

(案)

動物用医薬品・飼料添加物評価書

ナラシン

2011年8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	4
○食品安全委員会委員名簿	4
○食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会専門委員名簿	4
○要約	5
I. 評価対象動物用医薬品及び飼料添加物の概要	6
1. 用途	6
2. 有効成分の一般名	6
3. 化学名	6
4. 分子式	6
5. 分子量	6
6. 構造式	6
7. 使用目的及び使用状況	6
II. 安全性に係る知見の概要	7
1. 薬物動態試験	7
(1) 薬物動態試験 (ラット)	7
(2) 薬物動態試験 (鶏)	8
(3) 薬物動態試験 (牛)	11
(4) 薬物動態試験 (豚)	12
(5) 薬物代謝比較試験	13
(6) 代謝物の生物活性	14
2. 残留試験	14
(1) 残留試験 (鶏・5日間投与①)	14
(2) 残留試験 (鶏・5日間投与②)	15
(3) 残留試験 (鶏・5日間投与③)	15
(4) 残留試験 (鶏・5日間投与④)	15
(5) 残留試験 (鶏・5日間投与⑤)	16
(6) 残留試験 (鶏・21日間投与)	16
(7) 残留試験 (鶏・42日間投与①)	16
(8) 残留試験 (鶏・42日間投与②)	18
(9) 残留試験 (鶏・42日間投与③)	18
(10) 残留試験 (鶏・45日間投与)	19
(11) 残留試験 (鶏卵)	19
(12) 残留試験 (牛・5日間投与)	19
(13) 残留試験 (牛・140日間投与)	19
(14) 残留試験 (豚・5日間投与)	19
(15) 残留試験 (豚・14日間投与)	20

3. 遺伝毒性試験	21
4. 急性毒性試験	23
(1) 急性毒性試験 (マウス、ラット、ウサギ、鶏、ウズラ、豚及び馬)	23
(2) 急性毒性試験 (マウス及びラット)	24
5. 亜急性毒性試験	24
(1) 3ヶ月間亜急性毒性試験 (マウス①)	24
(2) 3ヶ月間亜急性毒性試験 (マウス②)	25
(3) 3ヶ月間亜急性毒性試験 (マウス③)	26
(4) 3ヶ月間亜急性毒性試験 (ラット①)	26
(5) 3ヶ月間亜急性毒性試験 (ラット②)	27
(6) 3ヶ月間亜急性毒性試験 (イヌ①)	28
(7) 3ヶ月間亜急性毒性試験 (イヌ②)	29
(8) 6ヶ月間亜急性毒性試験 (イヌ)	30
6. 対象動物を用いた安全性試験	30
(1) 安全性試験 (鶏①)	30
(2) 安全性試験 (鶏②)	31
(3) 安全性試験 (鶏③)	32
(4) 安全性試験 (牛)	32
(5) 安全性試験 (豚①)	33
(6) 安全性試験 (豚②)	33
7. 慢性毒性試験	33
(1) 1年間慢性毒性試験 (ラット)	33
(2) 1年間慢性毒性試験 (イヌ)	34
8. 慢性毒性/発がん性試験	36
(1) 2年間慢性毒性/発がん性併合試験 (マウス)	36
(2) 2年間慢性毒性/発がん性併合試験 (ラット)	37
9. 生殖毒性試験	37
(1) 3世代繁殖試験 (ラット)	38
(2) 発生毒性試験 (ラット)	38
(3) 発生毒性試験 (ウサギ)	38
10. その他の試験	39
(1) 皮膚刺激性試験 (ウサギ)	39
(2) 眼刺激性試験 (ウサギ)	40
(3) 皮膚感作性試験 (モルモット)	40
11. 一般薬理試験	41
12. 微生物学的影響に関する試験	41
(1) 臨床分離菌に対する MIC①	41
(2) 臨床分離菌に対する MIC②	42
(3) 糞便結合試験 (ヒト)	43
(4) 代謝物の微生物学的活性	44

(5) サルモネラ排菌に対する影響 (鶏) .....	44
13. ヒトにおける知見 .....	45
Ⅲ. 食品健康影響評価 .....	45
1. 国際機関における評価 .....	45
(1) JECFA における評価 .....	45
(2) EFSA における評価 .....	46
2. 毒性学的 ADI について .....	46
3. 微生物学的影響について .....	46
4. ADI の設定について .....	47
表 15 JECFA 及び EFSA における NOAEL 等の比較 .....	48
・別紙 1 検査値等略称 .....	50
・参照 .....	52

1 <審議の経緯>

2005年 11月 29日 暫定基準告示（参照1）

2007年 3月 13日 厚生労働大臣より残留基準設定に係る食品健康影響評価について  
要請（厚生労働省発食安第0305026号）

2007年 3月 19日 第181回食品安全委員会（要請事項説明）

2011年 8月 31日 第48肥料・飼料等専門調査会

2

3

4 <食品安全委員会委員名簿>

（2009年6月30日まで）

見上 彪（委員長）  
小泉 直子（委員長代理\*）  
長尾 拓  
野村 一正  
畑江 敬子  
廣瀬 雅雄\*\*  
本間 清一

（2011年1月6日まで）

小泉 直子（委員長）  
見上 彪（委員長代理\*）  
長尾 拓  
野村 一正  
畑江 敬子  
廣瀬 雅雄  
村田 容常

（2011年1月7日から）

小泉 直子（委員長）  
熊谷 進（委員長代理\*）  
長尾 拓  
野村 一正  
畑江 敬子  
廣瀬 雅雄  
村田 容常

\* : 2007年2月1日から

\* : 2009年7月9日から

\* : 2011年1月13日から

\*\* : 2007年4月1日から

5

6

7 <食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会専門委員名簿>

（2009年10月1日から）

唐木 英明（座長）  
酒井 健夫（座長代理）  
青木 宙 高橋 和彦  
秋葉 征夫 舘田 一博  
池 康嘉 津田 修治  
今井 俊夫 戸塚 恭一  
江馬 眞 細川 正清  
桑形 麻樹子 宮島 敦子  
下位 香代子 元井 菫子  
高木 篤也 吉田 敏則

8

9

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8

要 約

ポリエーテルモノカルボン酸系のイオノフォア抗生物質であるナラシン(CAS No. 55134-13-9) について、EFSA、JECFA評価書及びメーカー提供資料を用いて食品健康影響評価を実施した。

[以下、調査会終了後作成。]

1 I. 評価対象動物用医薬品及び飼料添加物の概要

2 1. 用途

3 抗菌剤

4

5 2. 有効成分の一般名

6 和名：ナラシン

7 英名：Narasin

8

9 3. 化学名 (ナラシン A)

10 IUPAC

11 英名：α-ethyl-6-[5-[2-(5-ethyltetrahydro-5-hydroxy-6-methyl  
12 -2H-pyran-2-yl)-15-hydroxy-2,10,12-trimethyl-1,6,8-trioxadispiro  
13 [4.1.5.3]pentadec-13-en-9-yl]-2-hydroxy-1,3-dimethyl-4-oxoheptyl]tetrahyd  
14 ro-3,5-dimethyl-2H-pyran-2-acetic acid

15 CAS (No. 55134-13-9)

16

(参照2;MERCK INDEX)

17 4. 分子式

18  $C_{43}H_{72}O_{11}$

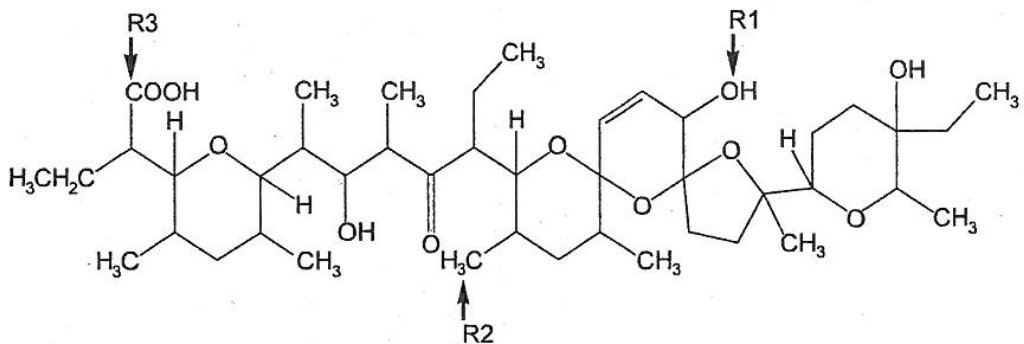
19

20 5. 分子量

21 765.03

22

23 6. 構造式



Structural variants of narasin	R1	R2	R3
A	OH	CH <sub>3</sub>	COOH
B	=O	CH <sub>3</sub>	COOH
D	OH	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	COOH
I	OH	CH <sub>3</sub>	COOCH <sub>3</sub>

24

25

(参照 3;FAS)

26 7. 使用目的及び使用状況

1 ナラシンは、*Streptomyces aureofaciens* NRRL 8092株が産生するポリエーテルモノ  
 2 カルボン酸系のイオノフォア<sup>1</sup>抗生物質で、脂溶性複合物を形成し細胞膜の通過を容易  
 3 にする。(参照4;ブラッド獣医学大辞典) ナラシンは、ナラシンA (96%)、ナラシンB (1%)、  
 4 ナラシンD (2%)、ナラシンI (1%) で構成され、ナラシンAが主要な活性を有する (85%)。  
 5 ナラシンはブロイラーのkokシジウム感染のスポロゾイト及び無性生殖期 (前期及び後  
 6 期) に有効である。ナラシンの抗菌スペクトルは限定的で、主に *Enterococcus* sp.、  
 7 *Staphylococcus* sp. 及び *Clostridium perfringens*を含むグラム陽性菌に対して活性  
 8 を有する。

9 海外では、鶏のkokシジウム症の予防を目的として、飼料に添加して使用されており、  
 10 ブロイラーの壊死性腸炎予防にも用いられる。牛では成長促進剤として使用される。

11 日本では、動物用医薬品としては承認されておらず、鶏を対象とした飼料添加物が指  
 12 定されている。

13 ヒト用医薬品としては使用されていない。(参照3; FAS 1EXPLANATION p133~134)

14 なお、ポジティブリスト制度導入に伴う残留基準値<sup>2</sup>が設定されている。(参照1)

## 16 II. 安全性に係る知見の概要

17 本評価書では、JECFA 及び EFSA レポート、飼料添加物の指定時の試験成績等の抄録  
 18 等をもとに、ナラシンの毒性に関する主な知見を整理した。(参照 3~7)

### 19 1. 薬物動態試験

#### 20 (1) 薬物動態試験 (ラット)

21 胆管カニューレを挿入したラット (系統、動物数等不明) に <sup>14</sup>C-ナラシンを単回経  
 22 口投与 (投与量不明) した。投与量の 35% が胆汁中に、6% が尿中から回収された。こ  
 23 の結果から少なくとも投与量の 40% が吸収されたと考えられた。(参照 3; FAS  
 24 2.1.1.(a) Absorption p135)

25  
 26  
 27 ラット (Fisher 344 系、雌雄各 10 匹) に菌糸体ナラシンを 5 日間経口投与 (5 mg/kg  
 28 体重/日) した。尿及び糞を毎日雌雄別に採取し、最終投与後の雌雄の糞は混合し、抽  
 29 出が行われた。抽出物中のナラシンの代謝物を HPLC/ISP-MS を用いて同定した。

30 糞中には、3-水酸化ナラシンの少なくとも 4 種類の構造異性体が存在することがピー  
 31 ク保持時間の違いから示された。少なくともいくつかの 2-水酸化ナラシンを含む 4 つの  
 32 ピークが同定された。他の 4 つのピークは 3-水酸化ナラシン B を、また 4 つのピーク  
 33 は 2-水酸化ナラシン B を有することが確認された。1-水酸化ナラシン又は 1-水酸化ナ  
 34 ラシン B を有するピークもあった。本試験では、HPLC/ISP-MS により水酸化の正確  
 35 な位置は確認されなかったが、鶏の過去の試験からナラシンの水酸化は環上で生じてい  
 36 ることが示された。これらの試験から鶏とラットは共通の代謝経路 (酸化/水酸化) を

1 イオン透過担体：特定のイオンの細胞膜透過性を増加させる。

2 平成 17 年厚生労働省告示第 499 号によって新たに定められた残留基準値



1 有していることが示唆され、鶏でみられた水酸化代謝物がラットを用いたナラシンの毒  
2 性試験で認められたことにより確認された。(参照 3:FAS2.1.2.Biotransformation p139)

3  
4 ラット（雌雄）にナラシンを 5 日間強制経口投与（5 mg/kg 体重/日）した。糞中代  
5 謝物が調べられ、ナラシンの水酸化誘導体代謝物と及びナラシン B の水酸化誘導体代謝  
6 物が同定された。正確な水酸化の位置は確認されなかったが、4 種類の異性体（2-水酸  
7 化ナラシン A/B 並びに 3-水酸化ナラシン A/B）の存在が確認された。(参照 5:EFSA Journal  
8 3.4 Metabolism Studies p19/44)

### 9 10 専門委員コメント

11 誘導体と代謝物の用語はどちらかに統一した方が良いのでは無いでしょうか。

12  
13 成熟ラット（系統不明、1 匹）に  $^{14}\text{C}$ -ナラシンを単回強制経口投与（2.3 mg/匹）し、  
14 投与後 52 時間に総投与放射活性の約 75 %が尿及び糞から回収された。尿中には、排泄  
15 された放射活性のわずか 1.1 %しかみられず、残り（98.9 %）は糞中にみられた。(参  
16 照 3:FAS2.1.1.(c)Excretion p137)

17  
18 胆管カニューレを挿入した幼若ラット（系統不明、3 匹）に  $^{14}\text{C}$ -ナラシンを単回強制  
19 経口投与（2.3 mg/匹）した結果、総投与放射活性の約 16 %までが投与 24 時間後に胆  
20 汁排泄された。(参照 3:FAS2.1.1.(c)Excretion p137)

21  
22 ラット（Wistar 系、2 匹）に  $^{14}\text{C}$ -ナラシンを投与（3.1 mg/匹、投与経路不明）した  
23 呼吸試験で、回収された  $^{14}\text{CO}_2$ は投与量の 0.2 %未満であった。(参照  
24 3:FAS2.1.1.(c)Excretion p137)

### 25 26 (2) 薬物動態試験（鶏）

27 鶏（ブロイラー、羽数不明）に  $^{14}\text{C}$ -ナラシンを混餌投与（100 ppm）した。

28 排泄物中に 3 種類の代謝物（NM-1、NM-2 及び NM-3 ; p11 表 2 参照）が存在し、  
29 放射活性の 14 %を占めた。肝臓中には多数の放射標識代謝物がみられ、その中で未変  
30 化体が最も多く存在し、総放射活性の約 8.8 %に相当した。(参照 3:(FAS 2.1.1.(a)Absorption  
31 p135)

32  
33 鶏（ブロイラー、4 週齢、30 羽）にナラシンを 2 日間強制経口投与（10 mg(力価)/kg  
34 体重を 1 日 2 回投与）し、血漿中濃度の推移、糞中排泄及び体内分布が TLC-バイオオ  
35 ートグラフ法で検討された。

36 血漿中濃度は緩やかに上昇し、投与 3 時間後に  $C_{\max}$  (0.25 mg(力価)/L) に達した後、  
37 速やかに減衰し、投与 12 時間後には検出限界 (0.025 mg(力価)/kg) 以下となった。AUC  
38 は 0.62 mg(力価)・h/L であった。

最終投与 3 時間後の主要組織への分布を検討した結果、組織中濃度は脂肪が平均 1.189 mg(力価)/kg と最も高く、次いで小腸>皮膚>筋胃>肝臓>脾臓>血漿>腎臓>肺>心臓>脾臓>胆汁の順で、筋肉は検出限界以下であった。

糞中濃度は、全例が投与 24~48 時間後に最高値を示した。投与後 120 時間の糞中総排泄率は投与量の平均 3.2 %であった。(参照 65;抄録 資料番号 42 p15)

鶏(ブロイラー、雌雄各 3 羽)に  $^{14}\text{C}$ -ナラシンを 4 又は 6 日間混餌投与(100 ppm)し、最終投与 6 時間後(実質上の休薬 0 日)以降の一定時間間隔の各時点で組織中濃度を調べた。腎臓、肝臓、皮膚、脂肪及び筋肉は~~燃焼分析及び~~LSC により総放射活性を測定し、脂肪中のナラシンは、バイオアッセイにより調べた。

投与開始 4 日後に組織中濃度が定常状態となった。ナラシンに相当する総放射活性は、肝臓、脂肪、皮膚、腎臓、筋肉の順で高く、それぞれ 0.50、0.27、0.16、0.13 及び 0.01 mg/kg であった。残留濃度に明らかな性差はなかった。脂肪中の総放射活性の約半分がナラシンであった。(参照 3:FAS2.1.1.(b)Distribution p135-136)

鶏(合計 25 羽)を用いて表 1 のとおり  $^{14}\text{C}$ -ナラシンの経口又は混餌投与試験を計 4 試験実施し、最終投与後の組織中放射活性について検討された。

いずれの試験においても、組織中放射活性は肝臓>脂肪>皮膚>腎臓>筋肉の順に高かった。組織中放射活性は速やかに消失し、残留濃度に性差はみられなかった。胆汁が  $^{14}\text{C}$  の排出経路と考えられた。

表 1 鶏における  $^{14}\text{C}$ -ナラシンの組織中残留消失試験

試験	投与方法	投与量	投与期間
試験 1	経口 (カプセル投与)	80 ppm 相当量	2 又は 2.5 日間
試験 2		80 ppm 相当量	2 又は 2.5 日間
試験 3		100 ppm 相当量	2.5 又は 5 日間
試験 4	混餌	100 ppm	5 日間

試験 1 及び 2 では、組織中放射活性は最終投与 4 時間後で肝臓 : 0.50 mg/kg 以下、脂肪 : 0.22 mg/kg 以下、腎臓 : 0.11 mg/kg 以下で、最終投与 1 日後には肝臓及び脂肪で約 0.1 mg/kg 以下、腎臓は検出限界以下であった。筋肉はいずれの時点においても検出限界以下であった。

試験 3 で投与期間による組織残留性の違いを検討した結果、両投与期間の残留濃度に有意差は認められなかったが、5 日間投与群の平均値の方が高かった。

試験 4 では、平均組織中平均放射活性は、最終投与 0 日後で腎臓 : 0.159 mg/kg、脂肪 : 0.488 mg/kg 及び肝臓 : 0.743 mg/kg で、筋肉からは検出されなかった。最終投与 2 日後の組織中残留は大幅に減少した。~~平均ナラシン濃度~~組織中平均ナラシン放射活性は、最終投与 0 日後で肝臓 : 0.037 mg/kg、脂肪 : 0.235 mg/kg で、それぞれ総放射活性に対して肝臓での約 5 %、脂肪で及び約 50 %であった。(参照 65;抄録 資料番号 41 p14-15)

1  
2 代謝試験で、ナラシン及びナラシン B の水酸化代謝物が鶏の排泄物中に検出された。  
3 これらの代謝物の大部分はナラシン及びナラシン B の 2 又は 3-水酸化物であった。  
4 LC-MS により、鶏排泄物中に 15 種類までの水酸化代謝物が検出された。肝臓中のクロ  
5 マトグラフの分布及び相対的放射活性は排泄物中と同じ同様であり、肝臓中代謝物は排  
6 泄物中代謝物と同じ同様であることを示している。体薬 0 日最終投与 0 日の結合型残留  
7 物は肝臓中残留物のほぼ 1/3 であった。脂肪では、放射活性は主に未変化体にみられ、  
8 結合型残留物は総残留物の 12 %未満であった。皮膚/脂肪、筋肉及び腎臓中残留物は濃  
9 度が低すぎて代謝物の同定ができなかった。(参照 3; FAS2.1.2.Biotransformation p138)

10  
11 鶏(性別及び羽数不明)に  $^{14}\text{C}$ -ナラシンを 5 日間混餌投与(100 ppm)し、排泄物中  
12 のナラシン代謝物を分離及び同定した。

13 未変化体が排泄物中全放射活性の約 30 %を占め、主要成分であった。別の 25 %に 7  
14 種類の代謝物が含まれることが、抽出、分離及び質量分析により確認された。4 種類の  
15 代謝物は 2-水酸化ナラシンで、2 種類が 3-水酸化ナラシンの異性体であり、この水酸化  
16 が主要代謝経路であった。数多くの残りの代謝物に放射活性があったが、それぞれ全体  
17 の 10 %未満であった。(参照 4; EFSA Journal 3.4 Metabolism Studies p18/44)

18  
19 鶏に  $^{14}\text{C}$ -ナラシンを 5 日間混餌投与(80 ppm)し、最終投与当日に排泄物中のナラ  
20 シン及びその代謝物の分析が実施された。

21 未変化体は全放射活性の 5 %を占め、6 種類の代謝物が同定された。2 種類が既知の  
22 3-水酸化ナラシンで総放射活性の約 14 %を占めた。4 種類が 2-水酸化ナラシンで 14 %  
23 を占めた。他に微量(10 %以下)の代謝物が分離されたが同定されなかった。(参照  
24 4; EFSA Journal 3.4 Metabolism Studies p18/44)

25  
26 鶏に  $^{14}\text{C}$ -ナラシンを 5 日間混餌投与(50 ppm)し、休薬 0 日に排泄物の分析が実施  
27 された。

28 未変化体は排泄された総放射活性の 3 %を占めた。15 種類の代謝物中ナラシン A 及  
29 び B の 2 及び 3-水酸化物並びに 4-水酸化ナラシン A が主要成分であり、総放射活性の  
30 約 50 %であった。残りは多くの微量成分で、同定されなかった。組織では、肝臓中放  
31 射活性が最高濃度を示し、75 %まで抽出可能であった。しかしながら、ナラシン代謝物  
32 は精製後少量しか得られなかったために同定できなかった。脂肪中の放射活性が分析さ  
33 れ、大部分が未変化体(61 %)であった。(参照 4; EFSA Journal 3.4 Metabolism Studies p18/44)

34  
35 成鶏(雌雄各 10 羽)に  $^{14}\text{C}$ -ナラシンを 5 日間混餌投与(71 ppm)し、最終投与 6  
36 時間後に肝臓及び排泄物について分析された。

37 ~~ナラシン及び代謝物が肝臓及び排泄物(総放射活性のそれぞれ 49 及び 96 %)から肝~~  
38 ~~臓及び排泄物から総放射活性のそれぞれ 49 及び 96 %に当たるナラシン±及び代謝物が~~  
39 抽出され、LC-MS により分離同定された。その結果、肝臓及び排泄物から 1 種類の 2-  
40 水酸化ナラシン、2 種類の 3-水酸化ナラシンが確認された。ナラシンは排泄物中総放射

1 活性の 1%未満であったが、3 種類の 9-ケト 3-水酸化ナラシンが主要代謝物であった（総  
2 計 49%で、最大のものは 34%）。（参照 4:EFSA Journal 3.4 Metabolism Studies p18~19/44）

3  
4 <sup>14</sup>C-ナラシン（100 ppm）が混餌投与された鶏の糞から 6 種類の標識ナラシン~~の~~代謝  
5 物が単離された。糞から代謝物を溶媒抽出し、各種クロマトグラフで精製後、質量分析  
6 によって代謝物を同定した。代謝物は分子環の種々の位置が水酸基と置換したもので、  
7 鶏における主な代謝機序はナラシンの水酸化であることが確認された（表 2）。6 種類の  
8 代謝物について、ナラシンとの相対的抗菌活性を検討したが、活性はナラシンの 1/20  
9 で、実質的に不活性と判断された。（参照 65:抄録 資料番号 40 p14）

10  
11 表 2 鶏におけるナラシンの代謝物

代謝物	TLC-Rf 値	分子量	構造
NM1	.26	818	2-水酸化ナラシン A, E 環の水酸化
NM2	.42	834	3-水酸化ナラシン A, B, E 環の水酸化
NM3	.50	818	2-水酸化ナラシン A, B 環の水酸化
NM4	.30	818	2-水酸化ナラシン A, E 環の水酸化
NM5 <sup>a)</sup>	~.30		
NM6	.76	818	2-水酸化ナラシン B, E 環の水酸化
NM7	~.27	834	3-水酸化ナラシン A, B, E 環の水酸化

12 a) NM5 は分析必要量が得られず、未検討。

13  
14 鶏（ブロイラー、8 週齢）に <sup>14</sup>C-ナラシンを 7 日間混餌投与（80 ppm）し、投与 4  
15 ~7 日後の糞中未変化体量、<sup>14</sup>C-ナラシンに対する相対比及び主要標識代謝物割合が調  
16 べられた。

17 糞中の総放射活性は <sup>14</sup>C-ナラシン当量で 237 ppm、未変化体は 11.8 ppm で、糞中放  
18 射活性の 5.0%に相当した。ナラシンの代謝物として、NM-1+NM-7（2.9%）、NM-2  
19（11.3%）、NM-3（5.3%）、NM-4+NM-5（4.6%）及び NM-6（1.7%）が存在した。  
20 これら以外の非ナラシン放射活性は多くの少量代謝物から構成され、含有割合はいずれ  
21 も小さかった。<sup>14</sup>C-ナラシンの約 95%は代謝された。（参照 65:抄録 資料番号 39 p14）

22  
23 鶏（ブロイラー、8 週齢、4 羽）にナラシンを混餌投与（80 ppm）した後 <sup>14</sup>C-ナラシ  
24 ンを単回経口投与（総投与量は平均ナラシン摂取量相当）した。回収された放射活性の  
25 85%以上が投与 2 日以内に排泄された。3/4 例で総回収率が 90~114%、平均 99%で  
26 あった。1/4 例では糞中の回収率が不完全であったことから、回収率は低かった（66%）。

27（参照 3:FAS2.1.1.(c)Excretion p137）

### 28 29 (3) 薬物動態試験（牛）

30 牛（去勢雄 2 頭及び未経産雌 1 頭/群）に <sup>14</sup>C-ナラシンを 3、5 又は 7 日間経口投与（飼  
31 料中 20 ppm 相当量、ゼラチンカプセル投与）し、各最終投与約 12 時間後（実質上の  
32 休薬 0 日）の組織中濃度が測定された。

33 最高放射活性（ナラシン相当量）は肝臓でみられた。投与 7 日後、肝臓中の未変化体  
34 は総放射活性の 6.5~12%であった。（参照 3:FAS 2.1.1.(a)Absorption p135）



1  
2 肥育牛（ヘレフォード種、去勢雄 2 頭及び未経産雌 1 頭/群）に  $^{14}\text{C}$ -ナラシンを 3、5  
3 又は 7 日間経口投与（飼料中約 20 ppm 相当量/頭/日（最高推奨用量の 1.5 倍の総 1 日投  
4 与量）、ゼラチンカプセルを用いて 1 日 2 回投与）した。被験動物は各最終投与 12 時間  
5 後（休薬 0 日）に筋肉、腎臓、肝臓及び背部脂肪について放射活性を測定した。7 日間  
6 投与群の全動物の肝臓中ナラシンを TLC-バイオオートグラフ法で調べた。

7 牛組織中放射活性は投与 3 日以内に定常状態に達した。肝臓中に最大の総放射活性  
8 （ナラシン相当量）がみられ、投与 3、5 及び 7 日後では、それぞれ 0.918、0.739 及び  
9 0.839 mg/kg であった。未変化体は肝臓中総放射活性の約 6.5～12% を占めたが、他  
10 の組織中には痕跡程度がみられた。投与 3、5 及び 7 日後の組織中平均残留は、平均値  
11 の一元配置の分散分析（ANOVA）により統計学的な差はなかった。去勢雄及び未経産  
12 雌のナラシンの代謝は全投与期間にわたり質的に同様であった。（参照 3:FAS2.1.1.(b)

13 Distribution p136)

14  
15 牛（ヘレフォード種、未経産雌 2 頭）に代謝ケージ内で  $^{14}\text{C}$ -ナラシンをゼラチンカプ  
16 セルで単回ボーラス投与（79.2 mg/頭/日）した。24 時間毎に尿及び糞を採取し、放射  
17 活性を分析した。

18 総糞中放射活性の 98.0% までが投与後 4 日以内に排泄された。尿中からは投与され  
19 た放射活性の 0.5% 未満が回収された。標識ナラシンの総放射活性回収率は、2 頭それ  
20 ぞれ 93.4 及び 80.1% であった。牛では、 $^{14}\text{C}$ -ナラシンは迅速に排泄され、ほとんど糞  
21 中に排泄されると考えられた。（参照 3:FAS2.1.1.(c)Excretion p138)

#### 22 23 (4) 薬物動態試験（豚）

24 豚（交雑種、雌雄各 2 頭/群/時点）に  $^{14}\text{C}$ -ナラシンを 7 日間混餌投与（30 及び 45 ppm）  
25 し、30 ppm 群では最終投与 0 及び 3 日後、45 ppm 群では最終投与 0 日後に可食組織  
26 （肝臓、腎臓、筋肉、脂肪及び皮膚）について総放射活性の分析が行われた。

27 全投与群で肝臓中濃度が最大であった。45 ppm 群では、最終投与 0 日後の平均肝臓  
28 中濃度は 1.48 mg/kg であった。30 ppm 群では、最終投与 0 日後で平均肝臓中濃度は  
29 0.75 mg/kg であり、最終投与 3 日後では 0.17 mg/kg に低下した。肝臓からメタノール  
30 で抽出される放射活性は、30 及び 45 ppm 群の最終投与 0 日後でそれぞれ 56 及び 59%  
31 （いずれも n=2）であった。この結果は最終投与 0 日後の抽出可能な残留物の割合に濃  
32 度依存的な差がないことを示している。30 ppm 群では、最終投与 3 日後の抽出不可能  
33 な肝臓中放射活性は最終投与 0 日後の 22% であった。（参照 3:FAS2.1.1.(b)Distribution  
34 p136-137)

35  
36 豚（4 頭/群）に、 $^{14}\text{C}$ -ナラシンを 7 日間混餌投与（30 及び 45 ppm）した。30 ppm  
37 群では最終投与 0（第 1 群）及び 3 日後（第 2 群）、45 ppm 群では最終投与 0 日後（第  
38 3 群）に肝臓、腎臓、筋肉、脂肪、皮膚及び胆汁の総放射活性を可溶化及びシンチレー  
39 ションカウンタにより測定した。試験期間中、尿及び糞は毎日採取された。

1 肝臓、胆汁及び糞中の代謝物は酸化及び水酸化代謝物であることが判明した。肝臓中  
 2 で最も多い代謝物は 2-水酸化ナラシン B 代謝物 (N-4) であり、第 1 及び 3 群の糞中  
 3 にも最も多い代謝物の一つであった。3-水酸化ナラシン代謝物 (N-1) は第 1 群の糞中並  
 4 びに第 1 及び 3 群の肝臓中에서도検出され、3-水酸化ナラシン B と共に溶出された。もう  
 5 一つの 3-水酸化ナラシン代謝物 (N-2) は第 1 及び 3 群の糞中から検出されたが、肝臓  
 6 中にはみられなかった。3-水酸化ナラシン B 代謝物 (N-3) は第 1 及び 3 群の糞と肝臓  
 7 中から検出されたが、他のピークと共に溶出された。2-水酸化ナラシン B 代謝物 (N-5)  
 8 は第 1 及び 3 群の肝臓及び糞中にみられた。2-水酸化ナラシン (N-6) は第 1 及び 3 群  
 9 の糞中からは検出されたが肝臓中にはみられなかった。もう一つの 2-水酸化ナラシン代  
 10 謝物 (N-7) が第 1 及び 3 群の肝臓及び糞中において検出された。胆汁中にも肝臓及び  
 11 糞中と同様の代謝物がみられたが、保持時間が異なり厳密には一致しなかった (表 3)。  
 12 (参照 3:FAS2.1.2.Biotransformation p139)

13  
14

表 3 肝臓及び糞中のナラシンの代謝物の分布状況

群 (投与量、時点)	肝臓	糞
第 1 群 (30 mg/kg、最終投与 0 日後)	N-1、N-3、N-4、N-5、 N-7	N-2、N-3、N-4、N-5、 N-6、N-7
第 2 群 (30 mg/kg、最終投与 3 日後)	記載なし	記載なし
第 3 群 (45 mg/kg、最終投与 0 日後)	N-1、N-3、N-4、N-5、 N-7	N-1、N-2、N-3、N-4、 N-5、N-6、N-7

15

16 豚 (交雑種、雌雄各 2 頭/群/時点) に  $^{14}\text{C}$ -ナラシンを 7 日間混餌投与 (30 及び 45 ppm)  
 17 し、30 ppm 群では最終投与 0 日後、45 ppm 群では最終投与 0 及び 3 日後の排泄物中  
 18 放射活性について検討した。糞中からは総放射活性の大部分 (95~97%) が回収され  
 19 たが、尿中からは少量 (3~5%) であり、豚における主要排泄経路は糞中であると考  
 20 られた。(参照 3:FAS2.1.1.(c)Excretion p138)

21

## 22 (5) 薬物代謝比較試験

23

### 23 ① ラット及び鶏

24

$^{14}\text{C}$ -ナラシンが投与されたラット (Wistar 系、4 匹、経口投与：約 10 mg/kg 体重)  
 25 及び鶏 (ブロイラー、4 羽、混餌投与：80 ppm) の糞中代謝物を比較した。

26

その結果、2 動物種間で質的には同様であったが量的にはいくらかの違いがみられた。  
 27 最も多量にみられた代謝物は NM-1、NM-2 及び NM-3 の 3 種類であった。ラット糞中  
 28 ではこれらの代謝物は糞中総放射活性のそれぞれ約 4、19 及び 10% であった。鶏の排  
 29 泄物中では、それぞれ 7、4 及び 3% であった。鶏排泄物から分離された NM-3 は、質  
 30 量分析により暫定的に 2-水酸化ナラシンのナトリウム塩と同定された。鶏及びラットの  
 31 排泄物中には、他に相対量が 3% を超える代謝物はなかった。

32

$^{14}\text{C}$ -ナラシンを混餌投与された鶏 (4 羽) の肝臓中に多くの標識代謝物が存在してい

1 たが、肝臓中総放射活性の 5% を超えるものはなかった。量的に最も多い化合物は  $^{14}\text{C}$ -  
2 未変化体であり、総放射活性の約 8.8% であった。肝臓中代謝物は鶏及びラットの排泄  
3 物中のそれと質的に同じであった。TLC を用いて排泄物中の代謝物と比較することに  
4 より NM-1、NM-2 及び NM-3 が同定された。(参照 3:FAS2.1.1.(c)Excretion p137-138)

## 6 ② 薬物代謝比較試験 (ラット、イヌ及び牛)

7 牛、イヌ及びラットに  $^{14}\text{C}$ -ナラシンを 7 日間経口投与し、代謝物を比較した。肝臓及  
8 び糞から抽出された放射活性残留物を溶媒分別、シリカゲルクロマトグラフ及び TLC  
9 により分画した。

10 3 動物種ともに複数の代謝物が存在し、糞抽出物は 20 種類以上の放射活性代謝物を  
11 含有していたが、特定の代謝物が総放射活性の大部分を占めることはなかった。

12 カラム溶出プロファイルと TLC オートラジオグラフの比較から代謝物パターンはラ  
13 ット、イヌ及び牛間で質的には同じであるが量的な違いがみられた。ラット及び鶏です  
14 すでに同定された 8 種類の 2 又は 3-水酸化ナラシン代謝物に加え、牛の糞及び肝臓からは  
15 さらに 2 種類の代謝物が分離された。これらは NM-12 及び NM-13 であり、それぞれ  
16 1 及び 2-水酸化代謝物と同定された。両代謝物はともにラット及びイヌで生じており、  
17 牛では最も一般的であった。牛肝臓中の放射活性の定量的分画化から NM-12 が最も多  
18 く (約 16%)、NM-3 及び NM-6 はともに 2-水酸化誘導体で総量の約 4% を占めること  
19 が判明した。肝臓中放射活性の残量は微量の数種類の代謝物で構成され、約 10% の非  
20 抽出性放射活性と 10~15% の極性残留物であった。肝臓中残留のごく少量 (<3%)  
21 が未変化体であった。

22 本比較試験結果から、ラット、イヌ及び牛ではナラシンの経口投与により同じ代謝物  
23 が生じると考えられた。(参照 3:FAS2.1.2.Biotransformation p139)

## 24 (6) 代謝物の生物活性

25 ラット肝ミトコンドリアにおいて、バリノマイシン、モナヅマイシン及びアルカリ性  
26 金属カチオン添加により誘導された ATPase 又は ATP の加水分解がナラシンにより減  
27 弱したという知見に続き、ナラシン代謝物のラット肝ミトコンドリアにおける ATPase  
28 と酸素吸収についての作用が明らかにされた。より最近の試験において、代謝物 F (2-  
29 水酸化ナラシン)、NM-3、NM-2 並びに NM-6 及び NM-3 の混合物という 4 種類の代  
30 謝物が検出された。4 種類のナラシン代謝物はラット肝ミトコンドリアにおいてリンゴ  
31 酸及びグルタミン酸の酸化における ATPase 活性及び酸素吸収率に対し比較的弱い作  
32 用を示した。4 種類の代謝物は、わずかなラナシンの 1/215 以下のイオノフォア作用を示  
33 した。(参照 3:FAS2.1.2 p140~141)

## 34 2. 残留試験

### 35 (1) 残留試験 (鶏・5 日間投与①)

36 鶏 (雌雄各 10 羽/時点) に  $^{14}\text{C}$ -ナラシンを 5 日間混餌投与 (71 ppm) し、最終投与  
37 6 時間後の組織中残留を調べた。

その結果、平均組織中残留はナラシンとして、肝臓、腎臓、筋肉及び皮膚/脂肪でそれぞれ 0.272、0.068、<0.015 (定量限界) 及び 0.082 mg/kg であった。(参照 [54;EFSA Journal 3.5 Residues p19/44](#))

#### (2) 残留試験 (鶏・5 日間投与②)

肉用鶏 (6 週齢、雌雄各 4 羽/群) にナラシンを 5 日間混餌投与 (80 ppm) し、最終投与 0、6、12 及び 24 時間後に組織中ナラシンが HPLC を用いて測定された。

結果を表 4 に示した。

脂肪を除いてナラシンは速やかに組織から消失することが確かめられた。脂肪では最終投与 6 時間後でもまだ測定可能であり、最終投与 12 時間後に検出可能な個体もあった。(参照 [54;EFSA Journal 3.5 Residues p20/44](#))

表 4 鶏にナラシンを 5 日間混餌投与後の組織中残留 (mg/kg)

組織	投与後時間 (時間)			
	0	6	12	24
肝臓	<0.04* <sup>1</sup>	<0.01	<0.01	<0.01
筋肉	<0.01* <sup>2</sup>	<0.01	<0.01	<0.01
腎臓	<0.025* <sup>3</sup>	<0.01	<0.01	<0.01
脂肪/皮膚	0.059	<0.028* <sup>1</sup>	<0.025* <sup>3</sup>	<0.01

\*<sup>1</sup>: LOD 及び LOQ 未満のものが含まれる場合には、LOD 又は LOQ として計算した最大平均値

\*<sup>2</sup>: 検出限界 (LOD) = 0.01 mg/kg

\*<sup>3</sup>: 定量限界 (LOQ) = 0.025 mg/kg

#### (3) 残留試験 (鶏・5 日間投与③)

鶏 (約 8 週齢、3 羽/時点) に <sup>14</sup>C-ナラシンを 5 日間混餌投与 (80 ppm) し、最終投与 0、1 及び 3 日後に組織中放射活性を測定した。

その結果、放射活性は肝臓で最も高く、筋肉で最も低かった。最終投与 3 日後に、肝臓 (0.065 mg/kg) を除き全組織でナラシンとして <0.025 mg/kg となった。(参照 [76;TRS Residue evaluation p80](#))

#### (4) 残留試験 (鶏・5 日間投与④)

鶏 (約 8 週齢、15 羽) に <sup>14</sup>C-ナラシンを 5 日間混餌投与 (100 ppm) し、肝臓、腎臓、脂肪、筋肉及び皮膚を採取し、残留性について調べた。

最終投与 0 日後時間後における組織中残留は、肝臓、脂肪、皮膚、腎臓及び筋肉でそれぞれ 0.45、0.21、0.14、0.14 及び 0.02 mg/kg であった。時間とともに放射活性残留は全組織で速やかに減少し、最終投与 1 日後には 50 % 以上が減少し、肝臓 (0.18 mg/kg) を除き全組織で <0.1 mg/kg となった。(参照 [76;TRS Residue evaluation p80](#))



1 (5) 残留試験 (鶏・5 日間投与⑤)

2 鶏 (ブロイラー、32 羽) にナラシンを 5 日間混餌投与 (80 ppm) し、最終投与 0、  
3 6、12 及び 24 時間後に組織中ナラシンが HPLC を用いて測定された (定量限界 : 0.025  
4 mg/kg、検出限界 : 0.0006 mg/kg)。

5 その結果、どの時点においても筋肉及び腎臓からはナラシンは検出されなかった。肝  
6 臓では、最終投与 6 時間後のみに、皮膚/脂肪では、最終投与 0 及び 6 時間後に検出さ  
7 れた。最終投与 12 時間後以降に残留は認められなかった。(参照 [76](#); TRS Residue evaluation  
8 p81)

9  
10 (6) 残留試験 (鶏・21 日間投与)

11 鶏 (ブロイラー、4 週齢) にナラシンを 21 日間混餌投与 (8(1/10 量) 及び 0.8 ppm(1/100  
12 量)) し、バイオオートグラフ法により組織中残留が検討された。

13 その結果、両群ともに、最終投与 2 時間及び 1 日後の時点で、全例が検出限界 (0.025  
14 mg(力価)/L) 未満となった。(参照 [65](#);抄録 資料番号 8 p6)

15  
16 (7) 残留試験 (鶏・42 日間投与①)

17 初生雛 (ブロイラー) にナラシンを 42 日間混餌投与 (0、80(常用量) 及び 160 ppm(2  
18 倍量)) し、バイオオートグラフ法により組織中残留が検討された。

19 結果を表 5 に示した。

20 80 ppm 群では、投与期間中 (21 日齢) の皮膚、脂肪及び小腸に残留がみられたが、  
21 最終投与 3 日後には全組織が検出限界 (0.025 mg(力価)/L) 未満となった。160 ppm 群  
22 では、投与期間中 (21 日齢) の皮膚、脂肪、肝臓及び小腸に残留がみられたが、最終  
23 投与 3 日後には全組織が検出限界未満となった。(参照 [65](#);抄録 資料番号 6 p6、7)

1 表 5 ブロイラーにおけるナラシンの混餌投与後の残留性① (mg(力価)/L)

混餌濃度 (ppm)	組織	最終投与後時間				
		投与期間中*	2 時間	1 日	3 日	5 日
80	血漿	<0.025	<0.025	<0.025		
	皮膚	0.134	0.036	0.026~<0.025	<0.025	<0.025
	脂肪	0.127	0.091	<0.025	<0.025	
	筋肉	<0.025	<0.025	<0.025		
	肝臓	<0.025	<0.025	<0.025		
	腎臓	<0.025	<0.025	<0.025		
	小腸	0.041	<0.025	<0.025	<0.025	
160	血漿	<0.025	<0.025	<0.025		
	皮膚	0.443	0.083	0.032~<0.025	<0.025	<0.025
	脂肪	0.204	0.159	<0.025	<0.025	
	筋肉	<0.025	<0.025	<0.025		
	肝臓	0.029~<0.025	<0.025	<0.025		
	腎臓	<0.025	<0.025	<0.025		
	小腸	0.068	0.045~<0.025	<0.025	<0.025	

\*投与期間中：21 日齢

検出限界：0.025 mg(力価)/L

2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23

## 1 (8) 残留試験 (鶏・42 日間投与②)

2 (7) と同様、初生雛 (ブロイラー) にナラシンを 42 日間混餌投与 (0、80(常用量)  
3 及び 160 ppm(2 倍量)) し、バイオオートグラフ法により組織中残留が検討された。

4 結果を表 6 に示した。

5 80 ppm 群では、投与期間中 (21 日齢) 及び最終投与 2 時間後の皮膚及び脂肪に残留  
6 が認められたが、最終投与 1 日後には全組織が検出限界 (0.025 mg(力価)/L) 未満とな  
7 った。160 ppm 群では、投与期間中 (21 日齢) の血漿、皮膚、脂肪、肝臓及び小腸に  
8 残留が認められたが、最終投与 3 日後には全組織が検出限界未満となった。(参照 65抄  
9 録 資料番号 7 p6、7)

11 表 6 ブロイラーにおけるナラシンの混餌投与後の残留性② (mg(力価)/L)

混餌濃度 (ppm)	組織	最終投与後時間				
		投与期間中*	2 時間	1 日	3 日	5 日
80	血漿	<0.025	<0.025	<0.025	/	/
	皮膚	0.055	0.037	<0.025	<0.025	<0.025
	脂肪	0.104	0.097	<0.025	<0.025	/
	筋肉	<0.025	<0.025	<0.025	/	/
	肝臓	<0.025	<0.025	<0.025	/	/
	腎臓	<0.025	<0.025	<0.025	/	/
	小腸	<0.025	<0.025	<0.025	<0.025	/
160	血漿	0.027~<0.025	<0.025	<0.025	/	/
	皮膚	0.121	0.061	0.036~<0.025	<0.025	<0.025
	脂肪	0.337	0.118	<0.025	<0.025	/
	筋肉	<0.025	<0.025	<0.025	/	/
	肝臓	0.028	<0.025	<0.025	/	/
	腎臓	<0.025	<0.025	<0.025	/	/
	小腸	0.076	0.031~<0.025	<0.025	<0.025	/

12 \*投与期間中：21 日齢

12 検出限界：0.025 mg(力価)/L

## 13 14 (9) 残留試験 (鶏・42 日間投与③)

15 鶏 (ブロイラー、9 羽/時点) にナラシンを 42 日間混餌投与 (80 及び 160 ppm) し、  
16 最終投与 2、24、72、120 及び 168 時間後にバイオオートグラフ法により組織中残留が  
17 検討された (定量限界：0.025 mg/kg)。

18 その結果、80 ppm 群では、脂肪及び皮膚で最終投与 2 及び 24 時間後に定量された。  
19 筋肉、肝臓及び腎臓では、定量可能な残留はみられなかった。160 ppm 群では、皮膚  
20 で最終投与 24 時間後まで、脂肪で最終投与 2 時間後まで定量された。筋肉、肝臓及び  
21 腎臓では、どの時点においても定量可能な残留はみられなかった。(参照 76;TRS Residue  
22 evaluation p81)

## 1 (10) 残留試験 (鶏・45 日間投与)

2 鶏 (ブロイラー、80 羽) にナラシンを少なくとも 45 日間混餌投与 (80 ppm) し、  
3 最終投与 6、12、18 及び 28 時間後にバイオオートグラフ法により組織中残留が検討さ  
4 れた (定量限界 : 0.005 mg/kg)。

5 平均組織中残留濃度は、最終投与 6 時間後の  $0.0861 \pm 0.0506$  mg/kg (脂肪) 及び  
6  $0.0588 \pm 0.0149$  µg/kg (皮膚) から最終投与 28 時間後の  $0.0130 \pm 0.0095$  mg/kg (脂肪)  
7 及び  $0.0082 \pm 0.0026$  mg/kg (皮膚) の範囲であった。(参照 [76; TRS Residue evaluation p81](#))  
8

## 9 (11) 残留試験 (鶏卵)

10 産卵鶏にナラシンを 21 日間混餌投与 (8(1/10 量)及び 0.8 (1/100 量)ppm) し、最終  
11 投与 5 及び 7 日後のナラシンの卵移行について検討された。

12 その結果、0.8 ppm 群では、いずれの時点においても卵黄及び卵白中残留は検出限界  
13 (0.025 mg(力価)/L) 未満であった。8 ppm 群では、最終投与 5 日後の卵黄に検出限  
14 界値付近の残留が認められたものの、最終投与 7 日後には全例が検出限界未満となった。  
15 卵白中残留は全例が検出限界未満であった。(参照 [65;抄録 資料番号 9 p6](#))  
16

## 17 (12) 残留試験 (牛・5 日間投与)

18 牛 (ヘレフォード種、去勢雄 6 頭及び未経産雌 3 頭) に <sup>14</sup>C-ナラシンを 5 日間経口  
19 投与 (1 日総投与量の 13 ppm : 6.6 ppm 相当量をゼラチンカプセルで 2 回/日投与) し、  
20 最終投与 0 [時間](#)、1 及び 3 日後の組織中濃度が比較された。

21 肝臓中に放射活性の最高濃度がみられ、最終投与 0 [時間](#)、1 及び 3 日後にはそれぞれ  
22 ナラシンとして 0.492、0.233 及び 0.050 mg/kg (去勢雄 3 頭及び未経産雌 1 頭/時点)  
23 であった。肝臓中総放射活性の 5 %未満がナラシンであった。最終投与 1 日後では 1/3  
24 例の肝臓のみにナラシンが検出された。最終投与 3 日後では肝臓 3 例のいずれからもナ  
25 ラシンは検出されなかった。筋肉、脂肪及び腎臓では全て最終投与 0 [日後時間後](#)でも  
26 0.02 mg/kg 未満であった。(参照 [54; FAS2.1.1.\(b\) Distribution p136](#)、参照 [76; TRS Residue  
27 evaluation p79](#))  
28

## 29 (13) 残留試験 (牛・140 日間投与)

30 牛にナラシンを 140 日間混餌投与 (66 ppm : 150 mg/頭/日) し、組織中残留につい  
31 て TLC バイオオートグラフ法により検討された (検出限界 : 0.005 mg(力価)/kg)。残  
32 留は脂肪及び肝臓で最終投与 48 時間後までみられた (最終投与 0 時間後 :  $\leq 0.010 \sim$   
33  $0.020$  mg(力価)/kg、最終投与 24 及び 48 時間後 :  $\leq 0.005 \sim 0.010$  mg(力価)/kg)。筋肉  
34 では最終投与 0 時間後に  $< 0.005$  mg(力価)/kg で最終投与 24 時間後には残留はみられな  
35 かった。腎臓では、どの時点においても残留はみられなかった。(参照 [76; TRS Residue  
36 evaluation p80](#))  
37

## 38 (14) 残留試験 (豚・5 日間投与)

39 豚 (12 頭) に <sup>14</sup>C-ナラシンを 5 日間混餌投与 (37.5 ppm) し、TLC-バイオオートグ  
40 ラフ法により残留性について検討された。最終投与 0、24、48 及び 72 時間後の平均肝

1 臓中総残留は、それぞれ 0.51、0.44、0.26 及び 0.18 mg/kg であった。筋肉及び腎臓で  
2 は、最終投与 0 時間後に放射活性残留はみられず、脂肪では <0.05 mg(力価)/kg であっ  
3 た。(参照 [76](#);TRS Residue evaluation p80)

4  
5 (15) 残留試験 (豚・14 日間投与)

6 豚 (24 頭) にナラシンを 14 日間混餌投与 (0 及び 45 ppm) し、最終投与 12 及び  
7 24 時間後の組織中残留について HPLC により検討された (定量限界 : 0.025 mg/kg)。

8 その結果、どの時点においても定量限界以上の残留はみられなかった。(参照 [76](#);TRS  
9 Residue evaluation p80)

10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40

## 3. 遺伝毒性試験

ナラシンの遺伝毒性に関する各種 *in vitro* 及び *in vivo* 試験の結果を表 7 及び 8 に示した。

表 7 *in vitro* 試験

試験	対象	用量	結果
復帰突然変異試験 <sup>1)</sup> (参照 5;抄録 資料番号 30 p1211、参照 3;FAS 2.2.5)	<i>Salmonella typhimurium</i> C3076、D3052、G46、TA98、 TA1535、TA1537、TA1538、 TA100 <i>Escherichia coli</i> WP2、 WPuvrA	0.1~1,000 µg/plate (±S9) (濃度勾配プレート法) 又は 1、10、100、1,000 µg/mL (± S9)	陰性
	<i>Salmonella typhimurium</i> TA98、TA1535、TA1537、 TA1538、TA100	125~1,000 µg/plate (±S9)	陰性
染色体異常試験 <sup>2)</sup> (参照 5;抄録 資料番号 31 p1211)	チャイニーズハムスター肺 由来細胞	連続処理： 0.625~20 µg/mL (±S9) 24 又は 48 h <sup>+</sup> 短時間処理： 12.5~100 µg/mL (-S9) 50~200 µg/mL (+S9)	陰性
前進突然変異試験 <sup>3)</sup> (参照 5;抄録 資料番号 33 p132、参照 3;FAS 2.2.5)	マウスリンパ腫細胞 L5178Y TK+/-	0.1、0.5、1、2、3、4、5、 10 µg/mL (±S9)	陰性
不定期 DNA 修復合 成(UDS)試験 <sup>4)</sup> (参照 5;抄録 資料番号 32 p13、参照 3;FAS 2.2.5)	ラット肝細胞初代培養細胞	0.5~1,000 µmol/L 20 h <sup>+</sup>	陰性
		0.0005~1 µg/mL 20 h <sup>+</sup>	陰性

1) 陽性対照として MNNG(N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine)、STZ(Streptozotocin)及び  
2AAF(2-acetylaminofluorene)を使用。陽性対照では、用量相関性の突然変異を誘発した。

2) 陽性対照として MNNG 及び B[a]P(32,4-benzol[a]pyrene)を使用。陽性対照ではいずれの処理でも染色  
体異常を誘発した。

3) 陽性対照として EMS(ethylmethanesulfonate)及び 3MC(3-methylcholanthrene)を使用。陽性対照で  
は L5178Y TK -/- 変異体を誘発した。

4) 陽性対照として MNNG 及び 2AAF を使用。陽性対照では用量相関性の DNA 修復合成が観察された。

1 表 8 *in vivo* 試験

試験	対象	用量	結果
姉妹染色分体交換 (SCE)試験 (参照 3 ; FAS 2.2.5)	チャイニーズハムスター骨髄 細胞	1、5、10、15、20、25、30、 35、40、45、50 mg/kg 体重 19 h <sup>†</sup>	陰性

2

3 上記のとおり、*in vitro* 及び *in vivo* の遺伝毒性試験の結果はいずれも陰性であるこ  
4 とから、ナラ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。

5

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

19

20

21

22

23

24

25

26

27

28

29

30

31

32

33

34

35

## 1 4. 急性毒性試験

## 2 (1) 急性毒性試験 (マウス、ラット、ウサギ、鶏、ウズラ、豚及び馬)

3 ナラシンの各動物種における経口急性毒性試験の結果を表9に示した。(参照3;[FAS](#)  
4 [2.2.1 p142~143](#))

5

6 表9 各動物種におけるナラシンの経口LD<sub>50</sub>

動物種 (系統)	経口LD <sub>50</sub> ±SD (mg(力価)/kg体重)		投与ナラシン剤型
	雄	雌	
マウス (ICR)	22.8±2.9	36.7±4.3	精製物
マウス (ICR)	33 (30~37)	34 (30~39)	菌糸体
マウス (ICR)	15.8±2.6	16.7±2.1	菌糸体
ラット (Wistar)	40.8±4.0	33.8±6.0	精製物
ラット (Fischer344)	22 (19~26)	24 (21~27)	菌糸体
ラット (Fischer344)	31.6±3.06	44.3±5.78	菌糸体
ウサギ	15.5±3.9		精製物
鶏	87.7±16.4 89.1±24.1 80.1±14.3		力価の異なる3ロットを使用: 1,000、943.4、82.6 mg(力価)/g
鶏	54±19.7 40.2±22.6 75.5±8.5		力価の異なる3ロットを使用: 1,000、943.4、82.6 mg(力価)/g
鶏	24.9±5.7 53.9±11.6 42.9±8.5 43.3±5.0		力価の異なる4ロットを使用: 93.3、110、86.4、82.5 mg(力価)/g
鶏	51.6±27.02		菌糸体
ウズラ (Bobwhite)	73.96±9.15	70~100	菌糸体
	102.9 (46.6~227.5)		菌糸体
豚		6.9±1.88	菌糸体
馬	0.8		菌糸体

7

8 菌糸体又は精製ナラシンの経口及び静脈内投与による毒性~~徴候臨床症状~~はマウス、ラ  
9 ット及び鶏で同様であり、活動性低下、脚弱 (leg weakness) 及び運動失調が特徴的で  
10 あった。ウサギでは、10 mg(力価)/kg 体重の菌糸体ナラシンを経口投与しても毒性症  
11 状は生じなかった。同量を投与されたイヌでは投与 1 時間後に嘔吐が観察されたのみで  
12 あった。(参照 3;[FAS 2.2.1 p141](#))

13



1 ラット及びマウスでは、毒性徴候として活動性低下、脚弱、立ち直り反射の消失、呼  
 2 吸困難及び眼瞼下垂が観察された。ラットでは、下痢及び利尿も観察された。さらにラ  
 3 ットでは、純度 100 % のナラシンを静脈内投与した場合間代性痙攣を呈した。急性毒性  
 4 に被験物質の純度等の違いによる大きな差異はみられなかった。(参照 [54;EFSA Journal](#)  
 5 [4.1 Acute toxicity p21/44](#))

6  
 7 馬はポリエーテル系イオノフォア抗生物質の毒性影響の感受性が非常に高いことが  
 8 知られており、全被験動物種の中で最低の LD<sub>50</sub> (菌糸体ナラシン : 0.8 mg(力価)/kg 体  
 9 重) を示した。馬が示すナラシン 中毒の臨床症状の毒性徴候 は、食欲不振、頻脈、苦痛  
 10 の徴候、協調運動失調及び間欠的な多量発汗であった。腎臓、肝臓、肺、脾臓、胃、心  
 11 臓及び骨格筋の病理組織学的検査では心筋及び骨格筋に初期の 筋線維 変性及び壊死性  
 12 変化がみられた。(参照 [3;FAS 2.2.1 p141](#))

## 13 14 (2) 急性毒性試験 (マウス及びラット)

15 純度の異なるナラシン原体 (精製物及び菌糸体 : それぞれ純度 101.8 及び 13.2 %)  
 16 及び製剤 (10 及び 1 % 製剤) の経口急性毒性試験結果を表 10 にまとめた。

17 主要な一般症状は、自発運動の低下、呼吸深大化、腹臥姿勢、立毛、全身の筋弛緩等  
 18 であった。剖検では臓器に著変はみられなかった。

19  
20 表 10 マウス及びラットにおける純度の異なるナラシンの経口 LD<sub>50</sub>

ナラシン剤型	動物種	経口 LD <sub>50</sub> (mg/kg 体重)	
		雄	雌
精製物 (純度 101.8 %)	マウス	90 (63~121)	61 (52~71)
	ラット	81 (59~112)	75 (44~116)
菌糸体 (純度 13.2 %)	マウス	453 (352~589)	454 (387~534)
	ラット	420 (328~543)	470 (350~664)
10 % 製剤	マウス	654 (465~882)	500 (383~644)
	ラット	805 (585~1,338)	712 (468~1,004)
1 % 製剤	マウス	>2,000	
	ラット	>2,000	

21 (参照 [65;抄録 資料番号 10~20 p8](#))

## 22 23 5. 亜急性毒性試験

### 24 (1) 3ヶ月間亜急性毒性試験 (マウス①)

25 マウス (ICR 系、約 30 日齢、雌雄各 15 匹/群) を用いた菌糸体ナラシン (純度 4.3 %)  
 26 の 3ヶ月間混餌投与 (0、10、20 及び 40 ppm : 0、1.5、3 及び 6 mg(力価)/kg 体重/日)  
 27 による亜急性毒性試験が実施された。

28 眼科学的検査、血液学的検査、血液生化学的検査、臓器重量測定及び病理組織学的検  
 29 査を行った。

1 試験期間中、死亡はみられず、投与に起因する一般状態の変化及び体重への影響はみ  
2 られなかった。

3 定期的な眼科学的検査でも異常は認められなかった。

4 ~~投与による成長障害は観察されなかった。~~

5 血液学的検査では、全群とも正常値の範囲内であった。

6 血液生化学的検査では、40 ppm 群の雌雄で Cre が低下した。20 ppm 以上投与群の  
7 雄で T.Bil が低下し、雌では対照群に比べ有意に高かった。他の血液生化学的検査値は  
8 正常であり、投与に起因した肝障害がみられなかったために、これらの所見には毒性学  
9 的意義はないものとみなされた。

10  
11  
12  
13 臓器重量は対照群と同程度であった。

14 本試験で観察された剖検及び病理組織学的所見は本系統のマウスに通常みられるも  
15 のであり、投与によるものではなかった。

16 以上より、本試験における NOAEL は、本試験の最高用量である 40 ppm (6 mg(力  
17 価)/kg 体重/日) と考えられた。(参照 3:(FAS 2.2.2 (a) p143~144)

## 18 19 (2) 3 カ月間亜急性毒性試験 (マウス②)

20 マウス (ICR 系、約 27 日齢、雌雄各 15 匹/群) を用いた菌糸体ナラシン (純度 10.16 %)  
21 の 3 ヶ月間混餌投与 (0、60、80 及び 100 ppm : 0、9、12 及び 15 mg(力価)/kg 体重/  
22 日) による亜急性毒性試験が実施された。

23 眼科学的検査、血液学的検査、血液生化学的検査、臓器重量測定及び病理組織学的検  
24 査を行った。

25 試験期間中、死亡は 100 ppm 群の雄 1 例のみで、投与開始 57 日後に死亡した。死  
26 亡動物では亀頭包皮炎及び膀胱拡張がみられたが、1 例のみの事例であること及び生存  
27 した動物に同様の所見がみられなかったことから、死亡は偶発的であり投与に起因する  
28 ものではないと考えられた。

29 投与に起因する臨床症状はみられず、最終の眼科学的検査でも異常はみられなかった。

30 体重は、試験終了時に 80 及び 100 ppm 投与群の雄で、対照群に対しそれぞれ 26 及  
31 び 27 %減少した。100 ppm 群の雌では、対照群に比べ 14 %減少した。~~対照群との差か  
32 らこの体重減少は投与に起因する有害影響と考えられた。~~これらの平均体重減少は、投  
33 与開始 35 日後に初めて観察され試験期間中持続した。

34 血液学的検査では、各投与群の雄の数例及びいくつかの投与群の雌数例で血液濃縮が  
35 示唆されたが、脱水の程度を反映したものであり、投与に直接関連するものではないと  
36 考えられた。

37 血液生化学的検査では、60 ppm 群の雄 2~3 例で ALT が上昇したが、80 ppm 以上  
38 投与群ではみられないため、投与に起因するものではないと考えられた。

1 臓器重量では、100 ppm 群の精巣及び子宮の比重量が増加した。雄の精巣並びに雌  
2 の脾臓及び子宮を除き臓器重量は減少した。これらの所見は、体重減少に伴うものであ  
3 り、病理組織学的所見が伴わないため毒性学的意義はないと考えられた。

4 本試験における病理学的所見は本系統のマウスに通常みられるものであり投与によ  
5 るものではなかった。

6 以上より、本試験における毒性学的に意味のある唯一の変化は 80 ppm 以上投与群の  
7 雄及び 100 ppm 群の雌における対照群と比較した平均体重の減少であることから、本  
8 試験の NOAEL は、60 ppm (9 mg(力価)/kg 体重/日) と考えられた。(参照 3; FAS 2.2.2  
9 (a) p144~145)

### 11 (3) 3 カ月間亜急性毒性試験 (マウス③)

12 マウス (B6C3F1 系、5~6 週齢、雌雄各 15 匹/群) を用いた菌糸体ナラシン (純度  
13 15.12%) の 3 ヶ月間混餌投与 (0、10、20、40 及び 60 ppm) による亜急性毒性試験  
14 が実施され、一般症状、体重、血液学的検査、血液生化学的検査、剖検、臓器重量及び  
15 病理組織学的検査について検討した。

16 毒性学的に意義のある所見は、60 ppm 群の雄及び 40 ppm 以上投与群の雌における  
17 体重増加抑制であったが、被験物質の直接的影響と共に嗜好性の問題による摂餌量低下  
18 の影響も考えられた。

19 本試験における NOAEL は 20 ppm であると考えられた。(参照 65;抄録 資料番号 21 p8)

#### 21 専門委員コメント

22 摂餌量は減少しているのか?

### 25 (4) 3 ヶ月間亜急性毒性試験 (ラット①)

26 ラット (Wistar 系、28~35 日齢、雌雄各 15 匹/群) を用いた菌糸体ナラシン (純度  
27 4.3%) の 3 ヶ月間混餌投与 (0、15、30 及び 60 ppm : 雄で 0、1.1、2.2、4.7 mg(力  
28 価)/kg 体重/日に相当、雌で 0、1.1、2.6、5.7 mg(力価)/kg 体重/日に相当) による亜急  
29 性毒性試験が実施された。

30 眼科学的検査、血液学的検査、血液生化学的検査、臓器重量測定及び病理組織学的検  
31 査を行った。

32 試験期間中、死亡はみられず、投与に起因した臨床症状は観察されなかった。

33 試験終了時、対照群と比較した飼料食餌効率は 15 ppm 群の雌雄では同等か又はわず  
34 かに上昇し、60 ppm 群の雄では 21 %低下、30 及び 60 ppm 群の雌ではそれぞれ 16  
35 及び 46 %低下した。

#### 37 専門委員コメント

38 飼料効率、食餌効率、どちらの用語が適切かご確認お願いいたします。以下同。

1 体重は、60 ppm 群の雌雄で対照群と比較して増加抑制（雌雄それぞれ 40 及び 25 %）  
 2 がみられた。60 ppm 群の平均体重は、対照群と比較し雄で 18 %、雌で 21 %（統計学  
 3 的に有意： $P \leq 0.05$ ）減少した。~~これらの飼料効率、平均体重及び平均体重増加量は影  
 4 響の大きさから投与に起因した有害影響であるとみなされた。~~

#### 6 専門委員コメント

7 前後の試験では P 値の記載がありませんが、あわせるなら削除してもよいかと思  
 8 います。0.05 未満なのか以下なのか不統一のようにみえます。

10 血液学的検査では、投与群の雄の RBC、Ht 及び Hb が有意（ $P \leq 0.05$ ）に増加し、  
 11 ~~た。血液濃縮が示唆されたが、対照群及び全投与群の雄の数例で WBC が増加した。上  
 12 述した RBC の変化は血液濃縮と一致し、また影響を受けた雄の脱水の程度を反映した  
 13 ものであり状態が関与していると考えられ、雄のみの影響であることから投与とは直接  
 14 関連がないと考えられた。しかしながら、これらの測定値が用量相関的に増加している  
 15 こと及びより確実な結論を支持する他のデータ（骨髓検査、血清 Alb 濃度等）が得られ  
 16 ていないことから、投与の影響は完全には除外できないと考えられた。~~

17 血液生化学的検査では、15 ppm 群の雌 1 例に ALT の上昇、投与群の雌及び 30 ppm  
 18 群の雄で有意に高血糖値の上昇（ $P \leq 0.05$ ）及び投与群の雌雄で BUN の低下がみら  
 19 れた。これらの所見は、用量相関性がなく、試験施設での正常値の範囲内であり、投与  
 20 に関連した病理組織学的所見も認められないことから、投与に起因するものとは考えら  
 21 れなかった。

22 試験終了時の体重及び臓器重量データから、対照群と比較して 30 ppm 以上投与群の  
 23 雌雄で平均体重が減少し、投与の影響が示唆された（60 ppm 群の雌では統計学的に有  
 24 意： $P < 0.05$ ）。臓器重量では、60 ppm 群では精巣及び卵巣の比重量が対照群と比較して  
 25 増加し、~~た。対照群と比較し 60 ppm 群の雌では腎臓、心臓、脾臓、甲状腺及び副腎重  
 26 量が有意に高かった（ $P < 0.05$ ）。これらの変化は体重減少との関連が示唆され、投与に  
 27 関連した病変がみられなかったために、これらの変化には毒性学的意義はないと考えら  
 28 れた。~~

29 30 ppm 以上投与群における飼料食餌効率、平均体重及び平均体重増加に対する有害  
 30 作用影響に基づき、本試験の NOAEL は 15 ppm（1.1 mg/kg 体重/日）と考えられた。

31 （参照 3; FAS 2.2.2 (b) p145~146）

#### 33 (5) 3ヶ月間亜急性毒性試験（ラット②）

34 ラット（SD 系、雌雄各 10 匹/群）を用いた精製ナラシン（純度 99.3 %）の 91 日間  
 35 混餌投与（0、15、30 及び 60 ppm）による亜急性毒性試験が実施された。さらに別の  
 36 群（雌雄各 10 匹/群）を設け、菌糸体ナラシン（純度 12.3 %）を混餌投与（0 及び 60 ppm）  
 37 した。対照群には基礎飼料を、菌糸体投与のプラセボ群にはナラシンを除去した菌糸体  
 38 を投与した。

39 試験期間中、死亡はみられなかった。



1 一般状態では、精製ナラシン 60 ppm 群の雌 5 例並びに菌糸体ナラシン 60 ppm 群の  
2 雄 1 例及び雌 9 例に消瘦がみられた。

3 体重では、精製及び菌糸体ナラシン 60 ppm 群の雌雄に摂餌量低下を伴う増加抑制が  
4 みられ、菌糸体ナラシン投与群でより顕著であった。

5 眼科学的検査、尿検査並びに血液学的検査及び血液生化学的検査では、投与に起因す  
6 る影響はみられなかった。

7 臓器重量では、菌糸体ナラシン 60 ppm 群の雌で脳、肝臓、腎臓及び心臓の比重量が  
8 有意に増加した。この投与群の雄では心臓の比重量のみが有意に増加した。これらの変  
9 化は体重増加抑制によるものと考えられた。

10 剖検では、精製及び菌糸体ナラシン 60 ppm 群の大多数の動物に軽度の盲腸拡張が観  
11 察されたが、病理組織学的変化はみられなかった。この種の影響は、抗菌性物質の投与  
12 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、  
13 ヒトに対する毒性学的意義はないと考えられた。

14 病理組織学的検査では、精製ナラシン 60 ppm 群の雌各 1 例に横隔膜及び腓腹筋の限  
15 局性筋線維の局所的変性及び別の雌 1 例に腓腹筋の局所的変性が観察された。横隔膜の  
16 限局性筋線維変性局所的変性は菌糸体ナラシン 60 ppm 群の雄 1 例にもみられた。

17 本試験の NOAEL は、体重増加抑制、摂餌量低下及び臓器比重量の増加より精製ナ  
18 ラシンで 30 ppm (雌雄それぞれ 2.4 及び 2.1 mg/kg 体重/日) と考えられた。盲腸拡張  
19 はヒトに対する毒性学的意義はないとされ NOAEL 決定には考慮されなかった。菌糸  
20 体のプラセボ投与では毒性は認められなかった。この事実から、菌糸体ナラシンの毒性  
21 はナラシンによるものであることが確認された。(参照 [54:EFSA Journal 4.2.2 Repeated](#)  
22 [Dose Sub-Chronic toxicity :Rats p22/44](#))

## 24 (6) 3 ヶ月間亜急性毒性試験 (イヌ①)

25 イヌ (ビーグル種、13~16 ヶ月齢、雌雄各 4 匹/群) を用いた菌糸体ナラシン (純度  
26 4.3%) の 3 ヶ月間経口投与 (0、0.5、1.0 及び 2.0 mg(力価)/kg 体重/日、ゼラチンカプ  
27 セル投与) による亜急性毒性試験が実施された。一般状態、眼科学的検査、体重、血液  
28 学的検査、血液生化学的検査、骨髄検査、尿検査、臓器重量測定、剖検及び病理組織学  
29 的検査について検討した。心電図 (ECG) 検査を 2.0 mg(力価)/kg 体重/日群について一  
30 度だけ実施した。を行なった。

31 試験期間中死亡はみられなかった。

32 体重、血液学的検査、血液生化学的検査、骨髄細胞数、尿検査、臓器重量、剖検及び  
33 病理組織学検査において投与に起因する変化は観察されなかった。

34 一般状態では、2.0 mg(力価)/kg 体重/日群で投与開始後 3 週間に 4 例、3 ヶ月間にわ  
35 たり 1 例に脚弱及び非協調運動が観察された。

36 ECG 検査では、2.0 mg(力価)/kg 体重/日群の 6/8 例に明確な除脈 (心拍数減少) が  
37 みられ、正常から重度の洞性不整脈 (sino-arrhythmias) が見られた。このうち 3 例に  
38 は、洞停止 (sino-arrest) (T-R 間隔 > 1s) が観察された。2.0 mg(力価)/kg 体重/日群のほ  
39 とんだの被験動物には短い QRS 間隔の短縮及び深い S 波がみられた。1 例は正常な心  
40 拍を示したが、P 及び T 波が共に不規則 (振幅 0~1 mV 超) で波形が異常であった。

1 比較のための投与前の ECG がなく、心臓に組織学的な病変変化もなく、血液生化学的  
2 検査で大きな変化もみられなかったことから、この ECG の評価は困難であった。

3 以上より、2.0 mg(力価)/kg 体重/日群でみられた脚弱、運動失調及び ECG の異常所  
4 見により、本試験における NOAEL は 1.0 mg(力価)/kg 体重/日と考えられた。(参照 3;  
5 FAS 2.2.2 (c) p147~148)

### 7 (7) 3ヶ月間亜急性毒性試験 (イヌ②)

8 イヌ (ビーグル種、4ヶ月齢、雌雄各 4 匹/群) を用いた菌糸体ナラシン (純度 14.7%)  
9 の 3ヶ月間経口投与 (0、0.5、1.0 及び 2.0 mg(力価)/kg 体重/日、ゼラチンカプセル投  
10 与) による亜急性毒性試験が実施された。別の群 (雌雄各 4 匹/群) を設け、精製ナラ  
11 シン (純度 100%) を経口投与 (2.0 mg(力価)/kg 体重/日) した。精製ナラシン投与群  
12 は、2 回の投与後 2 日間投与を休止した。その後、投与量を 1.0 mg(力価)/kg 体重/日  
13 で投与を再開し、2.0 mg(力価)/kg 体重/日まで 2 週間毎に 0.5 mg(力価)/kg ずつ漸増し、  
14 試験終了時まで続けた。

15 ~~試験期間中に 2 例が死亡した。~~精製ナラシン投与群の雄 1 例が 2 mg(力価)/kg 体重/  
16 日投与の 2 日目に死亡したため、他の動物に代え入れ替えた。対照群の 1 例が横隔膜へ  
17 ルニアの合併症ので苦しんだため投与開始 67 日後に安楽死させた。

18 一般状態では、菌糸体ナラシン 2.0 mg(力価)/kg 体重/日群の 3/8 例及び精製ナラシン  
19 2.0 mg(力価)/kg 体重/日群の 7/9 例が脚弱の症状を示した。精製ナラシン 2.0 mg/kg 体  
20 重/日群で運動失調、横臥、努力性呼吸、流涎過多及び食欲不振などの毒性徴候症状が  
21 観察された。菌糸体ナラシン 1.0 m(力価)g/kg 体重/日群の 1 例に嘔吐が 1 回みられた。

22 体重は、精製及び菌糸体ナラシンの 2.0 mg/kg 体重/日群で対照群に比べてわずかな  
23 増加抑制がみられ、この群の断続的な摂餌量低下と関連していると考えられた。飼料食  
24 餌効率の変化はみられなかった。

25 眼科学的検査、ECG 検査、血液学的検査、血液生化学的検査及び尿検査に投与に起  
26 因する影響はみられなかった。

27 試験終了時、全例について臓器重量測定、剖検及び病理組織学的検査を実施した。精  
28 製ナラシン 2.0 mg(力価)/kg 体重/日群の雄で、腎臓の絶対重量が有意に低下し、菌糸体  
29 ナラシン 2.0 mg(力価)/kg 体重/日群の雄で心臓の比重量が有意に増加した。精製ナラシ  
30 ン 2.0 mg(力価)/kg 体重/日の第 2 回投与後に死亡した雄には、投与に起因する病理組織  
31 学的な変化はみられなかった。しかしながら、その代替動物に横隔膜及び他の骨格筋に  
32 軽度から中程度の局所的限局性筋線維変性が認められた。精製ナラシン 2.0 mg(力  
33 価)/kg 体重/日群の他の 2 例及び菌糸体ナラシン 2.0 mg(力価)/kg 体重/日群の 3 例に横  
34 隔膜を含む骨格筋に非常に軽微又は軽度の局所的限局性筋線維変性がみられた。精製ナ  
35 ラシン 2.0 mg(力価)/kg 体重/日群の 3 例及び菌糸体ナラシン 2.0 mg(力価)/kg 体重/日群  
36 の 1 例で筋肉内末梢神経に ~~2-3~~の軽微な軸索変性が筋線維損傷変性と関連してみられ  
37 た。変化の見られた動物では、筋線維の再生の方が変性より再生が顕著であった高頻度  
38 にみられた。心臓には、投与に起因する変化はみられなかった。

39 菌糸体ナラシン 1.0 mg(力価)/kg 体重/日群では、1 回の嘔吐を除き影響は観察されな  
40 かったことから、本試験の NOAEL は 1.0 mg(力価)/kg 体重/日と考えられた。本試験で

1 は、毒性徴候症状と病理組織学的検査から菌糸体ナラシンの有害毒性影響は精製ナラシ  
 2 ンより重篤ではないと考えられた。(参照 [54;EFSA Journal 4.2.3 Repeated Dose Sub-Chronic](#)  
 3 [toxicity :Dogs p23~24/44](#))

#### 5 (8) 6 ヶ月間亜急性毒性試験 (イヌ)

6 イヌ (ビーグル種、12~16 ヶ月齢、雌雄各 4 匹/群) を用いた菌糸体ナラシン (純度  
 7 8%) の 6 ヶ月間経口投与 (0、0.5、1.0 及び 1.5 mg(力価)/kg 体重/日、ゼラチンカプセル  
 8 ル投与) による亜急性毒性試験が実施された。一般状態、体重、眼科学的検査、血液学  
 9 的検査、血液生化学的検査、尿検査、骨髄検査、ECG 検査 (投与前、投与開始 2 時間  
 10 並びに 1、3 及び 6 ヶ月後)、臓器重量測定、剖検及び病理組織学的検査について検討し  
 11 た。

12 試験期間中、死亡はみられなかった。なく、体重、一般状態及び眼科学的検査に投与  
 13 に起因する影響はみられなかった。

14 血液学的検査及び血液生化学的検査では、いずれの測定値も正常値の範囲内であった。  
 15 り、尿検査及び骨髄検査でも投与に起因する変化はみられなかった。

16 ECG 検査では、1.5 mg(力価)/kg 体重/日群の雌 1 例のみに異常 (除脈、低振幅の R  
 17 波、T 波の上昇及び ST 部分の顕著な抑制) が投与開始 1 ヶ月後にみられた。これらの  
 18 所見は、別の前述のイヌを用いた 3 ヶ月間経口投与試験においても ECG に投与に関連  
 19 のある影響がみられたため、投与に起因するものとみなされた。しかし、この被験動物  
 20 の ECG の変化は、3 及び 6 か月後の検査では回復してみられず、認められず、可逆性  
 21 を示した。心臓の病理組織学的検査でも変化はみられなかった。

22 剖検及び病理組織学的検査で病変が散発性にみられたが、通常観察されるものであっ  
 23 た。

24 イヌを用いた 3 ヶ月間経口投与試験の ECG の異常及び本試験における 1.5 mg(力  
 25 価)/kg 体重/日群の雌 1 例の ECG の異常は投与に起因する影響と確認され考えられたこ  
 26 とから、本試験における NOAEL は 1.0 mg(力価)/kg 体重/日と考えられた。(参照 [3; FAS](#)  
 27 [2.2.2 \(c\) p148~149](#))

## 29 6. 対象動物を用いた安全性試験

### 30 (1) 安全性試験 (鶏①)

31 鶏 (チャンキー種、120 日齢、雌雄各 20 羽/群) を用いたナラシン (純度不明) の 6  
 32 週間混餌投与 (0、80(最高用量)及び 240 ppm(最高用量の 3 倍量)) による安全性試験  
 33 が実施された。最終投与後 1 週間の休薬期間が設定された。一般状態、体重、摂餌量及  
 34 び飼料効率により、投与の影響について検討した。また、最終投与当日及び最終投与 7  
 35 日後 (休薬 7 日後) に雌雄各 5 羽/群の剖検、臓器重量測定及び病理組織学的検査を実  
 36 施した。

37 80 ppm 群の雄 2 例及び雌 1 例、240 ppm 群の雄 1 及び雌 1 例並びに対照群の雌 1  
 38 例が死亡した。死因は、80 ppm 群では雄は循環不全及び腹水症、雌は不明、240 ppm  
 39 群では雄は循環不全、雌は腹水症、並びに対照群の雌は腹水症であった。

40 一般状態では、240 ppm 群の雌の死亡 3 日前に抑鬱、摂餌低下及び呼吸促迫がみら



1 れた。脚弱が 5 例（0、80 及び 240 ppm 群の雄でそれぞれ 2、1 及び 0 例、雌でそれぞ  
2 れ 1、0 及び 1 例）に観察された。対照群にもみられ、用量相関性がみられなかったこ  
3 とから、本試験において脚弱は投与の影響ではないと考えられた。

4 体重は、240 ppm 群の雌で摂餌量低下を伴う増加抑制がみられた。

5 血液学的検査では、投与群の雌雄とも変化はみられなかった。

6 血液生化学的検査では、240 ppm 群の雌で T.Chol 及び尿酸塩が最終投与当日に有意  
7 に高かったが、これらの変化は軽度であり、7 日間の休薬期間中に迅速に回復した。  
8 他の脂質及び糖質代謝に係る変化はみられなかった。

9 80 ppm 群の雄 1 例が試験早期に死亡したことから、本試験における NOAEL は設定  
10 できなかった。（参照 3;FAS2.2.3(c) p154~155）

## 11 (2) 安全性試験（鶏②）

12 鶏（ハバード×ホワイトマウンテン、1,590 日齢、雌雄各 53 羽/群）を用いたナラ  
13 シン（純度 10.6 %）の 49 日間混餌投与（0、70、80、120 及び 210 ppm）による安全  
14 性試験が実施された。最終投与後 3 日間の休薬期間が設定された。一般状態、体重、摂  
15 餌量、飼料効率、敷き床敷の湿り気、羽毛の状態、死亡鶏の剖検及びプロトンビン時  
16 間により投与の影響について検討した。また、最終投与当日に雌雄各 39 羽/群を剖検し、  
17 臓器重量測定及び病理組織学的検査を実施した。各群残り 5/13 例から採血し、血液学  
18 的検査及び血液生化学的検査を実施した。

19 試験期間中の 0、70、80、120 及び 210 ppm 群の死亡は、それぞれ 16、19、13、14  
20 及び 6 例で、各群のに差ははみられなかった。

21 毒性徴候は投与開始 3 週後にみられ、210 ppm 群の被験動物の成長体重増加が対照  
22 群及び 120 ppm 以下投与群に比べ抑制された。120 ppm 以上投与群では、摂餌量低下  
23 を伴う有意な体重増加抑制がみられた。

24 血液学的検査では、毒性学的に重要な影響はみられなかった。

25 血液生化学的検査では、雄の 210 ppm 群で AST の投与に起因する増加がみられた。

26 臓器重量では、210 ppm 群においての雌で対照群に比べて、雄の肝臓、腎臓及び心  
27 臓、並びに雌の腎臓の絶対重量が対照群に比べて有意に減少したが、病理組織学的変化  
28 はみられず、体重変化によるものと考えられた。

29 病理組織学的検査では、用量相関的なうっ血性心不全像が見られ（80、120 及び 210  
30 ppm 群でそれぞれ雄 1 例、雌雄各 1 例、雄 2 例及び雌 1 例）にみられ、発生頻度は低  
31 いものの対照群ではみられず、過去の試験でも発生したことから投与に起因する影響と  
32 考えられた。

33 以上より、投与に起因する悪毒性影響は 120 ppm 以上投与群にみられたが、限局し  
34 ていたがうっ血性心不全の可能性に基づき、本試験における NOAEL は 70 ppm と考  
35 えられた。（参照 3;FAS2.2.3(c) p154）



## 1 (3) 安全性試験 (鶏③)

2 鶏 (ハバード×ホワイトマウンテン、1,696 日齢、雌雄各 848 羽) を用いた菌糸体  
3 ナラシン (純度不明) の 8 週間混餌投与 (0、80、240 及び 400 ppm) による安全性試  
4 験が実施された。一般状態、死亡鶏の剖検及び病理組織学的検査、死亡率、プロトン  
5 ビン時間、体重、摂餌量、~~敷き床敷~~の状態並びに~~敷き床敷~~の羽毛の状態により投与の影響  
6 について検討した。

7 試験期間中、~~明らかに~~用量依存的に~~体重増加が明らかに被験動物の成長が~~抑制された。  
8 ~~投与に起因する死亡例の増加がみられた。~~80、240 及び 400 ppm の雌雄の死亡率は、  
9 それぞれ 1.4 及び 5 %、6.1 及び 10.4 %、並びに 18.9 及び 31.1 % であった。り、投与  
10 に起因する死亡例の増加がみられた。

11 一般状態では、240 ppm 群及び特に 400 ppm 群で活動性低下がみられ、これらの群  
12 では特に 400 ppm 群で羽毛も少なかった。

13 投与開始 4 日及び 8 週後のプロトンビン時間に変化はみられなかった。

14 体重は、投与開始 4 日にと殺された 240 及び 400 ppm 群の雌雄で用量依存的~~な~~に有  
15 意~~な~~に減少がみられたした (P<0.05)。投与開始 3 週後には 240 ppm 以上投与群の雌  
16 雄で有意な減少がみられた (P<0.05)。投与開始 8 週後には、全投与群の雌雄で対照群  
17 に比べて有意に減少した (P<0.05)。

18 摂餌量は、投与開始後 3 週間に投与群の雌及び 240 ppm 以上投与群の雄で有意に減  
19 少し (P<0.05)、投与終了までその傾向は続いた。

20 剖検では、死亡及びと殺鶏の体格が小さく、乾燥気味で悪液質であることが観察され  
21 た。

22 病理組織学的検査では、240 ppm 以上投与群に骨格筋の限局性~~筋線維~~変性及びうっ  
23 血性心不全像がみられた。80 ppm 群には投与に起因する変化はみられなかった。

24 以上より、全投与群で最終投与後に有意かつ用量依存的な体重減少がみられたことか  
25 ら、本試験における NOAEL は設定できなかった。(参照 3;FAS2.2.3(c) p153)

## 27 (4) 安全性試験 (牛)

28 子牛 (ヘレフォード及びヘレフォード交雑種、雌雄各 5 頭/群) を用いたナラシン (0、  
29 16.5 及び 50 ppm) 又はナラシン及びタイロシン配合剤 (それぞれ 50 及び 33 ppm) の  
30 154 日間混餌投与による安全性試験が実施された。一般状態及び体重増加により投与の  
31 影響について検討した。最終投与後に尿検査、剖検、臓器重量測定及び病理組織学的検  
32 査を実施した。

33 ナラシン 50 ppm 群の雄 1 例が投与開始 23 日後に死亡した。心臓、胸筋及び横隔膜  
34 の明らかな~~筋線維~~変性、肺の重篤なびまん性浮腫並びに肝臓の小葉中心性うっ血~~を考慮~~  
35 ~~するとがみられ~~、死因はうっ血性心不全で、おそらく投与に起因するものと考えられた。

36 投与群では対照群に比べて、体重増加量も多く、~~飼料効率~~も高かった

37 血液生化学的検査では、いくつかの検査値に有意差のある変化 (P<0.05) が見られ  
38 たが、用量依存性がなく発現の時期もさまざまであったため投与に関連があるものとは  
39 考えられなかった。Chol がナラシン/タイロシン群で投与開始 56 及び 112 日後に、全

1 投与群で投与終了時に対照群に比べて有意に増加したが、投与群の生産性向上を反映す  
2 るもので、毒性影響ではないと考えられた。

3 血液学的検査、尿検査、臓器重量及び死亡牛以外の病理組織学的検査では、投与に起  
4 因する変化はみられなかった。

5 以上より、50 ppm 群の雄 1 例の死亡が投与に関連する可能性があることから、本試  
6 験における NOAEL は 16.5 ppm と考えられた。(参照 3;FAS2.2.3(e) p156~157)

7

#### 8 (5) 安全性試験 (豚①)

9 肥育豚 (雌雄各 3 頭/群) を用いたナラシン (純度不明) の 63~65 日間混餌投与 (0、  
10 30、45 及び 60 ppm) による安全性試験が実施された。

11 試験期間中、投与に起因する死亡はみられず、どの検査項目でも投与に起因する毒性  
12 変化はみられなかった。

13 以上より、本試験における NOAEL は最高投与量である 60 ppm と考えられた。(参  
14 照 3;FAS2.2.3(d) p155~156)

15

#### 16 (6) 安全性試験 (豚②)

17 豚 (去勢雄及び雌各 21 頭/群) を用いたナラシンの 69~82 日間混餌投与 (0、25、  
18 75 及び 125 ppm) による安全性試験が実施された。一般状態、体重、摂餌量、血液学  
19 的検査、血液生化学的検査及び剖検について検討した。血液学的検査、血液生化学的検  
20 査及び剖検には雌雄各 2 頭/群を供した。

21 一般状態では、75 ppm 以上投与群で試験投与 8~14 日後に毒性所見として、食欲低  
22 下、呼吸困難、活動低下、嗜眠、起立又は歩行の意欲減退、脚弱、ナックリング、振戦、  
23 運動失調、跛行、横臥及び稀に痙攣がみられた。いずれの投与群でも明らかに投与に関  
24 連した一般状態及び剖検所見はみられなかった。

25 以上より、本試験における NOAEL は 25 ppm と考えられた。(参照 3;FAS2.2.3(d) p156)

26

### 27 7. 慢性毒性試験

#### 28 (1) 1 年間慢性毒性試験 (ラット)

29 ラット (Wistar 系、雌雄各 15 匹/群) を用いた菌糸体ナラシン (純度 8%) の 1 年  
30 間混餌投与 (0、7.5、15 及び 30 ppm : 雄で 0、0.49、1.0 及び 1.9 mg(力価)/kg 体重/  
31 日、雌で 0、0.57、1.2、3.2 mg(力価)/kg 体重/日に相当) による慢性毒性試験が実施さ  
32 れた。

33 試験期間中、計 8 例が死亡したが、いずれも投与に起因するものではなかった。

34 体重では、試験終了時に 30 ppm 群の雌で対照群と比較し投与に関連した平均体重の  
35 減少 (13%) が観察された。雄の平均体重は全投与群で対照群と同程度であった。

36 摂餌量では、大部分の群で影響はみられなかった。30 ppm 群の雌で投与開始第 1 週  
37 に平均摂餌量が有意に低下したが、投与開始第 1 週を除き、週間その後は平均摂餌量の  
38 有意な増加が観察された。投与開始第 1 週の週間摂餌量の低下は飼料の嗜好性によるも  
39 のと考えられた。平均摂餌量の増加は飼料のこぼしによるものであると考えられた。そ  
40 のことは、30 ppm 群の雌の投与開始第 1 週における平均摂餌量の有意な低下と平均体

1 ~~重の減少、その後ほとんどの週で週間平均摂餌量が有意に増加したことにより明らかで~~  
 2 ~~あった。飼料の嗜好性とこぼしによるものと考えられる週間平均摂餌量の有意でない増~~  
 3 ~~加が 15 ppm 群の雌にも観察されたが、平均体重への影響はなかった。15 及び 30 ppm~~  
 4 ~~群の雌で累積食餌飼料効率がそれぞれ対照群の 20 及び 29 %低下した。30 ppm 群の雌~~  
 5 ~~における平均体重と飼料効率及び 15 ppm 群の雌の飼料効率に対する影響は飼料の嗜好~~  
 6 ~~性による間接的な影響で毒性学的な関連はないと考えられた。~~

7 血液学的検査では、15 ppm 以上投与群の雌雄で数項目に統計学的に有意な変化が観  
 8 察されたが、全てわずかな変化であり、正常値の範囲内とみなされた。

9 血液生化学的検査では、7.5 ppm 群の雄及び 15 ppm 群の雌で対照群と比較し Glu  
 10 が有意に増加したが、散発性であり用量反応性がないために投与に起因するものではな  
 11 いと考えられた。15 ppm 以上投与群の雌でそれぞれ BUN 及び ALT の低下が観察され  
 12 たが、生物学的又は毒性学的意義はないと考えられた。

13 臓器重量では、雌の脾臓及び甲状腺重量に軽度で用量相関性のない変化が観察された  
 14 が、病理組織学的変化がみられなかったことから生物学的に重要な投与に起因する影響  
 15 とはみなされなかった。

16 剖検及び病理組織学的検査では、対照群と投与群の心筋及び骨格筋の病変の発生にバ  
 17 ラツキがみられたが、用量相関性はみられず加齢によるものと考えられた。いずれの投  
 18 与群にも下垂体、乳腺、リンパ節、甲状腺、副腎、腹膜及び皮下組織に**新生物腫瘍**が散  
 19 発的にみられたが、投与による発がん性の傾向を示すものではなかった。

20 以上より、NOAEL は、本試験における最高用量である 30 ppm (1.9 mg(力価)/kg  
 21 体重/日) と考えられた。(参照 3; FAS 2.2.2 (b) p146~147)

22  
 23 (事務局より)

24 EFSA では投与初期の一過性の体重増加抑制を毒性ととらえ、NOAEL を 15 ppm と  
 25 しています。JECFA では、この一過性の体重増加抑制と摂餌量、嗜好性についての考  
 26 察がなされて、毒性影響ではないとしていることから、JECFA の NOAEL を採用しま  
 27 した。

## 28 29 専門委員コメント

30 投与 1 週の摂餌量の一過性の減少は食餌忌避によるもので、毒性影響ではないこと  
 31 には同意いたします。しかし、雌では試験を通した累積飼料効率に減少がみられてい  
 32 ます。この所見はラットやマウスの 3 か月試験 (各 2 試験) の摂餌量と体重の低下に  
 33 も関連するもので、それらとの解釈の整合性を図る必要があるかもしれません。

## 34 35 36 37 (2) 1 年間慢性毒性試験 (イヌ)

38 イヌ (ビーグル種、5 ヶ月齢、雌雄各 4 匹/群) を用いた菌糸体ナラシン (純度 10.6 %)  
 39 の 1 年間経口投与 (0、0.5、1.0 及び 2.0 mg(力価)/kg 体重/日、ゼラチンカプセル投与)  
 40 による慢性毒性試験が実施された。追加の群 (雌雄各 4 匹/群) を設け、精製ナラシン

1 (2.0 mg(力価)/kg 体重/日) を投与し、イヌ (幼獣) における菌糸体及び精製ナラシン  
 2 による毒性を比較検討した。試験期間中、被験動物の毒性徴候について観察した。投与  
 3 前、中間時点及び又は試験終了後に、一般状態、神経学的検査、眼科学的検査、血液  
 4 学的検査、血液生化学的検査、ECG 検査、骨髄検査、尿検査、体重及び摂餌量につい  
 5 て検討した。臓器重量測定、剖検及び病理組織学的検査も実施した。

6 菌糸体ナラシン 2.0 mg(力価)/kg 体重/日群の雄 1 例が瀕死状態になり投与開始 13 日  
 7 に安楽死させた。この個体は死亡前に食欲不振、流涎過多、努力性呼吸及び横伏を示し  
 8 た。臨床症状毒性徴候及び心臓における病理組織学的所見から本動物の瀕死状態は投与  
 9 に起因するものであることが示唆された。

10 菌糸体ナラシン 2.0 mg(力価)/kg 体重/日群の生残動物にみられた投与による影響は、  
 11 ~~わずかに認識可能な~~軽度なものから重度の脚弱 (雄 2 例及び雌 1 例で起立不能) 及び流  
 12 涎過多であった。試験終了時、全例に両側性の膝蓋腱反射消失又は阻害が観察された。  
 13 頻度は低いものの痙攣又は強直性痙攣 (雄 2 例及び雌 1 例で投与開始 5、8 及び 9 ヶ月  
 14 後に観察された。)、両側性の手根骨脱落 (dropped carpus) (雌雄各 1 例)、一過性の振  
 15 戦、摂餌量低下、自発運動の抑制及び努力性呼吸がみられた。試験投与期間終了時、全  
 16 例で肩及び大腿筋の筋緊張消失が観察された。

17 精製ナラシン 2.0 mg(力価)/kg 体重/日群における毒性症状徴候は、発生率又は重症度  
 18 がより低く、脚弱、運動失調、流涎過多、食欲低下及び努力性呼吸がみられた。精製ナ  
 19 ラシン投与群で起立不能は見られなかったが、1 例は投与 9 ヶ月目の 1 日だけ動こうと  
 20 しなかったが歩くことは可能で両側の膝蓋腱反射が消失した。試験終了時、精製ナラシ  
 21 ン投与群の全例に膝蓋腱反射の両側性消失又は阻害が観察され、3 例では筋緊張が低下  
 22 していた。

23 菌糸体ナラシン 1.0 mg(力価)/kg 体重/日群では、雄 1 例に一過性の脚弱、雌 2 例に流  
 24 涎が時折みられ、雄 1 例に大腿筋後部の軽度萎縮がみられた。

25 体重では、増加抑制が菌糸体ナラシン 2.0 mg(力価)/kg 体重/日群で軽度 (3 例) から  
 26 重度 (2 例)、精製ナラシン投与群では軽度 (5 例) にみられた。菌糸体及び精製ナラシ  
 27 ン 2.0 mg(力価)/kg 体重/日群で、対照群と比べ平均体重がそれぞれ雄 (11 及び 15 %)  
 28 と雌 (29 及び 11 %) で低下した。これらの低下は、平均月間摂餌量の 10 %以上の低  
 29 下 (複数回) と関連性があった。

30 眼科学的検査及び ECG 検査では投与に起因する異常はみられなかった。

31 血液学的検査、尿検査及び骨髄検査ではいずれの投与群にも毒性学的に重要な変化は  
 32 生じなかった。

33 血液生化学的検査では、菌糸体及び精製ナラシン 2.0 mg(力価)/kg 体重/日群の一部の  
 34 個体で投与開始後 4 週間に CPK 及び AST が一過性で軽度上昇したが、筋損傷との  
 35 関連のある影響と性が考えられた。しかし、この変化はナラシン投与の継続で正常範囲  
 36 に回復し、~~他に重要な変化はみられなかつた。~~

37 病理学的検査では、心筋、骨格筋及び坐骨、脛骨等の末梢神経に用量相関的な変化が  
 38 認められた。心筋の病変は瀕死状態で安楽死させた菌糸体ナラシン 2.0 mg(力価)/kg 体  
 39 重/日群の 1 例のみにみられた。菌糸体及び精製ナラシン 2.0 mg(力価)/kg 体重/日群のそ  
 40 れぞれ雄 3 例及び雌 1 例に横隔膜を含む骨格筋の局所的な限局性筋線維変性が生じ、菌



1 糸体投与群の方が重篤であった。精製ナラシン 2.0 mg(力価)/kg 体重/日群の全例で脊髄  
2 を除き末梢神経障害の重篤性は低かった。菌糸体ナラシン 1.0 mg(力価)/kg 体重/日群で  
3 は 3 例に最小ごく軽微から軽度の末梢神経変性と最低限度の局所的骨格筋の軽微な限  
4 局性筋線維変性がみられた。

5 本試験において用量相関的な毒性影響が生じた。投与に起因する毒性影響は身体症状  
6 にみられ、流涎過多、脚弱、食欲低下、努力性呼吸、活動性低下及び横伏、体重減少、  
7 CPK 及び AST の一過性の上昇並びに心臓、骨格筋及び末梢神経の変性及び/又は再生  
8 性変化であった。菌糸体ナラシンは精製ナラシンより忍容性は低かった。菌糸体ナラシ  
9 ン 1.0 mg/kg 体重(力価)/日群より菌糸体ナラシン 2.0 mg(力価)/kg 体重/日群においてよ  
10 り多くの動物が臨床症状と病変を示した。死亡率、臨床症状、体重、血液生化学検査並  
11 びに骨格筋、心筋及び末梢神経の病理組織学的所見から、本試験における NOAEL は  
12 0.5 mg(力価)/kg 体重/日と考えられた。(参照 3; FAS 2.2.2 (c) p149~150)

## 14 8. 慢性毒性/発がん性試験

### 15 (1) 2 年間慢性毒性/発がん性併合試験 (マウス)

16 マウス (B6C3F1 系、雌雄各 30 匹/群) を用いた菌糸体ナラシン (純度 10.6 %) の 2  
17 年間混餌投与 (0、5、15 及び 50 ppm : 雄は 0、0.59、1.91 及び 7.16 mg(力価)/kg 体  
18 重/日、雌は 0、0.71、2.29 及び 8.72 mg(力価)/kg 体重/日に相当) による慢性毒性/発が  
19 ん性併合試験の反復試験が実施された。また、別の群 (雌雄各 30 匹/群) を設け、精製  
20 ナラシン (純度 99.7 %) を混餌投与 (50 ppm : 雌雄それぞれ 9.49 及び 8.24 mg(力価)/kg  
21 体重/日に相当) した。被験動物は毎日一般状態及び行動を観察し、死亡例及び瀕死状  
22 態の個体については剖検した。体重測定、血液学的検査、血液生化学的検査、臓器重量  
23 測定、剖検及び病理組織学的検査を実施した。

24 本概要及び結論は両反復試験 (雌雄各 60 匹/群) データを総合した解釈に基づくもの  
25 である。

26 2 年間の生存率は、菌糸体ナラシン 0、5、15 及び 50 ppm 群並びに精製ナラシン 50  
27 ppm 群でそれぞれ 73、82、87、78 及び 84 % であり、ナラシンの混餌投与は生存率に  
28 有害な影響を及ぼさなかった。

29 一般状態では、削瘦(thinness)のみが投与に起因する影響であった。

30 体重は、15 ppm 以上投与群で平均体重減少及び増加抑制がみられた。精製ナラシン  
31 50 ppm 群の体重減少は菌糸体ナラシン 50 ppm 群より大きかった。

32 血液学的検査、血液生化学検査、臓器重量、剖検及び病理組織学的検査には毒性学的  
33 に重要な影響はみられず、投与に起因する病変及び新生物腫瘍もみられなかった。投与  
34 群で良性及び悪性腫瘍が散発的に発現したが、その発生頻度は発がん性影響を示すもの  
35 ではなかった。

36 以上より、投与に起因する雌雄の平均体重減少及び体重増加抑制により、本試験の  
37 NOAEL は 5 ppm (0.59 mg(力価)/kg 体重/日) であると考えられた。発がん性は認め  
38 られなかった。(参照 3; FAS 2.2.4 (a) p157~158)

39  
40 (事務局より)

1 EFSA では、同一試験において、用量相関的な体重増加抑制がみられたことから、  
2 NOAEL は設定されず本試験では LOAEL として 5 ppm が設定されている。(EFSA  
3 Journal 4.4.1 Carcinogenicity :Mice p25~26/44)

#### 4 5 専門委員コメント

6 上記の体重の項では、体重への影響は 15 ppm だけにあるようによめます。

#### 7 8 (2) 2 年間慢性毒性/発がん性併合試験 (ラット)

9 ラット (Wistar 系、雌雄各 40 匹/投与群(反復試験の第 2 回試験の高用量群のみ雄 39  
10 匹及び雌 41 匹/群)、雌雄各 60 匹/対照群) を用いた菌糸体ナラシン (純度 8%) の 2 年  
11 間混餌投与 (0、7.5、15 及び 30 ppm) による慢性毒性/発がん性併合試験の反復試験  
12 が実施された。本試験では、多世代発生毒性試験で得られた出生児が被験動物として用  
13 いられた。なお、本試験では第 1 回試験と第 2 回試験を同じ条件で実施した??

14 2 年間の平均摂取量は第 1 回試験では、雄で 0、0.31、0.59、1.15 mg(力価)/kg 体重/  
15 日、雌で 0、0.38、0.76、2.0 mg(力価)/kg 体重/日であり、第 2 回試験では、雄で 0、  
16 0.29、0.62、1.26 mg(力価)/kg 体重/日、雌で 0、0.37、0.88、2.34 mg(力価)/kg 体重/  
17 日であった。

18 ~~被験物質は、被験動物の生存率に有害影響を及ぼさなかった~~はなかった。15 ppm 以  
19 上投与群で生存率が上昇し、加齢ラットに一般的にみられる進行性糸球体慢性腎症の重  
20 症度が低下したことによると考えられた。

21 体重では、30 ppm 群の雌で増加抑制がみられ、~~明確に~~投与に起因する唯一の所見と  
22 考えられた。30 ppm 群の雌の摂取量は対照群より多かったが、こぼしにより実際の摂  
23 餌量は少なかったと考えられた。

24 血液学的及び血液生化学的検査並びに臓器重量に有害投与の影響はみられなかった。  
25 ~~投与による~~心筋、骨格筋及びその他における非腫瘍性病変や新生物腫瘍の発生には  
26 ~~発現しなかった~~投与による影響はなかった。良性及び悪性腫瘍が各投与群に散発的に発  
27 生したが、その頻度は発がん作用性を示すものではなかった。

28 以上より、30 ppm 群の雌に有意な体重増加抑制がみられたことから、本試験におけ  
29 る NOAEL は 15 ppm であり、第 1 回試験では 0.76 mg(力価)体重/日、第 2 回試験では  
30 0.88 mg(力価)体重/日と考えられた。発がん性は認められなかった。(参照 3; FAS 2.2.4  
31 (b)p158~159)

32  
33 (事務局より)

34 ・EFSA 記載の試験と被験動物数及び投与量が異なりますが、上記試験と同一の試験と  
35 考えられます。(参照 5;EFSA Journal 4.4.1 Carcinogenicity :Rats p26/44)

36  
37 ・申請者資料に記載の試験と被験物質の純度が異なりますが、上記試験と同一の試験と  
38 考えられます。(参照 5;抄録 資料番号 25 p9、11)

#### 39 40 9. 生殖発生毒性試験

## 1 (1) 3 世代繁殖試験 (ラット)

2 ラット (Wistar 系) を用いた菌糸体ナラシン (純度 8%) の混餌投与による 3 世代  
3 繁殖試験が実施された。混餌濃度は、最初 0、15、30 及び 60 ppm であったが、最初の  
4 世代繁殖で 60 ppm 群の F<sub>1</sub> 児体重が有意に低下したため、以降は 7.5、15 及び 30 ppm  
5 を用いた。混餌濃度 7.5、15、30 及び 60 ppm における換算投与量はそれぞれ 0.8、1.8、  
6 3.8 及び 5.9 mg(力価)/kg 体重/日であった。

7  
8  
9 30ppm (事務局注; 本文中には 15 ppm と記載されていますが、Comments には 30ppm と記載され  
10 ています) 群では、雌の親動物の体重が対照群より低かった。また、F<sub>0</sub> 及び F<sub>2</sub> 世代の児  
11 動物の体重が有意に低かった。7.5 及び 15 ppm 群の親及び児動物の体重は対照群と同  
12 様であった。親動物における生存率等のパラメータ、繁殖成績及び児動物のデータに投  
13 与に起因する影響はみられなかった。

14 以上より、親動物及び児動物の体重への影響から、本試験における一般毒性に対する  
15 NOAEL は 15 ppm (1.8 mg(力価)/kg 体重/日)、生殖毒性に対する NOAEL は本試験に  
16 における最高用量である 30 ppm (3.8 mg(力価)/kg 体重/日) と考えられた。(参照 3; FAS  
17 2.2.6 (a)p159、161)

18  
19 (2) 発生毒性試験 (ラット)

20 (1) のラット 3 世代繁殖試験の各世代の親動物を用いて菌糸体ナラシンの器官形成  
21 期における混餌投与 (0、7.5、15 及び 30 ppm) による催奇形性試験が実施された。そ  
22 れぞれの混餌濃度における投与量は、交配時でそれぞれ 0、0.5、1.3 及び 3.5 mg/kg 体  
23 重/日であった。被験雌動物を妊娠 20 日にと殺し、繁殖成績及び胎児への影響について  
24 調べた。

25 母動物では、30 ppm 群の体重が対照群に比べ有意に低かった。剖検で、投与に起因  
26 した所見は得られなかった。受胎率、同腹児数、胚吸収の有無、着床数及び黄体数、着  
27 床数、吸収胚率、生存胎児数、及び胎児体重などの繁殖成績に、投与の影響はみられな  
28 かった。

29 胎児発生に対するでは、発達に投与の影響はもみられなかった。投与群より対照群の  
30 胎児に水腎症が高頻度に発現したが、試験施設で通常みられるものであり、低頻度で生  
31 じた他の障害は、投与に起因するものではなかった。

32 30 ppm 群における母動物の平均体重の有意な減少に基づき、母体毒性の NOAEL は  
33 1.3 mg(力価)/kg 体重/日であると考えられた。催奇形性は認められなかった。(参照 3;  
34 FAS 2.2.6 (b)p161~162)

35  
36 (3) 発生毒性試験 (ウサギ)

37 ウサギ (Dutch Belted 種、15 匹/群) に菌糸体ナラシン (純度 8%) を妊娠 6~18  
38 日に強制経口投与 (0、0.6、1.2、1.8 及び 2.4 mg(力価)/kg 体重/日) し、被験物質の母  
39 体毒性及び繁殖成績に胎児に対する影響を調べた。

2.4 mg(力価)/kg 体重/日群の 2 例が死亡した。摂餌量、飲水量及び体重の減少並びに流産を含む毒性徴候がみられた。これらの影響は全投与群でみられたが、最高用量である 2.4 mg(力価)/kg 体重/日群で最も顕著であった。0.6 mg(力価)/kg 体重/日群の胎児 1 例に短尾が観察されたが、他の胎児に形態異常はみられなかった。0.6 及び 1.2 mg(力価)/kg 体重/日群のそれぞれ 1 例が流産したが、1.8 mg(力価)/kg 体重/日群の胎児発生に対する影響は認められなかった繁殖成績は影響を受けなかった。

以上より、妊娠したウサギは最高約 1.8 mg(力価)/kg 体重/日のナラシンの反復投与に忍容性があると考えられた。(パイロット試験) (参照 3; FAS 2.2.6 (c)p162)

ウサギ (Dutch Belted 種、15 匹/群) に菌糸体ナラシン (純度 8%) を妊娠 6~18 日に強制経口投与 (0、0.6、1.2 及び 1.8 mg(力価)/kg 体重/日) し、催奇形性試験が実施された。妊娠 28 日に帝王切開し、妊娠維持及および胎児に対する影響を繁殖成績を検討し、胎児の異常について調べた。

親動物では、1.2 及び 1.8 mg(力価)/kg 体重/日群の各 2 例、計 4 例が流産した。1.8 mg(力価)/kg 体重/日群の 2 例が瀕死状態となり安楽死させた。これらのうち 3 例 (1.2 mg(力価)/kg 体重/日群の 1 例、1.8 mg(力価)/kg 体重/日群の 2 例) に脚弱及び歩行失調が観察された。1.2 mg(力価)/kg 体重/日以上投与群で摂餌量減少を伴う平均体重のわずかな減少がみられたが、統計的に有意ではなかった。1.8 mg(力価)/kg 体重/日群で再一腹中の生存胎児数がわずかに減少し、吸収胚数がわずかに増加した。他の生殖パラメータ又は胎児の生存数、性、重量体重に投与の影響は認められなかった。

胎児では、外表部異常は、0.6 mg(力価)/kg 体重/日群の 1 例、1.2 mg(力価)/kg 体重/日群の同腹子児の 5 例及び 1.8 mg(力価)/kg 体重/日群の 1 例にみられた眼瞼開裂及び又は口蓋裂がみられただけであった。内臓異常は水頭症及び腎無形成腎 (0.6 mg(力価)/kg 体重/日群の 1 例) 並びに心臓肥大 (1.2 mg(力価)/kg 体重/日群の 1 例) がみられたであった。累積背景データ (3,646 例) では、該当する外表部異常 (眼瞼開裂及び口蓋裂) がそれぞれ 3 及び 6 例、内臓異常 (内水頭症、腎無形成腎及び心臓肥大) がそれぞれ 13、1 及び 1 例発現していた。第 13 肋骨の発達異常、背側頭蓋骨の発達不良及び胸骨分節異常は投与群と対照群で同様の頻度で発現した。

1.2 mg(力価)/kg 体重/日以上投与群で観察された母体毒性及び体重への影響、1.8 mg(力価)/kg 体重/日における同腹生存胎児数の有意ではな減少及び胚吸収の対照群と比較したわずかな増加に基づき、母体毒性の NOAEL は 0.6 mg (力価)/kg 体重/日であると考えられた。催奇形性は認められなかった。(参照 3; FAS 2.2.6 (c) p162~163)

## 10. その他の試験

### (1) 皮膚刺激性試験 (ウサギ)

ウサギに菌糸体ナラシンを 24 時間閉塞局所投与 (250 mg(力価)/kg 体重) しても明確な皮膚刺激性は発生しなかった。(参照 3; FAS 2.2.1 p141)

ウサギ (ニュージーランドホワイト種、雌雄各 5 匹) を用いて、菌糸体ナラシンの皮膚刺激性試験 (2,000 mg(力価)/kg 体重) が実施された結果、明らかな全身毒性徴候は



1  みられなかった。非常に軽微な皮膚刺激性が投与後 72 時間以内に 5 例で観察された。  
2  皮膚刺激性徴候は 1 例を除き投与後 14 日以内に消退した。剖検では、投与に起因する  
3  変化はみられなかった。(参照 [54;EFSA Journal 6.1 Irritation and sensitization Skin Irritation](#)  
4  [p30/44](#))

## 6 (2) 眼刺激性試験 (ウサギ)

7  ウサギに菌糸体ナラシンを点眼(1.7 mg(力価)/kg; 菌糸体ナラシンの総投与量 40 mg)  
8  した結果、角膜、虹彩及び結膜に重度の障害が生じた。投与した 2/6 例の眼には、永久的な眼の障害を示すパンヌスが生じた。投与 2 分後に眼を洗浄するとわずかな刺激性を示したが、48 時間以内には治癒した。(参照 3; [FAS 2.2.1 p141](#))

11  ウサギ (ニュージーランドホワイト種、雄 5 匹及び雌 4 匹) を用いて菌糸体ナラシン  
12  (純度 4.3 %、0.1 mL 懸濁液) の眼刺激性試験が実施され~~た~~した。投与 21 日後まで  
13  眼反応性を Draize 法で評価したが分類された (~~Draize 法~~)。

14  投与 2 分後に洗浄され~~た~~した 3 例には、一過性の中程度の結膜炎が生じたが、投与 7  
15  日後には正常に回復した。しかしながら、非洗浄の 6 例では角膜混濁、重度の結膜炎  
16  及び虹彩炎がみられた。これらの 2 例にはパンヌス (不可逆的障害を示す。) が生じ、  
17  角膜混濁、虹彩炎及び結膜炎は試験終了時でもみられた。

18  本被験物質には眼刺激性があると結論された。

19  イヌを用いたナラシン粉塵の暴露試験においても、眼刺激性が観察された。(参照  
20  [54;EFSA Journal 6.1 Irritation and sensitization Eye Irritation p30/44](#))

22  ウサギ (ニュージーランドホワイト種、雌雄各 3 匹及び雄 3 匹) を用いて、菌糸体ナ  
23  ラシンを結膜嚢に滴下 (74 mg(力価)/0.1 mL) し、3 日及び 7 日後まで観察した。

24  適用 24 時間以内に完全な角膜白濁及び重度の結膜炎がみられたが、投与直後の眼洗  
25  浄により眼刺激性は大幅に軽減し、軽度の角膜、虹彩、結膜の炎症等が認められたのみ  
26  で症状は 7 日以内に消失した。(参照 [65;抄録 資料番号 34 p12](#))

## 28 (3) 皮膚感作性試験 (モルモット)

29  モルモット (2~3 ヶ月齢、雌 10 匹/投与群、雌 8 匹/対照群) に精製ナラシン (0.025 %、  
30  サフラワー油溶媒) を 3 週間にわたり計 10 回皮内投与し、ナラシンの感作性が調べ  
31  られた。対照群には溶媒のみを投与した。最終投与 2 週間後に再投与 (惹起投与) が実  
32  施され~~た~~し、各再投与 24 時間後に反応輪の直径を測定した。再投与後の反応を元の 10  
33  回の注射後に測定した平均値と比較して感作性を調べた。

34  皮内惹起投与後に遅発性過敏症は認められなかった。体重の減少はナラシンの注射に  
35  起因するものであった。(参照 3; [FAS 2.2.7\(b\) p165](#))

## 1 1 1. 一般薬理試験

2 ナラシンの一般薬理試験の結果を表 11 に示した。

3

4 表 11 ナラシンの一般薬理試験

試験内容	動物種	動物数	投与方法 (投与量:mg/kg 体重)	結果
一般行動及び 中枢神経症状	マウス	雌雄各 3 匹/群	単回経口投与 (1~100)	10 以上で用量依存的な全身的抑制状態 (運動性、認知性、反射性、筋緊張の低下等)
	ウサギ	雄 3 匹/群	単回経口投与 (10~100)	30 以上で運動量低下、四肢の脱力、運動失調、筋緊張低下、呼吸抑制等。
<i>in situ</i> 子宮運動	ウサギ	経産雌 3 匹	静脈内漸増投与 (0.03~1)	0.1 以上で収縮の低下及び収縮頻度の減少。
<i>in situ</i> 前脛骨 前方筋収縮	ウサギ	雄 4 匹	静脈内漸増投与 (0.03~1)	0.3 以上で直接・間接刺激に対し軽微~経度の用量依存的な収縮増大。
炭末輸送能	マウス	雄 6 匹/群	単回経口投与後炭末投与 (0.1~10)	10 で小腸内輸送能低下。
尿排泄	ラット	雄 6 匹/群	単回経口投与 (0.3~30)	30 群の 2 例が死亡。尿の定性試験、尿量等に明らかな変化なし。
心臓血管系に対する影響	イヌ	不明	静脈内投与 (0.0076 ~ 0.153) 又は、経口投与 (1.53)	静脈内投与では、冠状動脈血流量、平均血圧、心拍数が用量相関性に増加。経口投与では影響無し。

5 (参照 3; FAS 2.2.7(a) p163~164、参照 65;抄録 資料番号 36、37 p12~13)

6

## 7 1 2. 微生物学的影響に関する試験

## 8 (1) 臨床分離菌に対する MIC①

9 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  
10 調査 (平成 18 年 9 月~平成 19 年 3 月) において、ヒト臨床分離株等に対するナラシ  
11 ンの約  $5 \times 10^6$  CFU/spot における MIC が調べられている (表 12)。

12

13

14

15

16

17

1 表 12 ヒト腸内細菌におけるナラシンの MIC<sub>50</sub>

菌名	株数	最小発育阻止濃度 (µg/mL)	
		被験物質名	
		MIC <sub>50</sub>	範囲
通性嫌気性菌			
<i>Escherichia coli</i>	30	>128	>128
<i>Enterococcus</i> sp.	30	0.25	0.12~0.5
嫌気性菌			
<i>Bacteroides</i> sp.	30	16	2~32
<i>Fusobacterium</i> sp.	20	>128	64~>128
<i>Bifidobacterium</i> sp.	30	0.5	0.25~8
<i>Eubacterium</i> sp.	20	0.5	0.12~2
<i>Clostridium</i> sp.	30	0.12	≤0.06~0.12
<i>Peptococcus</i> sp./ <i>Peptostreptococcus</i> sp.	30	≤0.06	≤0.06~0.25
<i>Prevotella</i> sp.	20	2	0.5~4
<i>Lactobacillus</i> sp.	30	0.25	0.12~2
<i>Propionibacterium</i> sp.	30	0.25	0.12~0.5

2

3 調査された菌種のうち、最も低い MIC<sub>50</sub> が報告されているのは *Peptococcus*  
4 *sp./Peptostreptococcus* sp. の ≤0.06 µg/mL であった。MICcalc<sup>3</sup> は 0.189 µg/mL (0.000189  
5 mg/mL) と算出された。(参照 [87](#); H18 年度調査事業)

6

## 7 (2) 臨床分離菌に対する MIC②

8 健常なヒト腸内細菌叢の 100 菌株(代表的 10 菌種各 10 株)を用いてナラシンの MIC  
9 について調べた。菌はな投薬を受けていない健常ヒトボランティアの糞便から分離され  
10 たものであった。MIC は 10<sup>7</sup>~10<sup>8</sup> cfu/mL の接種濃度で決定された。

11 MIC の範囲及び MIC<sub>50</sub> を表 13 に示した。

12 ナラシンの抗菌活性の程度は各細菌群により大きく異なった。*Peptostreptococcus* sp.  
13 が最も感受性が高く MIC 範囲が 0.062~0.5 µg/ml、MIC<sub>50</sub> は 0.125 µg/mL であった。  
14 ナラシンは *Bacteroides fragilis* 及び他の *Bacteroides* sp. には非常に弱い活性を示し、  
15 MIC<sub>50</sub> は 32 µg/mL であった。*Escherichia coli* には測定できるほどの抗菌活性を示さ  
16 なかった (MIC >128 µg/mL) 。

17

18

19

20

<sup>3</sup> 試験薬に活性のある最も関連のある属の平均 MIC<sub>50</sub> の 90 %信頼限界の下限值

1 表 13 ヒト腸内細菌（ヒトボランティア由来）におけるナラシンの MIC

菌種 (各菌種 10 株)	ナラシンの MIC( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	
	範囲	MIC <sub>50</sub>
<i>Bacteroides fragilis</i>	8~32	32
その他の <i>Bacteroides</i> sp.	16~32	32
<i>Bifidobacterium</i> sp.	0.125~4	0.5
<i>Clostridium</i> sp.	0.125~1	0.25
<i>Enterococcus</i> sp.	全て 0.5	0.5
<i>Escherichia coli</i>	全て >128	>128
<i>Eubacterium</i> sp.	0.25~0.5	0.25
<i>Fusobacterium</i> sp.	0.125~32	8
<i>Lactobacillus</i> sp.	0.5~4	1
<i>Peptostreptococcus</i> sp.	0.062~0.5	0.125

2 接種濃度 :  $10^7 \sim 10^8$  cfu/mL (参照 3; FAS 2.2.7(c) p165~166)

3  
4 (3) 糞便結合試験（ヒト）

5 ナラシンの糞便結合試験が 12 添加濃度（0、0.5、1、2、5、10、20、50、100、120、  
6 140、160  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）で実施された。糞便は過去 4 週間下痢がなく過去 3 ヶ月間抗菌剤の  
7 投与を受けていない 3 名のボランティア由来のもので、参照菌株として *Enterococcus*  
8 *faecalis* を用いた。各濃度のナラシンは滅菌したヒト糞便試料（糞便濃度 : 0、25 及び  
9 50 % (w/vol)）と混合し、培養（0、1、2、6、8 及び 12 時間）した。各培養時間後の資  
10 料から得られた上清の抗菌活性を、糞便の培養前後における細菌発育の有無により評価  
11 した。

12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27

1 ナラシンのヒト糞便との結合率を表 14 に示した。

3 表 14 ナラシンのヒト糞便との結合率

培養時間 (h)	糞便濃度 (%(w/vol 糞便))				
	0	25		50	
	増殖阻害に 必要な最低 ナラシン濃 度( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) (a)	増殖阻害に 必要な最低 ナラシン濃 度( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) (c)	ナラシンと 糞便との結 合率(%) [(c-a)/c] × 100	増殖阻害に 必要な最低 ナラシン濃 度( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) (d)	ナラシンと 糞便との結 合率(%) [(d-a)/d] × 100
0	1	>160	>99.4	>160	>99.4
1	1	>160	>99.4	>160	>99.4
2	1	100	99.0	>160	>99.4
6	1	100	99.0	>160	>99.4
8	1	100	99.0	>160	>99.4
12	1	100	99.0	>160	>99.4

4 ナラシン添加濃度 : 0、0.5、1、2、5、10、20、50、100、120、140、160  $\mu\text{g}/\text{mL}$

6 糞便試料 3 例全てが 25 及び 50 %の両濃度で最大の結合率 (99.4 %) を示した。ナ  
7 ラシンと糞便との 99 %以上の結合が混合直後に生じた。糞便濃度 50 %が *in vivo* と最  
8 も近い状況であると考えられた。この結果は、ナラシンのヒト糞便との迅速かつ強固な  
9 結合を示すと考えられた。

10 以上より、ナラシン残留物の無希釈糞便との結合は迅速で 99 %を超えると考えられ  
11 た。(参照 3; FAS 2.2.7(c) p167)

#### 13 (4) 代謝物の微生物学的活性

14 ナラシンは豚及びラットにおいて大部分が代謝され数多くの代謝物に変換される。水  
15 酸化が主要な代謝経路と考えられている。水酸化代謝物であるナラシン A 及び B が肝  
16 臓、胆汁及び糞中で同定された。ナラシンの 6 種類の水酸化代謝物の抗菌活性が *Bacillus*  
17 *subtilis* に対するバイオオートグラフ法により測定された。このバイオアッセイにより  
18 全代謝物の抗菌活性はナラシンの少なくとも 1/20 以下であった。さらに、鶏及び牛の  
19 排泄物から単離された 2 及び 3-水酸化ナラシン代謝物のイオノフォアとしての活性が  
20 調べられており、2 及び 3-水酸化ナラシン代謝物はナラシンの 1/200 以下であった。(参  
21 照 3; FAS 2.2.7(c) p167~168)

#### 23 (5) サルモネラ排菌に対する影響 (鶏)

24 ブロイラー雛 (11 及び 12 日齢) にサルモネラを実験感染させた後、ナラシンを混餌  
25 投与した場合の、サルモネラ排菌 (検出率、排菌持続期間、排菌量) 及び組織からのサ  
26 ルモネラ分離に及ぼす影響について検討された。雛に *Salmonella typhimurium* を人工



1 感染させ、サルモネラ感染日から試験期間を通じてナラシンを混餌投与（80 ppm）し  
2 た。感染後 56 日間に計 12 回糞を採取し、サルモネラの検出を試みるとともに、斃死時  
3 又は試験終了時に剖検し、肝臓、脾臓、結腸内容物及び盲腸内容物についてサルモネラ  
4 感染株の検出を試みた。

5 その結果、ナラシンの混餌投与は、サルモネラ排菌量、検出率、排菌持続時間等のサル  
6 モネラ排菌の指標及び組織からのサルモネラ感染株分離に何ら影響を及ぼさなかつ  
7 た。（参照 65;抄録 資料番号 46 p16）

8  
9 サルモネラに感染させた鶏（ブロイラー）にナラシンを 8 週間混餌投与（100 ppm）  
10 した。その結果、投与に起因するサルモネラの糞中排泄及びナラシン耐性大腸菌の糞中  
11 の割合に有意な影響は見られなかった。（参照 3; FAS 2.2.7(c) p168）

### 13 1 3. ヒトにおける知見

14 意図的にナラシン製剤をヒトに投与した計画的な試験は実施されていない。しかしな  
15 がら、プレミックス剤や完全飼料の製造中の現場で偶然に暴露されることは起こり得る  
16 と考えられた。ナラシン及びナラシン製品の製造過程に従事した 163 名に関する広範な  
17 医学的報告の評価が実施された。この中には、定期健康診断、社内医療施設での診察記  
18 録及び労働障害又はナラシン暴露の可能性のある事故報告が含まれる。ナラシン暴露に  
19 より起きることが知られている皮膚の発疹、アレルギー症状、神経筋障害及び心疾患は  
20 特別考慮された。調査項目には血液学的検査（Hb、Ht、RBC、WBC 及び PLt）、血液  
21 生化学的検査（Glu、BUN、Cre、Chol、T.Bil、AST、ALP、LDH、UA、TP、電解  
22 質及び Alb）、肺機能検査（努力肺活量 FVC、努力呼気肺活量 FEV、FEV/FVC）及び  
23 健康に関するアンケートが含まれていた。

24 163 名の従業員の調査結果のまとめから、ナラシン暴露に関連付けられる有意な検査  
25 値は見られなかった。特に、血液疾患、肝臓又は腎臓障害、肺機能異常、新生物、慢性  
26 皮膚病及び神経筋、心臓又は他の異常は認められなかった。

27 同じ 163 名の従業員に関する医学的報告と事故/傷害報告のまとめでは、ナラシンに  
28 対する 2 例の IgE 介在性アレルギー反応が確認されており、一過性の顔面蕁麻疹、掻痒  
29 症、鼻のうっ血、胸部圧迫感が示されている。さらに、3 例にアレルギー症状が疑われ  
30 たが皮内試験では確認されなかった。この症例は、アレルギー反応というよりはむしろ  
31 局所的な呼吸障害を示していたと考えられた。5 例全ての症状は一過性であり、ナラシ  
32 ン製造区域からの異動後に完全に回復し長期の持続性はなかった。（参照 3; FAS 2.4  
33 p168~169）

## 35 III. 食品健康影響評価

### 36 1. 国際機関における評価

#### 37 (1) JECFA における評価

38 JECFA では、各種毒性試験の結果、イヌを用いた 1 年間慢性毒性試験において得ら  
39 れた最小の NOAEL を用いて毒性学的 ADI が設定されている。

1 イヌを用いた 1 年間慢性毒性試験では、死亡率、臨床症状、体重、血液生化学的検  
 2 査並びに骨格筋、心筋及び末梢神経の病理組織学的所見に基づき、NOAEL は 0.5 mg/kg  
 3 体重/日と設定された。この NOAEL に、安全係数として種差 10 及び個体差 10 の 100  
 4 を適用し、0～5 µg/kg 体重/日の毒性学的 ADI が設定された。

5 MIC 感受性、糞便結合作用及び *in vivo* の定着障壁<sup>4</sup>試験から、ナラシン残留物はヒ  
 6 ト消化管の定着障壁を崩壊させないと考えられ、ナラシン残留物に関して微生物学的  
 7 ADI を設定する必要はないとしている。以上のことから、JECFA では、ナラシンの  
 8 ADI を毒性学的 ADI である 0～5 µg/kg 体重/日と設定している。(参照 3)

## 10 (2) EFSA における評価

11 EFSA では、飼料に添加して使用されるナラシンを含有する抗コキシジウム剤につ  
 12 いて評価が実施されている。

13 ナラシンには遺伝毒性がないことが示されており、マウス、ラット及びウサギを用  
 14 いた試験では発がん性及び発生毒性は認められなかった。

15 経口の毒性試験で得られた最小の NOAEL は、イヌを用いた 1 年間慢性毒性試験に  
 16 おいてみられた神経障害に基づく 0.5 mg/kg 体重/日であり、毒性学的 ADI を 0.005  
 17 mg/kg 体重/日と設定している。

18 なお、微生物学的 ADI については設定されておらず、EFSA では、消費者の安全性  
 19 評価に係るナラシンの ADI として 0.005 mg/kg 体重/日が設定された。(参照 4)

## 21 2. 毒性学的 ADI について

22 ナラシンは、各種遺伝毒性試験においていずれも陰性の結果が得られており、マウス  
 23 及びラットを用いた慢性/発がん性併合試験において発がん性が認められていないこと  
 24 から、遺伝毒性発がん物質ではないと考えられることから ADI を設定することが可能  
 25 であると考えられた。

26 各種毒性試験で得られた最も小さい NOAEL はイヌの 1 年間慢性毒性試験における  
 27 0.5 mg(力価)/kg 体重/日であった。したがって、この NOAEL に種差 10 及び個体差 10  
 28 の安全係数 100 を適用し、毒性学的 ADI は 0.005 mg/kg 体重/日と設定された。

## 30 3. 微生物学的影響について

31 ナラシンのヒト腸内細菌叢への影響については、ヒト腸内細菌に対する MIC、糞便  
 32 結合率及びナラシン残留物の微生物学的活性について評価された。

33 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  
 34 調査）により、ナラシンは *Enterococcus* sp.、*Bacteroides* sp.、*Fusobacterium* sp.、  
 35 *Bifidobacterium* sp.、*Eubacterium* sp.、*Clostridium* sp.、*Peptococcus*

<sup>4</sup> 定着障壁とは、結腸において、外来微生物の定着及び内因性の潜在性病原菌の過剰増殖を制限する正常腸内細菌叢の機能。抗菌性物質が正常腸内細菌叢をかく乱することにより、この障壁を崩壊させ、ヒトの健康に影響することが知られている。

1 *sp./Peptostreptococcus sp.*、*Prevotella sp.*、*Lactobacillus sp.*及び *Propionibacterium*  
2 *sp.*に抗菌活性を示したが、*Escherichia coli* に対しては抗菌活性はみられなかった (MIC<sub>50</sub>  
3 >128 µg/mL)。

4 したがって、MIC に関する知見から、ナラシンはヒト腸内細菌叢に対して影響し定  
5 着障壁の崩壊の可能性がある。しかしながら、結腸内のナラシン残留物の大部分  
6 (99.4%) は糞に結合しており生物学的には非活性であると考えられる。

7 また、代謝物の微生物学的活性については、豚及びラットの 6 種類の水酸化代謝物の  
8 抗菌活性はナラシンの 1/20 であり、鶏及び牛の排泄物から単離された 2 及び 3-水酸化  
9 ナラシン代謝物はナラシンの 1/200 であった。

10 さらに、サルモネラに感染させた鶏 (ブロイラー) にナラシンを 8 週間混餌投与 (100  
11 ppm) した結果、投与に起因するサルモネラの糞中排泄及びナラシン耐性大腸菌の糞中  
12 の割合に有意な影響はみられなかった。

13 従って、ナラシンは正常な腸内細菌叢に影響を及ぼさないと考えられる。MIC 感受  
14 性、糞結合作用及び *in vivo* 定着障壁試験により、ナラシン残留物はヒト消化管の定着  
15 障壁を崩壊させないとみなされた。

16 以上のことから、ナラシン残留物に関して微生物学的 ADI を決定する必要はないと  
17 考えられる。

#### 18 | 19 20 4. ADI の設定について

21 微生物学的 ADI については、上述のとおり設定する必要がないと考えられたことか  
22 ら、ナラシンの ADI として、毒性学的 ADI の 0.005 mg/kg 体重/日を採用することが適  
23 当と判断された。

24  
25 以上より、ナラシンの食品健康影響評価については、ADI として次の値を採用する  
26 ことが適当と考えられる。

27  
28 ナラシン 0.005 mg/kg 体重/日

29  
30 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  
31 とする。

#### 32 33 専門委員コメント

34 毒性試験については GLP で実施されたかどうかの情報を評価書に記載した方が良  
35 いのではないのでしょうか。

1 表 15 JECFA 及び EFSA における NOAEL 等の比較

動物種	試験	投与量 (mg/kg 体重/日)	NOAEL (mg/kg 体重/日) 等	
			EFSA	JECFA
マウス	一般行動及び 中枢神経症状	0、1、3、10、30、100 経口投与		3 全身抑制状態
	一般薬理 (炭 粉末輸送能)	0、0.1、0.3、1、3、10 経口投与		3 小腸輸送能低下
	3 ヶ月間亜急 性毒性	菌糸体 0、9、12、15 混餌投与	9 体重増加抑制	9 平均体重減少
		菌糸体 0、1.5、3、6 混餌投与	1.5	6 (最高用量)
2 年間慢性毒 性/発がん性	菌糸体 雄 0、0.59、1.91、7.16 雌 0、0.71、2.29、8.72 精製物 雄 0、8.24、雌 0、9.49 混餌投与	LOEL ; 0.59 体重増加抑制	0.59 平均体重減少、体重増加 抑制	
ラット	一般薬理 (尿 排泄)	0、0.3、1、3、10、30 経口投与		有意な変化なし
	3 ヶ月間亜急 性毒性	菌糸体 0、15、30、60 ppm 雄 0、1.1、2.2、4.7 雌 0、1.1、2.6、5.7 混餌投与		菌糸体 1.1 mg/kg 体重/日(15 ppm) 飼料食餌効率、体重への 影響
	3 ヶ月間亜急 性毒性	精製物 0、15、30、60 ppm 菌糸体 0、60ppm 混餌投与	精製物 ; 30 ppm 雄 ; 2.1、雌 ; 2.4 飼料摂取量減少、 体重増加抑制	
	1 年間慢性毒 性	0、7.5、15、30 ppm 雄 0、0.49、1.0、1.9 雌 0、0.57、1.2、3.2 混餌投与	菌糸体 ; 15 ppm 雄 ; 0.51~1.41 雌 ; 0.77~1.58	菌糸体 1.9(30 ppm) 雄の最高用量
	2 年間慢性毒 性	菌糸体 0、7.5、15、30 ppm 混餌投与	30 ppm 雄 0.57~0.60、 雌 0.73~0.84 体重増加量/飼料食餌 効率低下	15 ppm 雌第 1 回 0.76、雌第 2 回 0.88 体重増加抑制
	3 多世代生殖 毒性	菌糸体 0、7.5、15、30 ppm 混餌投与	15 ppm 雄 0.7~1.5、雌 1.0~ 1.8 平均体重低下	15 ppm 1.8 平均体重低下
	発生毒性	菌糸体 0、7.5、15、30 ppm 混餌投与	母体毒性 ; 0.7~1.3 胚毒性/胎児毒性/催奇 形性なし	母体毒性 ; 1.3 平均体重低下
モルモ ット	皮膚感作性	精製物	遅延性過敏症なし。	遅延性過敏症なし。
ウサギ	一般行動及び 中枢神経症状	0、1、10、30、100 経口投与		10 自発運動量低下減少、四 肢の脱力腹筋の弛緩、運 動失調腹臥位、筋緊張低 下眼瞼下垂、呼吸抑制異 常呼吸
	一般薬理 ( <i>in situ</i> 子宮運 動)	0、0.03、0.1、0.3、1 静脈内投与		0.03 子宮収縮運動低下
	一般薬理 ( <i>in situ</i> 前脛骨筋	0、0.03、0.1、0.3、1 静脈内投与		0.1 収縮幅の増大

	収縮)			
	局所皮膚刺激性	菌糸体/局所塗布 2,000 mg/kg	僅かな皮膚刺激性有、 全身毒性なし。	
	眼粘膜刺激性	菌糸体/局所滴下	総投与量不明、眼腐食性有	総投与量 40 mg で 眼腐食性有
	発生毒性/催奇形性	菌糸体 0、0.6、1.2、1.8 経口投与	母体毒性；0.6 流産、催奇形性なし。	母体毒性；0.6 流産、催奇形性なし。
イヌ	3 ヶ月間亜急性毒性	菌糸体 0、0.5、1.0、2.0 精製 2.0 経口投与	1.0 脚の筋力低下、体重/臓器重量への影響	1.0 脚の筋力低下、運動失調、ECG 異常
		菌糸体 0、0.5、1.0、2.0 精製 2.0 経口投与	1.0 脚の筋力低下、体重/臓器重量への影響	
	6 ヶ月間亜急性慢性毒性	菌糸体 0、0.5、1.0、1.5 経口投与	1.0 ECG 異常	1.0 ECG 異常
	1 年間慢性毒性	菌糸体 0、0.5、1.0、2.0 精製 2.0 経口投与	0.5 神経学的/病理組織病理学的変化	0.5 脚の筋力低下臨床症状、流涎体重、筋萎縮血液生化学的検査、病理組織学的検査
毒性学的 ADI			ADI: 0.005 mg/kg 体重/日	ADI: 0.005 mg/kg 体重/日
毒性学的 ADI 設定根拠資料			イヌ 1 年間毒性試験、NOEL: 0.5 mg/kg 体重/日、SF100	イヌ 1 年間毒性試験、NOEL: 0.5 mg/kg 体重/日、SF100
微生物学的 ADI			設定なし	必要なし

1  
2  
3  
4



## 1 &lt;別紙 1 検査値等略称&gt;

略称	名称
ADI	一日摂取許容量
Alb	アルブミン
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))
ATP	アデノシン三リン酸
ATPase	アデノシン三リン酸加水分解酵素
AUC	血漿中薬物濃度曲線下面積
BUN	血液尿素窒素
CFU	コロニー形成単位
Chol	コレステロール
C <sub>max</sub>	最高濃度
CPK	クレアチンホスホキナーゼ
Cre	クレアチニン
EFSA	欧州食品安全機関
FDA	米国食品医薬品庁
Glu	グルコース
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
HPLC/ISP-MS	高速液体クロマトグラフィー/イオンスプレー質量分析
Ht	ヘマトクリット値
IgE	免疫グロブリン E
JECFA	FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議
LC-MS	液体クロマトグラフィー/質量分析
LD <sub>50</sub>	半数致死量
LDH	乳酸脱水素酵素
LOAEL	最小毒性量
LSC	液体シンチレーションカウンタ
MIC	最小発育阻止濃度
MIC <sub>50</sub>	50%最小発育阻止濃度
NOAEL	無毒性量
RBC	赤血球数
T.Bil	総ビリルビン
T.Chol	総コレステロール
TLC	薄層クロマトグラフィー

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会議
WBC	白血球数

1  
2

1 <参照>

- 2 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  
3 成 17 年 11 月 29 日付、平成 17 年厚生労働省告示第 499 号）
- 4 2. The Merck Index. 14th Edition, 2006
- 5 3. JECFA; Toxicological evaluation of certain veterinary drug residues in food.  
6 WHO Food Additives Series 61, Narasin; 2009, p133~182.
- 7 4. “イオノフォア”. 友田勇, ブラッド獣医学大辞典, 文永堂出版, 1998
- 8 5. EFSA; Opinion of the Scientific Panel on Additives and Products or Substances  
9 used in Animal Feed on a request of the Commission on the re-evaluation of  
10 efficacy and safety of the coccidiostat Monteban<sup>R</sup> G100 in accordance with article  
11 9G of Council Directive 70/524/EEC, The EFSA Journal 2004, 90, p1-44
- 12 6. 日本イーライリリー株式会社. ナラシンの残留基準の設定に関する資料（未公表）
- 13 7. JECFA; Evaluation of certain veterinary drug residues in food, WHO Technical  
14 Report Series 954, Narasin; 2008, p71-83
- 15 8. 食品安全委員会、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  
16 的影響についての調査
- 17