250 mg(力価)/kg 体重/日と考えられた。

31

32 4. 慢性毒性/発がん性試験

33 慢性毒性試験及び発がん性試験は実施されていない。

34

35 5. 生殖発生毒性試験

36 (1) 妊娠前及び妊娠初期投与試験 (第 I 節) (ラット) 補足資料 6-②

37 Wistar 系ラット (8~9 週齢、雌雄各 20 匹/群) を用いたホスホマイシン Na の腹腔内投
38 与 (0、125、250、750、1,500 mg/kg 体重/日) 試験において認められた毒性所見は以下
39 のとおりであった。被験物質は、雄には交配 63 日前から交配期間を通じて 77 日間、雌に
40 は交配前 14 日から交配期間を通じ妊娠 7 日まで連続投与された。雄は 14 日間の交配終了

1 後、雌は妊娠 20 日に剖検された。

2 母動物について、死亡例は、1,500 mg/kg 体重/日投与群の雄 6 例、雌 3 例に認められた。
3 これは通常静注剤として使用される製剤が腹腔内に長期間適用されたことによる局所刺激
4 性によるもので腹腔内に薬剤を高用量投与した場合にしばしば認められる反応であり、被験
5 物質特有のものではないと考えられた。

6 体重変化では、1,500 mg(力価)/kg 体重/日投与群の雄において摂餌量の減少を伴う体重増
7 加抑制が認められたが、雌では交配前の期間に摂餌量の低値が散見されたが体重抑制は認め
8 られなかった。

9 飲水量は、雄では投与量増加にともない増加傾向が認められ 750 mg/kg 体重/日以上投与
10 群で顕著であった。雌においては、交配前の期間では高値を示す傾向が認められたが妊娠期
11 間中は各群同様であった。

12 病理学的検査では、1,500 mg/kg 体重/日の雌雄に肺全葉の小結節散在、腹膜、腸間膜と
13 他臓器との癒着、肝肥厚及び被膜白濁が認められたが通常静注剤として使用される製剤が腹
14 腔内に長期間適用されたことによる局所刺激性によるもので腹腔内に薬剤を高用量投与し
15 た場合にしばしば認められる反応であり、被験物質特有のものではないと考えられた。

16 交配率は 1,500 mg/kg 体重/日投与群で低値が認められたが、腹腔内適用による局所刺激
17 が関与していると考えられた。妊娠率及び着床率については各群に差異は認められなかった。

18 胎児について、死亡胚発現率は 1,500 mg/kg 体重/日投与群で高かったが、1 母体に集中
19 して起ったもので、それを除けば対照群との間に差異は認められなかった。性比、平均体重
20 に異常は認められなかった。外形異常は全く認められなかった。内臓異常として 750 mg/kg
21 体重/日投与群に水腎症が多く認められたが 1,500 mg/kg 体重/日投与群ではその発現率は低
22 く用量相関性は認められなかった。骨格変異については、125 mg/kg 体重/日投与群におい
23 て 14 肋骨、750 mg/kg 体重/日以上投与群において胸骨核化骨遅延が認められたのみであ
24 ったが、胎児の未熟性に起因していると考えられた。

25 以上より、本試験における NOAEL は、親動物及び胎児において被験物質投与に起因す
26 ると考えられる毒性が認められないことから 1,500 mg/kg 体重/日と考えられた。資料中では、
27 「変化」に対する被験物質特有の毒性影響を否定する理由それぞれ述べられていますが、結論では「～に
28 及ぼす影響はなく、特に 750 mg/kg 以下の投与では、親動物及び胎児に対し安全な量であると推察しえ
29 た」と記載されています。

30

31 (2) 胎児器官形成期投与試験 (第 II 節) (ラット) 補足資料 6-①

32 Wistar 系妊娠ラット (10 週齢、20 匹/群) を用いた妊娠 7~17 日のホスホマイシン Na
33 の腹腔内投与 (0、125、250、750、1,500 mg/kg 体重/日) 試験において認められた毒性
34 所見は以下のとおりであった。各群 2/3 の母動物が妊娠 20 日に剖検され、胎児について観
35 察された。各群 1/3 の妊娠動物は自然分娩させ、分娩 28 日後に母動物及び新生児 (F₁)
36 について観察された。

37 母動物について、死亡例は、1,500 mg/kg 体重/日投与群において 4 例が認められた。

38 一般状態は、1,500 mg/kg 体重/日において一過性の自発運動抑制及び軟便の排泄が認め
39 られた。

40 体重変化では、1,500 mg/kg 体重/日投与群において投与 8 日以降体重増加抑制が認めら

1 れた。

2 摂餌量及び飲水量は、各群一時的な対照群との差異が各 2 時点で認められたのみであった。

3 病理学的検査では、1,500 mg/kg 体重/日投与群のほぼ全例に腹腔内に薬剤を高用量投与
4 した場合にしばしば認められる反応と考えられる肝臓の肥厚、多臓器との癒着、被膜白濁が
5 認められた。

6 胎児について、着床数に各投与群の差は認められなかった。死亡胚発現率は全投与群にお
7 いて対照群を上回ったが、750 mg/kg 体重/日以下投与群においては正常範囲 ($6.7 \pm 3.0\%$)
8 内で被験物質の影響とは考えられなかった。平均胎児体重では、全投与群の雄及び 1,500
9 mg/kg 体重/日投与群の雌において低値が認められたが、750 mg/kg 体重/日以下投与群に認
10 められた差異は軽微であった。外形異常は 250 mg/kg 体重/日投与群で外脳症、1,500 mg/kg
11 体重/日投与群で前肢異常がそれぞれ 1 例認められたのみで、被験物質投与によるものでは
12 ないと考えられた。内臓異常は対照群を含む各群に水腎症が散見され、さらに 250 及び 1,500
13 mg(力価)/kg 体重/日投与群にそれぞれ外脳症、無眼球症併発 (1 例) 及び嗅球及び大脳異常
14 (2 例) が認められたのみで、有意差を示すものではなかった。骨格変異では、1,500 mg/kg
15 体重/日投与群において薬剤の大量投与の際にしばしば認められる 14 肋骨変異併発例が認
16 められた。

17 F_1 の体重変化、哺育率、生存児性比、外形異常、生後 4 週間における視聴覚機能、臓器
18 重量に異常は認められなかった。

19 以上より、本試験において催奇形性は認められず、1,500 mg/kg 体重/日投与群において
20 母動物における体重増加抑制、胎児における死亡胚発現率の増強及び骨格変異発現率増強が
21 認められたことから、本試験における NOAEL は母動物、胎児ともに 750 mg/kg 体重/日と
22 考えられた。

23

24 (3) 周産期及び授乳期投与試験 (第Ⅲ節) (ラット) 補足資料 6-③

25 Wistar 系妊娠ラット (10 週齢、27~31 匹/群) を用いた妊娠 14 日から分娩 21 日後まで
26 のホスホマイシン Na の腹腔内投与 (0、250、750、1,500 mg/kg 体重/日) 試験において認
27 められた毒性所見は以下のとおりであった。母動物 (F_0) は自然分娩させ、児 (F_1) の成
28 長及び機能について検討された。 F_1 は生後 63 日に雌雄各 10 匹を群内交配させ、交配の確
29 認された動物は妊娠 20 日に剖検、着床状況及び生存児 (F_2) についても観察された。

30 母動物について、死亡例は、試験期間中分娩予定日に 1,500 mg/kg 体重/日投与群に分娩
31 障害に起因すると考えられる 1 例が認められた。

32 一般状態は、1,500 mg/kg 体重/日投与群に一過性の自発運動抑制及び軟便の排泄が認め
33 られた。

34 体重変化では、体重増加抑制は認められなかった。

35 摂餌量では、1,500 mg/kg 体重/日投与群に低値が認められ、飲水量では、被験物質投与
36 開始日から妊娠末期までは 1,500 mg(力価)/kg 体重/日投与群において高値を示したが、分娩
37 後に変化は認められなかった。

38 分娩率は、750 mg/kg 体重/日以上投与群に低下が認められたが、周産期死亡胎児が多発
39 したことに起因すると考えられた。また、1,500 mg/kg 体重/日投与群では 3 例の子宮内胎
40 児残留が認められた。

1 病理学的検査では、1,500 mg/kg 体重/日投与群の多数例に肝臓の肥厚、被膜白濁及び腹
2 部臓器の癒着が認められた。

3 F₁について、死亡例は認められず、哺育率は1,500 mg/kg 体重/日投与群で対照群を下回
4 った。生後28日までの体重変化は1,500 mg/kg 体重/日投与群の雌雄において対照群を下回
5 った。250 mg/kg 体重/日投与群において耳介の展開、腹部毛生開始、膻開口の時期遅延が
6 認められたが、被験物質投与の影響とは考えられなかった。生後4~5週後に実施された新
7 生児視聴覚器試験（耳介反射及び対光反射）及び条件回避試験（Shuttle box 法）において
8 各群ともに異常は認められなかった。また、臓器重量及び病理学的検査においても異常は認
9 められなかった。

10 F₁の生殖能力について投与群と対照群との差異は認められず、得られたF₂については、
11 750 mg/kg 体重/日以上投与群において1腹当たりの胎児数が多いことによると考えられる
12 体重低下が認められた。性比については、250 mg/kg 体重/日投与群に有意差が認められた
13 が、被験物質投与によるものではないと考えられた。また、750 mg/kg 体重/日投与群で外
14 脳症が1例認められた以外外形異常は認められず、被験物質投与に起因した内臓異常、骨格
15 異常、骨格変異も認められなかった。

16 以上より、本試験におけるNOAELは、F₀は750 mg/kg 体重/日以上投与群に分娩率の低
17 下が認められたことから250 mg/kg 体重/日、F₁では1,500 mg/kg 体重/日投与群で哺育率
18 低下及び体重抑制が認められたことから750 mg/kg 体重/日、F₂では被験物質投与に起因す
19 ると考えられる毒性が認められなかったことから1,500 mg/kg 体重/日と考えられた。資料中
20 記載「750 mg/kg 以上の投与では、周産期死亡が原因と思われる分娩率の低下を認めたが、最高投与の
21 1,500 mg/kg を除いた各投薬群では分娩後の発育、分化あるいは行動に特記すべき所見を認めず、また、
22 児の生殖能力に及ぼす影響もないと推察し得た。」

24 (4) 胎児器官形成期投与試験（第Ⅱ節）（ウサギ） 補足資料6-①

25 New Zealand White 系妊娠ウサギ（12週齢前後、10~15匹/群）を用いた妊娠6~18日
26 のホスホマイシンNaの耳静脈への静脈内投与（0、80、100、200、400、800 mg/kg 体
27 重/日）試験において認められた毒性所見は以下のとおりであった。母動物全例が妊娠29
28 日に剖検され、胎児について観察された。

29 母動物について、試験期間中、死亡例は認められなかった。

30 一般状態、体重変化、摂餌量、飲水量、病理学的検査において特記すべき所見は認められ
31 ず、流産が400 mg/kg 体重/日投与群に1例認められたのみであった。

32 胎児について、800 mg/kg 体重/日投与群の雌体重に低値が認められた以外、着床数、死
33 亡胚発現率、性比、外形及び内臓異常は認められなかった。骨格変異は通常認められる化骨
34 不全が各群に散見されたに過ぎなかった。

35 以上より、本試験において催奇形性は認められず、最高用量の800 mg/kg 体重/日投与群
36 において胎児体重に低値が認められたに過ぎないことから、本試験における母動物及び胎児
37 のNOAELはそれぞれ800 mg/kg 体重/日及び400 mg/kg 体重/日と考えられた。

39 6. 遺伝毒性試験 補足資料6-⑥、⑦

40 遺伝毒性に関する各種の *in vitro* 及び *in vivo* 試験の結果は表17、18に示されている。

1
2

表.17 *in vitro* 試験

試験	対象	処理濃度	結果
突然変異試験 (rec-assay 法)	<i>Bacillus subtilis</i> H17Rec ⁺ 、M45Rec ⁻	5、10、100 µg(力価)/mL ¹⁾	陰性
突然変異試験 (酵母)	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> Ds(F.K.Zimmermann)	5×10 ⁻⁶ 、5×10 ⁻⁵ M/mL ²⁾	陰性
Ames 試験	<i>Salmonella typhimurium</i> TA1535,TA1536,TA1537, TA1538,TA100,TA98	5×10 ⁻⁶ 、5×10 ⁻⁵ M/mL(±S9) ³⁾	陰性
	<i>S. typhimurium</i> TA1535, TA100	0, 5×10 ⁻⁸ 、1.5×10 ⁻⁷ 、5×10 ⁻⁷ 、 1.5×10 ⁻⁶ 、5×10 ⁻⁶ M/mL(-S9)	陰性

- 3 1) 対象菌株を液体ブロス (beef extract 1%、yeast extract 1%、NaCl 0.5%含有) 中で over night 37°Cに
4 振盪培養。この培養液を M45 Rec⁻株はそのまま、H17 Rec⁺株は同ブロスにて 10 倍に希釈して使用した。
5 陽性対照としてマイトマイシン C (MMC) を使用。
6 2) Zimmermann の方法に準じた定量的方法。陽性対照として MMC を使用。
7 3) +S9 試験の陽性対照として N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG)、-S9 試験の陽性対照とし
8 て 2-aminoanthracene (2-AA) を使用

9
10

表.18 *in vivo* 試験

試験	対象	投与量	結果
優性致死試験	JCL-ICR 系マウス (8~10 週齢)	0, 2,000 mg(力価)/kg 体重 ⁴⁾ 単回腹腔内投与	陰性

- 11 4) 陽性対照として MMC を使用。

12
13
14
15
16

上記のとおり、*in vitro* の細菌及び酵母を用いた突然変異試験、Ames 試験、及び *in vivo* のげっ歯類を用いた優性致死試験のいずれも陰性であり、ホスホマイシンナトリウムは生体にとって特段問題となる毒性はないものと考えられた。

7. 微生物学的影響に関する試験

(1) 臨床分離菌株に対する最小発育阻止濃度 (MIC) (牛由来) 補足資料 8-③

19 牛の呼吸器疾患より分離された *Pasteurella multocida* (72 株) 及び *P. haemolytica* (15
20 株) に対するホスホマイシン Na の MIC が寒天平板希釈法により検討された。結果は表 19
21 に示されている。

22
23

表. 牛由来菌に対するホスホマイシンナトリウムの MIC₅₀

菌名	株数	最小発育阻止濃度(MIC) (µg(力価)/mL)	
		MIC ₅₀	範囲

<i>Pasteurella multocida</i>	72	12.5	0.39~25
<i>P. haemolytica</i>	15	0.78	≤0.05~50

(2) 臨床分離菌株に対する最小発育阻止濃度 (MIC) (ヒト由来)

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ホスホマイシンの約 5×10^6 CFU/spot における MIC が調べられている。(表.20)

表.20 動物用抗菌性物質の MIC₅₀

菌名	株数	最小発育阻止濃度 (μg/mL)	
		Fosfomycin	
		MIC ₅₀	範囲
通性嫌気性菌			
<i>Escherichia coli</i>	30	4	2~32
<i>Enterococcus</i> species	30	64	8~128
嫌気性菌			
<i>Bacteroides</i> species	30	>128	>128
<i>Fusobacterium</i> species	20	8	4~16
<i>Bifidobacterium</i> species	30	64	8~>128
<i>Eubacterium</i> species	20	64	16~128
<i>Clostridium</i> species	30	8	8~64
<i>Peptococcus</i> species/ <i>Peptostreptococcus</i> species	30	0.5	0.5~>128
<i>Prevotella</i> species	20	>128	>128
<i>Lactobacillus</i> species	30	>128	>128
<i>Propionibacterium</i> species	30	>128	>128

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* species/*Peptostreptococcus* species の 0.5 μg/mL であり、MIC_{calc}²は 4.397 μg/mL (0.004397 mg/mL) であった。

8. 一般薬理試験

(1) 中枢神経系に及ぼす影響

ICR 系マウス (雄、10 匹/群、ホスホマイシン Na 静脈内投与(40、400mg/kg 体重)) の一般行動 (Irwin の多元観察法) 及び自発運動 (VARIMEX II 使用) を観察したところ、いずれの投与量においても一般行動及び自発運動量に影響を及ぼさなかった。補足資料9-②

² 試験薬に活性のある最も関連のある属の平均 MIC₅₀ の 90 %信頼限界の下限值

1 JCL:ICR系マウス(雄、5匹/群)のホスホマイシンNa静脈内投与(40、400mg/kg体
2 重)15分後におけるPentetrazol(100mg/kg体重、皮下投与)またはBemegride(30mg/kg
3 体重、皮下投与)に対する抗痙攣作用、Tiopental-Na(30mg/kg、静脈内投与)に対する
4 麻酔増強作用及びTremorine(10mg/kg体重、腹腔内投与)に対する諸症状は、いずれの
5 投与量においても認められなかった。補足資料9-①

7 JCL:ICR系マウス(雄、1群5組(10匹))にホスホマイシンNa静脈内投与(40、400mg/kg
8 体重)15、30分、1、2、3、4時間後に電気ショック(3Hz、70V、1mA、1分間)を加
9 えたところ、被験物質投与前と同様の闘争反応を発現し、闘争抑制作用は認められなかった。

10 補足資料9-①

12 JCL:ICR系マウス(雄、5匹/群)のホスホマイシンNa静脈内投与(40、400mg/kg体
13 重)15、30分、1、2、3、4時間後における背位静置からの立ち直り及び30度傾斜板から
14 の順応性は、いずれの投与量においても抑制されず、立ち直り反射及び傾斜板順応性に対す
15 る抑制作用は認められなかった。補足資料9-①

17 日本白色種ウサギ(雄、3匹/群)の脳に双極電極を植え込み脳波を観察した結果、行動学
18 的にまた脳波学的にホスホマイシンNa静脈内投与(40、400mg/kg体重)の影響は認めら
19 れなかった。補足資料9-①

21 日本白色種ウサギ(雄、3匹/群)の体温がホスホマイシンNa静脈内投与(40、100、200、
22 400、800mg/kg体重)2、1時間前及び直前、1、2、3時間後に測定された。200mg/kg
23 体重以下投与群では体温上昇傾向が認められた、いずれも規定の0.6℃以内であったが、
24 400mg/kg体重投与群では3例中2例が、800mg/kg体重投与群では3例とも投与2時間
25 後をピークとして体温が1℃以上上昇した。補足資料9-①

27 (2) 抹消神経に及ぼす影響

28 Donryu系ラット(雄)を用いて横隔膜神経筋標本を作製し、筋及び神経に放電刺激(筋:
29 160V、神経:6V)を加え惹起される筋攣縮が観察された。ホスホマイシンNa0.01%適用
30 では影響は認められなかったが、0.05%以上の適用で筋攣縮反応は抑制された。補足資料9-

31 ①

33 日本白色種ウサギ(雄)の生体位坐骨神経-前脛骨筋標本を用いた、坐骨神経刺激(0.1Hz、
34 0.1msecの最大閾値(0.9mV)の短波形)による筋攣縮がポリグラフに記録された。ホスホ
35 マイシンNaの静脈内投与(40、100mg/kg体重)の影響は認められなかった。補足資料9-

36 ①

38 日本白色種ウサギ(雄、4匹/群)の頸僧帽筋に経皮的にステンレス電極を刺入して、筋電
39 図がオシログラフに記録された。ホスホマイシンNaの静脈内投与(40、100mg/kg体重)
40 後の観察において、Head dropの発現及び筋電図上の変化は認められなかった。補足資料9-

1 ①

2 ウサギ (3 匹/群) を用いた同様の試験において、ホスホマイシン 200 mg(力価)/kg 体重の
3 静脈内投与により Head drop の発現及び筋電図上の変化は認められなかった。補足資料 9-

4 ②

5
6 ウサギ (雄、3 匹/群) にホスホマイシン Na を点眼 (濃度 : 0.01、0.1、1、5、10、20 %)
7 した結果、角膜反射の消失は認められず、局所麻酔作用は認められなかった。補足資料 9-②

8 9 (3) 循環器系・呼吸器系に及ぼす影響

10 ビーグル犬 (雌雄、3~6 匹/群、ホスホマイシン Na 静脈内投与(0、40、75、100、200 mg(力
11 価)/kg 体重)、5 分間投与(200 mg(力価)/kg 体重投与群のみ 5 分間及び 1 時間投与)) の左大
12 体動脈血流量、血圧、呼吸、心拍数及び心電図が観察された。血流量は、100 mg(力価)/kg
13 体重以上投与群において一過性の増加が認められたが、200 mg(力価)/kg 体重投与群 1 時間
14 投与において変化は認められなかった。血圧、呼吸及び心拍数は、いずれの投与量において
15 も変化は認められなかった。心電図は、100 mg(力価)/kg 体重以上投与群において QRS 波
16 の増高、200 mg(力価)/kg 体重投与群において T 波の低下傾向が認められたが、200 mg(力
17 価)/kg 体重投与群 1 時間投与において変化は認められなかった。補足資料 9-②

18
19 ウサギ (雌雄) の耳殻血管灌流標本 (Krawkow-Pissemanski 法) を用いてホスホマイシン
20 Na (濃度 : 0.01、0.1、1、5、10、20、40 %) の抹消血管に対する作用が検討された結果、
21 20 %適用群において軽度の収縮が認められたのみであった。補足資料 9-②

22
23 日本白色種ウサギ (雄、3 匹) を用いたホスホマイシン Na の皮内投与 (0.1 mL、濃度 :
24 10^{-4} 、 10^{-3} 、 10^{-2} 、5、 5×10^{-2} 、 10^{-1} 、 2×10^{-1} g/mL) による色素沈着度 (0.5 % Evan's blue
25 使用) の観察では、5 %濃度の投与部位には軽度の、10 %以上の濃度の投与部位には中等度
26 の色素沈着が認められた。補足資料 9-①

27
28 金線カエルの摘出心臓灌流標本 (塩谷第 3 法) を用いてホスホマイシン Na の影響を観察
29 した結果、 10^{-4} g(力価)/mL 以下の濃度では心運動に影響は認められなかったが、 5×10^{-4}
30 g(力価)/mL 以上の濃度において心運動の振幅が縮小した。また、この作用は 10^{-7} g/mL 濃
31 度の Atropin の影響を受けなかったが、 1×10^{-5} g/mL 濃度の BaCl₂による心運動亢進を抑
32 制した。補足資料 9-②

33
34 ウサギ (雄) の摘出心臓 (ランゲンドルフ装置) を用いてホスホマイシン Na の影響を観
35 察した結果、8 mg(力価)以下の適用量において心運動に影響は認められなかったが、20
36 mg(力価)以上の適用により心運動振幅の縮小及び拍出量の減少が認められた。拍動数に変
37 化は認められなかった。また、この作用は 0.12 mg BaCl₂による心運動亢進を抑制した。補
38 足資料 9-②

39
40 ウサギ (雄) の摘出右心房を用いてホスホマイシン Na の影響を観察した結果、 3×10^{-3}

1 g(力価)/mL 以下の濃度において影響は認められなかったが、 4×10^{-3} g(力価)/mL 以上の濃
2 度においては洞律動に促進的作用が認められた。補足資料9-②

3
4 ウサギ(雄)の摘出心臓を用いてホスホマイシン Na の影響を観察した結果、低濃度適用
5 (2×10^{-1} g(力価)/mL 液、2 及び 5 mL) において心刺激伝道時間に影響は認められなかつ
6 たが、それぞれ 3~5 分後及び 5~10 分後に心律動の一時的な軽度の促進が認められた。高濃
7 度適用 (4×10^{-1} g(力価)/mL 液、0.5 及び 2 mL) においては、0.5 mL 適用で心刺激伝道時
8 間に影響は認められず一時的な心律動抑制及び洞性不整脈が認められたが、2 mL 適用では
9 心刺激伝道時間の延長、心律動の一時的な抑制、房室ブロックの発現が認められた。補足資
10 料9-②

11 12 (4) 腎機能に及ぼす影響

13 Wistar 系ラット(雄、7 匹/群)にホスホマイシン Na を腹腔内投与(0、160、320 mg(力
14 価)/kg 体重)後 4 時間の尿量に変化は認められなかった。

15 また、Wistar 系ラット(雄、8 匹/群)に 2 日間の絶水負荷後ホスホマイシン Na の 3 日
16 間腹腔内投与(0、1,000 mg(力価)/kg 体重/日)試験が実施された。3 日目のホスホマイシ
17 ン Na 投与 1 時間前に Dextran 50 mL/kg 体重が腹腔内投与され、Dextran 併用の影響につ
18 いて検討された(対照:絶水 4 日後 Dextran 50 mL/kg 体重を腹腔内投与)。最終投与 1 日
19 後の血清中 BUN 及び UA の値について、Dextran 単独群とホスホマイシン Na・Dextran
20 併用群間に有意差は認められなかった。補足資料9-③

21 22 (5) 肝機能に及ぼす影響

23 JCL-ICR 系マウス(25 匹)、Wistar 系ラット(30 匹)及びビーグル犬(10 匹)の血清
24 にホスホマイシン Na を添加(0、1.6、5、10 mg(力価)/mL)し、37°C(0.5、3、6 時間)
25 及び 4°C(24 時間)のインキュベーション後、Wroblewski-Karmen 法(U.V.法)及び
26 Reitman-Frankel 法(R.F.法)で GOT 及び GPT 活性が測定された。いずれの方法で測定
27 した場合も酵素活性に差は認められなかった。補足資料9-④

28
29 ビーグル犬(3 匹/群)にホスホマイシン Na を単回静脈内投与(0、500 m(力価)g/kg 体
30 重)し、経時的(投与 15、30、60、120、180 分後)に血清中 GOT 及び GPT 活性が U.V.
31 法及び R.F.法により測定された。両群の GOT 及び GPT 活性に差は認められなかった。補
32 足資料9-④

33
34 日本白色種ウサギ(10 匹/群)に CCl_4 の 10%オリーブ油懸濁液を経口投与(0、0.5 mL/kg
35 体重)直後にホスホマイシン Na を静脈内投与(0、500 mg(力価)/kg 体重)し、血清、肝
36 臓ホモジナイズ中酵素活性及び肝臓組織像について検討された。

37 CCl_4 単独投与群の 3 例及びホスホマイシン Na・ CCl_4 併用群の 1 例が死亡した。

38 ホスホマイシン Na 単独投与群において、血清、肝臓ホモジナイズ中酵素活性及び肝臓組
39 織像に生理食塩水投与群(対照群)との差は認められなかった。

40 ホスホマイシン Na・ CCl_4 併用群においては、 CCl_4 単独投与群同様、血清中 ALP、LDH、

1 GOT、GPT、LDH アイソザイムのうち LDH₅ の活性上昇、肝臓ホモジナイズ中酵素活性
2 低下、肝臓病理組織学的検査では中心静脈周囲円形細胞浸潤、肝細胞空砲化、水腫様変性及
3 び壊死等が認められたがいずれも CCl₄ 単独投与群より軽度であった。補足資料 9-④

4
5 Wistar 系ラット (24 匹/群) に CCl₄ の 10 % オリーブ油懸濁液を経口投与 (0、1 mL/kg
6 体重) 直後に 20 % ホスホマイシン Na を腹腔内投与 (0、1,000 mg(力価)/kg 体重) し、単
7 独投与群及び無処置群と比較検討された。

8 いずれの投与群にも死亡例は認められなかった。

9 ホスホマイシン Na 単独投与群において、血清、肝臓ホモジナイズ中酵素活性及び肝臓組
10 織像に生理食塩水投与群 (対照群) との差は認められなかった。

11 ホスホマイシン Na・CCl₄ 併用群においては、CCl₄ 単独投与群同様、血清中諸酵素の活
12 性上昇、肝臓ホモジナイズ中 GOT 活性低下、肝臓病理組織学的検査では肝萎縮及び黄褐色
13 化、中心静脈周囲円形細胞浸潤、肝細胞空砲化、水腫様変性及び壊死等が認められたがいず
14 れも CCl₄ 単独投与群より軽度であった。

15 Wistar 系ラット (7 匹/群) を用いて実施された CCl₄ の 10 % オリーブ油懸濁液を経口投
16 与 (0、1 mL/kg 体重) 直後のホスホマイシン Na を静脈内投与 (0、500 mg(力価)/kg 体重)
17 試験においても上記腹腔内投与と同様の結果が得られた。補足資料 9-④

18
19 Wistar 系ラット (11 匹) 及び日本白色種ウサギ (16 匹) の摘出肝臓を用いて、ホスホマ
20 イシン Na 添加 (0、1、5 mg(力価)/mL) ロック・リングル液で灌流し、経時的 (ラット:
21 10、20、30 分後、ウサギ: 15、30、45、60 分後) に肝静脈流出量及び流出液中の酵素 (GOT、
22 GPT、LDH) 活性が測定された。

23 ラット及びウサギ両動物の摘出肝臓をホスホマイシン Na 含有灌流液またはホスホマイ
24 シン Na 非含有灌流液のいずれかで灌流した場合も、肝静脈流出液中に GOT、GPT、LDH の
25 逸脱が同様に認められた。肝静脈流出量についてもホスホマイシン Na 含有の有無にかかわ
26 らず近似していた。補足資料 9-④

27 28 (6) 血液に及ぼす影響

29 日本白色種ウサギ (雄、3 匹/群) を用いて Quick prothrombin 時間測定法により、ホス
30 ホマイシン Na の静脈内投与 (40、400 mg/kg 体重) 後、経時的 (投与前、投与 30 分、1、
31 3、6 時間後) に Prothrombin 時間が測定された。投与前各個体の Prothrombin 時間は
32 12.3~14.7 秒で、ホスホマイシン Na 投与後の各測定時点における Prothrombin 時間の変
33 動範囲は±0.5 秒以内にとどまり、ホスホマイシン Na 投与は血液凝固性に影響を及ぼさな
34 かった。補足資料 9-①

35
36 日本白色種ウサギ (雄、3 匹/群) にホスホマイシン Na の静脈内投与 (40、400 mg/kg 体
37 重) 後の血球を経時的 (投与前、投与 30 分、1、3、6 時間後) に 0.3~0.7 % 濃度の食塩液中
38 に滴下し、溶血開始濃度 (最小抵抗) 及び溶血完結濃度 (最大抵抗) が測定された。投与前
39 の各個体の最小抵抗値は 0.56~0.60 %、最大抵抗値は 0.38~0.40 % で、ホスホマイシン Na
40 投与後の各測定時点における抵抗値の変動範囲は±0.02 % 以内にとどまり、赤血球抵抗性に

1 影響を及ぼさなかった。補足資料9-①

2

3 (7) 平滑筋に及ぼす影響

4 Hartley 系モルモット (雄) の摘出気管を用いて Magnusu 法 (Locke 液に溶解) により
5 ホスホマイシン Na の影響について検討された結果、0.5 %以上適用において軽微な緊張度の
6 下降が認められたが、0.1 %以下では影響は認められなかった。補足資料9-①

7 モルモット (雄) の摘出気管を用いて Magnusu 法 (Locke 液に溶解) によりホスホマイ
8 シン Na の影響について検討された結果、0.001 及び 0.01 % (1×10^{-5} 及び 1×10^{-4} g/mL)
9 の濃度液適用において緊張度の変化は認められなかった。補足資料9-②

10

11 日本白色種ウサギ (雄) の摘出回腸を用いて Magnusu 法 (Locke 液に溶解) によりホス
12 ホマイシン Na の影響について検討された結果、0.5 %以上の適用で自動運動に対し抑制的に
13 作用したが、0.1 %適用では影響は認められなかった。また、0.01 % Barium chloride 及び
14 0.00001 % Acetylcholine 適用による緊張度の上昇は、1 %ホスホマイシン Na 適用により不
15 完全ながら緩解したが、ホスホマイシン Na 適用による緊張度の上昇は 0.000001 %Atropin
16 適用により消退しなかった。補足資料9-①

17 ウサギ (雄) の摘出回腸を用いて Magnusu 法 (Locke 液に溶解) によりホスホマイシン
18 Na の影響について検討された結果、0.001 %及び 0.01 % (1×10^{-5} 及び 1×10^{-4} g/mL) の濃
19 度液適用において緊張度の変化は認められなかった。補足資料9-②

20

21 Donryu 系未経産非妊娠ラットの摘出子宮を用いて Magnusu 法 (Locke 液に溶解) によ
22 りホスホマイシン Na の影響について検討された結果、0.1%以上の適用で抑制的に作用した
23 が、0.05 %適用では影響は認められなかった。また、0.01 % Barium chloride 及び 0.000001 %
24 Acetylcholine 適用による緊張度の上昇は、0.5 %ホスホマイシン Na 適用により消退した。
25 補足資料9-①

26 Donryu 系未経産非妊娠ラットの摘出子宮を用いて Magnusu 法 (Locke 液に溶解) によ
27 りホスホマイシン Na の影響について検討された結果、0.001 %及び 0.01 % (1×10^{-5} 及び 1
28 $\times 10^{-4}$ g/mL) の濃度液適用において緊張度の変化は認められなかった。補足資料9-②

29 Wistar 系経産非妊娠ラットの摘出子宮を用いて Magnusu 法 (Locke 液に溶解) によりホ
30 スホマイシン Na の影響について検討された結果、0.25 % (2.5×10^{-3} g/mL) 以上の濃度液
31 適用で抑制的に作用したが、0.05 % (5×10^{-4} g/mL) 以下の濃度液適用では影響は認められ
32 なかった。また、0.01 % (1×10^{-4} g/mL) Barium chloride 及び 0.00001 % (1×10^{-7} g/mL)
33 Acetylcholine 適用による緊張度の上昇は、1 % (1×10^{-2} g/mL) ホスホマイシン Na 適用に
34 より緩解した。補足資料9-②

35 Wistar 系妊娠ラット (妊娠 12~17 日) の摘出子宮を用いて Magnusu 法 (Locke 液に溶
36 解) によりホスホマイシン Na の影響について検討された結果、0.25 % (2.5×10^{-3} g/mL)
37 以上の濃度液適用で抑制的に作用したが、0.05 % (5×10^{-4} g/mL) 以下の濃度液適用では影
38 響は認められなかった。また、0.01 % (1×10^{-4} g/mL) Barium chloride 及び 0.00001 % (1
39 $\times 10^{-7}$ g/mL) Acetylcholine 適用による緊張度の上昇は、1 % (1×10^{-2} g/mL) ホスホマイ
40 シン Na 適用により緩解した。補足資料9-②

1
2 SD系ラットの摘出輸精管を用いて Magnusu 法 (Tyroide 液に溶解) によりホスホマイシン Na の影響について検討された結果、1% (1×10^{-2} g/mL) の濃度液適用でも緊張度に影響
3
4 は認められなかった。補足資料 9-②

5
6 ICR系マウス (雄、10匹/群) を用いて、ホスホマイシン Na を静脈内投与 (0、40、400mg/kg
7 体重) 15分後に炭末乳剤を経口投与し、さらにその20分後の炭末輸送率について検討され
8 た。いずれの投与量においても差は認められず、ホスホマイシン Na の消化管輸送能に対す
9 る影響は認められなかった。補足資料 9-②

10
11 未経産、非妊娠ラットの生体位子宮 (pentobarbital sodium 麻酔下) を用いて、ホスホマ
12 イシン Na の静脈内投与 (0、40、400mg/kg 体重) の影響について検討された結果、400mg/kg
13 体重投与においてきわめて軽微な緊張度の下降が認められた。補足資料 9-②

14 15 (8) 眼粘膜刺激試験

16 ウサギ (雄、3匹/群) を用いて、Draize 法によりホスホマイシン Na (濃度: 10^{-4} 、 10^{-3} 、
17 10^{-2} 、5、 5×10^{-2} 、 10^{-1} 、 2×10^{-1} g/mL) の経時的 (点眼 0.5、1、3、6、24、48 時間後) な
18 眼粘膜 (角膜、虹彩、結膜) に対する影響について検討された。1% (10^{-2} g/mL) 以下の濃
19 度において、眼粘膜への影響は認められなかったが、5% (5×10^{-2} g/mL) 以上の濃度におい
20 て一過性の結膜充血が認められた。なお、角膜及び虹彩に対して影響は認められなかった。
21 補足資料 9-②

22 23 Ⅲ. 食品健康影響評価

24
25
26