

（案）

動物用医薬品評価書

アプラマイシン

2013年2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	3
○ 食品安全委員会委員名簿	3
○ 食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会専門委員名簿	3
○ 要 約	4
I. 評価対象動物用医薬品の概要	5
1. 用途	5
2. 有効成分の一般名	5
3. 化学名	5
4. 分子式	5
5. 分子量	5
6. 構造式	5
7. 使用目的及び使用状況等	6
II. 安全性に係る知見の概要	6
1. 薬物動態試験	6
(1) 薬物動態試験（ラット）	6
(2) 薬物動態試験（イヌ）	7
(3) 薬物動態試験（牛・吸収）	7
(4) 薬物動態試験（豚・吸収）	8
(5) 薬物動態試験（豚・分布、代謝、排泄）	8
2. 残留試験	9
(1) 残留試験（牛）	9
(2) 残留試験（豚）	11
(3) 残留試験（羊）	13
(4) 残留試験（鶏）	14
(5) 残留試験（ウサギ）	15
3. 遺伝毒性試験	15
4. 急性毒性試験	16
5. 亜急性毒性試験	17
(1) 2週間亜急性毒性試験（ラット）	17
(2) 1か月間亜急性毒性試験（ラット）	17
(3) 3か月間亜急性毒性試験（ラット①）	18
(4) 3か月間亜急性毒性試験（ラット②）	18
(5) 6か月間亜急性毒性試験（ラット）	19
(6) 14日間亜急性毒性試験（イヌ）	19
(7) 3か月間亜急性毒性試験（イヌ）	19
(8) 6か月間亜急性毒性試験（イヌ）	20
6. 慢性毒性及び発がん性試験	21
(1) 1年間慢性毒性試験（イヌ）	21
(2) 2年間慢性毒性/発がん性併合試験（マウス）	21
(3) 2年間慢性毒性/発がん性併合試験（ラット）	22

7. 生殖発生毒性試験	23
(1) 多世代生殖毒性試験 (ラット)	23
(2) 生殖毒性試験 (豚)	23
(3) 発生毒性試験 (ラット)	23
(4) 発生毒性試験 (ウサギ) <参考データ>	24
8. 対象動物を用いた安全性試験	24
(1) 5日間安全性試験 (牛)	24
(2) 28日間安全性試験 (豚①)	24
(3) 28日間安全性試験 (豚②)	25
(4) 安全性試験 (鶏)	25
9. 微生物学的影響に関する試験	25
(1) 臨床分離菌に対する MIC (ヒト由来①)	25
(2) 臨床分離菌に対する MIC (ヒト由来②)	26
(3) 臨床分離菌に対する最小発育阻止濃度 (MIC) (豚由来)	26
10. ヒトにおける知見	27
11. 一般薬理試験	27
(1) 各種摘出組織における反応	27
(2) 前脛骨筋の攣縮反応 (ラット)	27
(3) 心臓及び肺への影響 (イヌ)	27
12. その他の試験	28
(1) 皮膚刺激性試験 (ウサギ)	28
(2) 眼刺激性試験 (ウサギ)	28
(3) 皮膚感作性試験 (モルモット)	28
(4) 腸管刺激性試験 (豚)	28
(5) 腎毒性試験 (ラット)	28
(6) 聴神経毒性試験 (豚)	29
III. 食品健康影響評価	29
1. 国際機関等における評価	29
(1) JECFA における評価	29
(2) EMEA における評価	30
(3) FDA における評価	30
2. 毒性学的 ADI について	31
3. 微生物学的 ADI について	31
4. ADI の設定について	32
・ JECFA 及び EMEA における各種試験の無毒性量等の比較	33
・ 別紙：検査値等略称	35
・ 参照	36

1 <審議の経緯>

2005年 11月 29日 暫定基準告示（参照1）

2010年 3月 23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0319第6号）関係資料接受

2010年 3月 25日 第325回食品安全委員会（要請事項説明）

2013年 2月 19日 第67回肥料・飼料等専門調査会

2

3 <食品安全委員会委員名簿>

(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

(2012年1月6日まで)

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

(2012年7月1日から)

熊谷 進 （委員長）
佐藤 洋 （委員長代理）
山添 康 （委員長代理）
三森 国敏（委員長代理）
石井 克枝
上安平 冽子
村田 容常

* : 2009年7月9日から

* : 2011年1月13日から

4

5

6 <食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会専門委員名簿>

(2011年9月30日まで)

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

(2011年10月1日から)

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

7

要 約

アミノグリコシド系抗生物質である動物用医薬品アプラマイシン（CAS No.37321-09-8）について、JECFA の評価書、EMA の評価書、FDA 資料等を用いて食品健康影響評価を実施した。

[以降は審議後に記載。]

DRAFT

1
2 I. 評価対象動物用医薬品の概要

3 1. 用途

4 抗菌剤

5
6 2. 有効成分の一般名

7 和名：アプラマイシン

8 英名：Apramycin

9
10 3. 化学名

11 IUPAC：

12 英名：(2R,3R,4S,5S,6S)-2-[[[(2R,3S,4R,4aR,6S,7R,8aS)-7-amino-6-[(1R,2R,3S,4R,
13 6S)-4,6-diamino-2,3-dihydroxycyclohexyl]oxy-4-hydroxy-3-(methylamino)-
14 2,3,4,4a,6,7,8,8a-octahydropyran[3,2-b]pyran-2-yl]oxy]-5-amino-6-
15 (hydroxymethyl)oxane-3,4-diol

16
17 CAS (No.37321-09-8)

18 英名：O-4-Amino-4-deoxy- α -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 8)-O-(8*R*)-2-amino-2,3,7
19 -trideoxy-7-(methylamino)-D-glycero- α -D-*allo*-octodialdo-1,5:8,4
20 -dipyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)-2-deoxy-D-streptamine

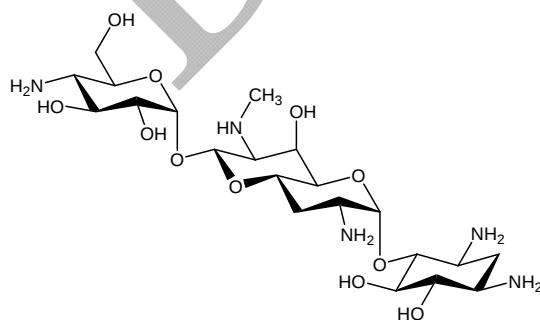
21
22 4. 分子式

23 C₂₁H₄₁N₅O₁₁

24
25 5. 分子量

26 539.58

27
28 6. 構造式



30 (参照 2) [MERCK INDEX]

7. 使用目的及び使用状況等

アプラマイシンは、放線菌 *Streptomyces tenebrarius* が産生する一群のアミノグリコシド系抗生物質ネブラマイシンの Factor 2 であり、*Escherichia coli* 及び *Salmonella* 属並びに家畜及びヒト由来のマイコプラズマを含むグラム陽性菌及びグラム陰性菌の両方に、ペプチジル転位のレベルでタンパク質合成を阻害することにより抗菌性を発揮する。化学構造的に固定した二環性のオクタジオース (octadiose) を含有するため、1) 広い抗菌スペクトルを持ち、特にグラム陰性菌に対して強い抗菌作用を示す、2) 従来のアミノグリコシド系抗生物質 (カナマイシン、フラジオマイシン等) の耐性菌に対して強い抗菌力を示す、3) アミノグリコシド系抗生物質不活化酵素に対して安定であるという特徴を有することから動物用医薬品として開発された。牛、豚、家さん及びウサギのような対象動物における多様な腸管病原性感染症 (牛及び豚における大腸菌症、サルモネラ症及び他の細菌感染症、家さんにおける *E.coli* 敗血症、大腸菌症、サルモネラ症及び他の細菌感染症並びにウサギにおける大腸菌症を含む細菌性腸炎) の治療に用いられる。アプラマイシンは、ヒトの食用を目的とした産卵鶏並びに搾乳用の牛及び羊に対する使用は認められていない。(参照 3、4、5) [承認申請書、p6~7] [FAS66-1、p192] [EMA 1、p217]

日本では、硫酸アプラマイシンの飼料添加剤及び飲水添加剤が豚の細菌性下痢症を適応症として承認されている。[動薬検データベース]

アプラマイシンは、ヒト用医薬品としては使用されていない。(参照 4) [FAS66-1、p192]

また、ポジティブリスト制度導入に伴う残留基準値¹が設定されている。

II. 安全性に係る知見の概要

本評価書は、JECFA の評価書、EMA の評価書、FDA の資料等を基に、アプラマイシンの毒性に関する主な知見を整理した。

検査値等略称を別紙に示した。

1. 薬物動態試験

(1) 薬物動態試験 (ラット)

ラット (系統、動物数、性別等不明) に ¹⁴C 標識アプラマイシンを単回経口又は皮下投与 (4 mg/匹) し、薬物動態試験が実施された。排泄物中及び投与 4 日後の腎臓中放射活性を測定した。

皮下投与では、尿中に特に多く排泄され (93%)、残りは糞中にみられた。経口投与では、尿中排泄はわずか 0.5% であり、99.5% が糞中にみられたことから、消化管からの吸収が低いことが示唆された。腎臓中放射活性は、皮下及び経口投与でそれぞれ 12 及び 0.2 µg/g であった。ラットの経口投与における主要排泄経路は糞中であつた。

また、放射活性を薄層バイオオートグラフィーにより調べた結果、未変化体であるアプラマイシンが確認され、代謝されないことが示された。(参照 4) [FAS66-2.1.1(a)、p193、2.1.2、p194]

¹ 平成 17 年 厚生労働省告示第 499 号によって定められた残留基準値

1 (2) 薬物動態試験 (イヌ)

2 ① 6 か月間投与試験

3 イヌ (ビーグル種、雌雄各 6 匹/群) にアプラマイシンを 6 か月間経口投与 (0、25、
4 50 又は 100 mg(力価)/kg 体重/日、カプセル投与、~~対照として無投与群を設定~~) し、薬
5 物動態試験が実施された。アプラマイシン投与開始 1、64、119 及び 182 日後の投与 1、
6 2、3、4、6 及び 24 時間後に採血した。

7 血清中のアプラマイシン濃度は投与 2 時間後に C_{max} に達し、用量相関的な値 (25、
8 50 及び 100 mg(力価)/kg 体重/日投与群でそれぞれ平均血清中濃度が 2.2、5.5 及び 11.0
9 $\mu\text{g/mL}$) を示した。アプラマイシンは各投与 24 時間後の血清中からは検出されず、反
10 復投与による蓄積の証拠又は血清中濃度の変化はみられなかった。投与開始 1、64、119
11 及び 182 日後 24 時間の尿中には投与量の 0.3~10.5%が含まれた。最終投与後のアプラ
12 マイシンの平均腎臓中濃度は用量相関的であり、25、50 及び 100 mg(力価)/kg 体重/日
13 投与群でそれぞれ 45.2、113.2 及び 170 $\mu\text{g/g}$ であった。最終投与後に 3 か月間の回復
14 期間を設けた被験動物の腎臓からはより低い濃度のアプラマイシンが検出され、25、50
15 及び 100 mg(力価)/kg 体重/日投与群でそれぞれ 10.2、25.8 及び 29.4 $\mu\text{g/g}$ であった。(参
16 照 4) [FAS66-2.1.1(b)、p193]

17 ② 1 年間投与試験

18 イヌ (ビーグル種、雌雄各 4~5 匹/群) にアプラマイシンを 1 年間経口投与 (0、25、
19 50 又は 100 mg(力価)/kg 体重/日、カプセル投与、~~対照として無投与群を設定~~) し、薬
20 物動態試験が実施された。投与開始 15、28 及び 51 週の投与 1、2、3、4 及び 6 時間後
21 に採血した。

22 血清中のアプラマイシン濃度は投与 1~2 時間後に C_{max} に達し、用量相関的な値 (25、
23 50 及び 100 mg(力価)/kg 体重/日投与群でそれぞれ 1.12~3.63 $\mu\text{g/mL}$ 、4.86~6.3 $\mu\text{g/mL}$
24 及び 5.85~11.9 $\mu\text{g/mL}$) を示した。反復投与による蓄積の証拠又は血清中濃度の変化
25 はみられなかった。最終投与後のアプラマイシンの平均腎臓中濃度は、用量相関的であ
26 り、25、50 及び 100 mg(力価)/kg 体重/日投与群でそれぞれ 20.7、41.9 及び 82.2 $\mu\text{g/g}$
27 であった。試験の結果から、経口投与後の吸収は低いことが示唆された。イヌにおける
28 主要排泄経路は糞中であつた。(参照 4) [FAS66-2.1.1(b)、p194]

29 (3) 薬物動態試験 (牛・吸収)

30 子牛 (乳牛、6 頭/群) に硫酸アプラマイシンを代用乳に混じて 5 日間経口投与 (20
31 又は 40 mg/kg 体重/日) し、薬物動態試験が実施された。第 1、3 及び 5 回投与後に採
32 血して、血清中の濃度を測定した。

33 血清中濃度は投与 6 時間後までに C_{max} に到達し、投与 24~36 時間後には検出され
34 なかった。血清中濃度は用量依存的ではあったが、相関性はなかった。AUC の増加は
35 投与量の増加量より多いものであった。この点について追加の調査は実施されていない
36 が、5 日間の投与期間中に蓄積されておらず、アプラマイシンの連続経口投与は血清の
37 残留反応曲線の形状にほとんど又は全く影響を及ぼさないと考えられた。(参照 3) [承
38 認申請書 EXPERT REPORT ON RESIDUES- Soluble、p116~117]

(4) 薬物動態試験 (豚・吸収)

硫酸アプラマイシンを豚に用いた2つの単回強制経口投与試験を(試験①体重約10 kg、2～3頭/群：アプラマイシンとして10、30又は100 mg(力価)/kg 体重、試験②体重約50 kg、3頭/群：アプラマイシンとして25又は100 mg(力価)/kg 体重)実施し、血清中濃度をバイオアッセイにより測定した。各群における薬物動態パラメータを表1に示した。

表1 豚におけるアプラマイシン単回経口投与後の薬物動態パラメータ

試験	体重 (kg)	動物数 (頭)	投与量 (mg(力価)/kg 体重)	T _{max} (h)	C _{max} (μg(力価)/mL)	T _{1/2} (h)
①	約10 (8~12)	2	10	0.5	0.89	
		3	30	1	1.85	
		3	100	2	1.90	
②	約50 (44.6~58.6)	3	25		ND	
		3	100	1	2.6	1.24

ND：いずれの検査時においても検出限界 (0.2 μg(力価)/mL) 未満

体重約10 kgの豚では、アプラマイシンの血清中濃度は10、30及び100 mg(力価)/kg 体重投与群でそれぞれ0.5 (0.89 μg(力価)/mL)、1 (1.85 μg(力価)/mL) 及び2時間後 (1.90 μg(力価)/mL) にC_{max}に達し、それぞれ投与8、24及び48時間後に全例が検出限界 (0.1 μg(力価)/mL) 未満となった。体重約50 kgの豚における25 mg(力価)/kg 体重投与群では、いずれの検査時においても検出限界 (0.2 μg(力価)/mL) 未満で、100 mg(力価)/kg 体重投与群では、1時間後にC_{max} (2.6 μg(力価)/mL) に達し、投与24時間後に全例が検出限界 (0.2 μg(力価)/mL) 未満となった。(参照3) [承認申請書、p64~65]

子豚(2日、4及び8週齢)に硫酸アプラマイシンを単回経口投与(アプラマイシンとして2.27、4.55又は9.1 mg(力価)/kg 体重)し、薬物動態試験が実施された。アプラマイシンの血中濃度及び検出可能期間に対する生育時期(日齢及び週齢)の影響をバイオアッセイにより調べた。

2日齢の動物では、アプラマイシンはよく吸収され、投与量に応じた血清中濃度を示した。4週齢の動物では、アプラマイシンはほとんど吸収されず、血清中濃度は低かった。8週齢の動物の血清中からは検出されなかった。(参照3) [承認申請書 CONFIDENTIAL、p146]

(5) 薬物動態試験 (豚・分布、代謝、排泄)

子豚(体重約10 kg、3頭)に¹⁴C 標識硫酸アプラマイシンを5日間強制経口投与(25 mg(力価)/kg 体重/日)し、分布、代謝及び排泄について調べた。

分布については、最終投与14日後に肝臓、腎臓、筋肉及び背脂肪の組織中放射活性

を測定し、肝臓及び腎臓中アプラマイシン濃度をバイオアッセイにより測定した。
結果を表 2 に示した。

表 2 子豚における ^{14}C 標識硫酸アプラマイシン 5 日間強制経口投与後の組織中濃度

試料	硫酸アプラマイシン換算値 (ppm(力価))	
	総放射活性	バイオオートグラフィー
肝 臓	0.035~0.143	~0.051
腎 臓	0.050~0.291	0.029~0.189
筋 肉	0.023~0.047	
背脂肪	0.058~0.150	

□：実施せず

組織中放射活性は腎臓で最も高く、次いで背脂肪、肝臓、筋肉の順であり、腎臓中放射活性の約 2/3 が ^{14}C 標識硫酸アプラマイシンであった。

排泄については、投与開始 11 日後までの糞及び尿中放射活性を測定した。その結果、放射活性のほとんどは糞中に排泄され、投与開始後 11 日の糞及び尿中放射活性回収率は、それぞれ 72.31~90.68 及び 1.50~9.68% で、糞及び尿からの総回収率は 81.99~92.66% であった。尿中には 10% 未満排泄された。

代謝については、組織（肝臓及び腎臓）並びに糞及び尿中の放射活性物質をカラムクロマトグラフィーで精製し、オートラジオグラム及びバイオオートグラムを作成して分析した。その結果、肝臓、腎臓、尿及び糞中の総放射活性のそれぞれ 1/3、2/3、3/4 以上及び 3/4 以上が未変化体であった。（参照 3） [承認申請書、p66~67]

2. 残留試験

(1) 残留試験（牛）

① 5 日間経口投与試験 a

子牛（フリージアン種、雄 4 頭/時点）にアプラマイシンを 5 日間経口投与（40 mg/kg 体重/日）し、残留試験が実施された。最終投与 4 時間後並びに 7、14、21、28 及び 35 日後に可食部組織（肝臓、腎臓、筋肉及び脂肪）中濃度を HPLC により測定した（定量限界：肝臓及び腎臓で 5,000 $\mu\text{g/kg}$ 、筋肉及び脂肪で 500 $\mu\text{g/kg}$ 、検出限界：肝臓、腎臓、筋肉及び脂肪でそれぞれ 396、229、268 及び 129 $\mu\text{g/kg}$ ）。

肝臓中アプラマイシン濃度は最終投与 14 日後に 1,000 $\mu\text{g/kg}$ 未満となり、脂肪中濃度は最終投与 7 日後に定量限界未満となった。脂肪では、最終投与 14 日後以降にはアプラマイシンは検出されなかった。筋肉では、最終投与 21 日後の 1 例（1,000 $\mu\text{g/kg}$ 未満）を除いて、アプラマイシン残留は検出されなかった。腎臓では、最終投与 14 日後にアプラマイシン残留濃度は 20,000 $\mu\text{g/kg}$ 未満となり、最終投与 21 日後までに 3 例が定量限界未満となった。さらに、HPLC による残留消失パターンはバイオアッセイで得られたパターンと同様であった。（参照 3、5、6） [承認申請書 EXPERT REPORT ON RESIDUES- Soluble、p120] [EMA 19、p221] [TRS969-Residue data、p234~235]

② 5日間経口投与試験 b

子牛（雌雄各 4 頭/時点）にアプラマイシンを 5 日間経口投与（40 mg/kg 体重/日）し、残留試験が実施された。最終投与 7、14、21、28、35 及び 42 日後に組織中のアプラマイシン残留を測定した。

腎臓では、最終投与 7 日後に 3 例から定量限界（5 mg/kg）を超えるアプラマイシンが検出され、その濃度は 6.5～7.2 mg/kg であったが、最終投与 14 日後以降は全例が定量限界以下であった。肝臓中の残留は全例が定量限界（5 mg/kg）未満であった。筋肉及び脂肪では、少数例で最終投与 7 及び/又は 14 日後に定量限界（0.5 mg/kg）を超えるアプラマイシンが検出された。筋肉では最終投与 35 日後以降、脂肪では最終投与 28 日後以降に残留は検出されなかった。（参照 6） [TRS969-Residue data、p235]

③ 5日間経口投与試験 c

子牛（2～7 日齢）にアプラマイシンを代用乳に混じて 5 日間経口投与（40 mg/kg 体重/日）し、組織（肝臓、腎臓、筋肉及び脂肪）中の残留についてバイオアッセイにより調べた。

各組織中濃度の経時的変化を表 3 に示した。（参照 5） [EMEA 19、p221]

表 3 子牛におけるアプラマイシン 5 日間経口投与後の組織中濃度（μg/kg）

試料	最終投与後日数（日）	
	7	21
肝臓	400～4,000	1,000～2,000
腎臓	5,000～20,000	1,600～3,200
筋肉	<50	<50
脂肪	100～200	<50

組織中濃度は、腎臓が最も高く、次いで肝臓が高かった。脂肪からは最終投与 7 日後に検出されたが、21 日後には検出されなかった。筋肉では、いずれの時点においても検出されなかった。

④ 2日間筋肉内投与試験

子牛に標識アプラマイシンを 2 日間筋肉内投与（20 mg/kg 体重/日）し、残留試験が実施された。最終投与 7 日後の放射活性の分布は、同じ組織のバイオアッセイによる測定結果及び代用乳に混じた経口投与試験で観察された残留濃度と合理的な相関がみられた。いずれの試験においても腎臓中濃度が最も高く、肝臓中濃度は少なくともその 1/10 であった。筋肉及び脂肪中濃度は、肝臓中濃度のさらに 1/10 程度であった。（参照 3） [承認申請書 EXPERT REPORT ON RESIDUES-Premix、p93、Soluble、p117]

(2) 残留試験 (豚)

① 7日間飲水投与試験 a

豚 (4 頭/時点) にアプラマイシンを 7 日間強制飲水投与 (20 mg/kg 体重/日) し、残留試験が実施された。最終投与 1、4、7、14、21 及び 28 日後の組織 (肝臓、腎臓、筋肉及び皮膚/脂肪) 中濃度を HPLC により測定した。定量限界は、肝臓及び腎臓で 5,000 µg/kg、筋肉及び皮膚/脂肪で 500 µg/kg であった。検出限界は、肝臓、腎臓、筋肉及び皮膚/脂肪でそれぞれ 250、200 µg/kg、280 及び 50 µg/kg であった。

肝臓、筋肉及び皮膚/脂肪では、どの時点においてもアプラマイシン残留は検出されなかった。腎臓では、残留量の減少が観察され、最終投与 7 日後には定量限界未満となった。(参照 3) [承認申請書 EXPERT REPORT ON RESIDUES- Premix、p96、Soluble、p119]

② 7日間飲水投与試験 b

豚にアプラマイシンを 7 日間飲水投与 (25 mg eq/kg 体重/日) し、残留試験が実施された。組織中残留をバイオアッセイにより測定した (検出限界: 100 µg/kg)。

残留は、最終投与当日 (1 日以内) の腎臓及び脂肪からのみ検出された。平均腎臓中残留は最終投与当日の 2,500 µg/kg から最終投与 14 日後には 200 µg/kg に減少した。平均脂肪中残留は最終投与当日に 100 µg/kg で、その後の時点では検出限界未満であった。(参照 5) [EMA 17、p220~221]

③ 7日間飲水及び混餌投与試験

子豚 (交雑種、去勢雄 3 頭/時点/投与群、3 頭/対照群) に硫酸アプラマイシンを 7 日間飲水 (12.5 又は 37.5 mg(力価)/kg 体重(薬剤摂取量として、それぞれ 10 又は 29 mg(力価)/kg 体重/日)) 及び混餌投与 (0.02 又は 0.06%(力価)(薬剤摂取量として、それぞれ 12 又は 36 mg(力価)/kg 体重/日)) し、残留試験が実施された。最終投与 2 時間後並びに 7、14、21、28 及び 35 日後に組織 (肝臓、腎臓、筋肉、脂肪及び小腸) 中残留がバイオアッセイにより測定された。

結果を表 4 に示した。

表 4 豚における硫酸アプラマイシン 7 日間経口投与後の平均組織中濃度 (µg(力価)/g)

試料	投与量 ^a (mg(力価)/kg 体重、% (力価) (4#))	最終投与後日数 (日)					
		1/12	7	14	21	28	35
飲水投与	肝臓	10 12.5	ND	ND	ND	ND	ND
		29 37.5	0.28 ^b	ND	ND	ND	ND
	腎臓	10 12.5	0.62	0.10	ND	ND	ND
		29 37.5	1.57	0.25	ND	ND	ND
	筋肉	10 12.5	ND	ND	ND	ND	ND
		29 37.5	ND	ND	ND	ND	ND
脂肪	10 12.5	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	29 37.5	ND	ND	ND	ND	ND	ND

		29	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	小腸	10 12.5	0.09	ND	ND	ND	ND	ND
		20 37.5	0.29	ND	ND	ND	ND	ND
混 餌 投 与	肝臓	12 0.02	ND	ND	ND	ND	ND	ND
		36 0.06	0.13 ^c	ND	ND	ND	ND	ND
	腎臓	12 0.02	0.45	ND	ND	ND	ND	ND
		36 0.06	1.24	ND	ND	ND	ND	ND
	筋肉	12 0.02	ND	ND	ND	ND	ND	ND
		36 0.06	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	脂肪	12 0.02	ND	ND	ND	ND	ND	ND
		36 0.06	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	小腸	12 0.02	ND	ND	ND	ND	ND	ND
		36 0.06	0.15	ND	ND	ND	ND	ND

ND：検出限界（0.0625μg(力価)/g）未満

a：被験動物の体重及び飲水量投与 mg(力価)/kg 体重、混餌投与、%（力価）又は摂餌量からの換算値

b：1 頭の値、他の 2 頭は ND

c：2 頭の平均値、他の 1 頭は ND

専門委員コメント

結果&考察文が投与量群で記載されているので、表のみ薬剤摂取量にすると単位は揃いますが、分かり難いです。投与量の単位を分かり易くするため、表を 2 つに分けても良いと思います。

アプラマイシン残留は、飲水投与では、最終投与 2 時間後において 12.5 mg(力価)/kg 体重投与群の腎臓及び小腸並びに 37.5 mg(力価)/kg 体重投与群の肝臓、腎臓及び小腸に、最終投与 7 日後において両投与群の腎臓に検出されたが、最終投与 14 日後には全例から検出されなかった。

混餌投与では、最終投与 2 時間後において 0.02%(力価)投与群の腎臓並びに 0.06%(力価)投与群の肝臓、腎臓及び小腸で検出されたが、最終投与 7 日後には全例から検出されなかった。（参照 3）
[承認申請書添付資料、p69~71、DA-153 の豚における残留試、p74~85]

④ 28 日間混餌投与試験 a

豚（体重 8~22 kg、抗菌剤の使用状況不明）にアプラマイシンを 28 日間混餌投与（110 ppm(力価)）し、残留試験が実施された。最終投与約 1 時間後及び最終投与 35 日後まで 7 日おきに組織（脂肪/皮膚、腎臓、筋肉及び肝臓）中のアプラマイシンの残留をバイオアッセイにより測定した（検出限界：0.1 μg(力価)/g）。

アプラマイシン残留は、脂肪/皮膚及び筋肉においては検出されなかった。腎臓では、最終投与 1 時間後の 0.5~1.0 μg(力価)/g から最終投与 7 及び 14 日後には 0.2 μg(力価)/g 未満に減少し、最終投与 21 日後以降は検出されなかった。肝臓では、最終投与約 1 時

間後の 0.1 µg(力価)/g 未満から最終投与 14 日後に完全に検出されなくなるまで減少した。(参照 3) [承認申請書 CONFIDENTIAL、p149]

⑤ 28 日間混餌投与試験 b

豚 (16 頭) にアプラマイシンを 28 日間混餌投与 (200 ppm) し、残留試験が実施された。最終投与 3、6、9 及び 12 日後に、肝臓、腎臓、筋肉及び脂肪/皮膚の組織中残留を HPLC により測定した。

肝臓中の残留濃度が、いずれの時点においても最も高く (定量限界 : 0.5 mg/kg)、最終投与 3 日後では 1.3~1.4 mg/kg、最終投与 6 日後では 1.4~1.6 mg/kg、最終投与 9 日後では 1.1~1.4 mg/kg、最終投与 12 日後では 1.0~1.2 mg/kg であった。腎臓、筋肉及び脂肪では、最終投与後のいずれの時点においても定量限界 (腎臓 : 2.5 mg/kg、筋肉及び脂肪 : 0.5 mg/kg) 未満であった。肝臓中の残留濃度が最も高かったのは 4 動物種で本残留試験のみであった。(参照 6) [TRS969-Residue data、p31]

専門委員コメント

JECFA の資料では 4 動物種の報告ですが、本評価書では EMEA の羊の報告もあるので、コメントを変更するか、削除してはいかがでしょうか。

(3) 残留試験 (羊)

① 3 日間経口投与試験

子羊 (3 頭/時点) にアプラマイシンを 3 日間経口投与 (10 mg/kg 体重/日) し、残留試験が実施された。最終投与 0、21、28 及び 35 日後に組織中残留をバイオアッセイにより測定した。

アプラマイシンの残留濃度は、肝臓及び筋肉では全時点において検出限界 (500 µg/kg) 未満であった。脂肪では、500 µg/kg 未満~960 µg/kg の残留がみられた最終投与 21 日後を除き全時点において検出限界未満であった。腎臓では、最終投与直後の 500 ~2,860 µg/kg から、最終投与 21 日後の 1,200~1,730 µg/kg、最終投与 35 日後の検出限界未満と減少した。(参照 5) [EMEA 20、p221]

② 5 日間経口投与試験

子羊 (4 頭/時点) にアプラマイシンを 5 日間経口投与 (10 mg/kg 体重/日) し、残留試験が実施された。最終投与 6、12、18、24 及び 30 日後に組織中残留を HPLC により測定した (定量限界 : 筋肉及び脂肪で 500 µg/kg、肝臓及び腎臓で 2,500 µg/kg、検出限界 : 筋肉、脂肪、肝臓及び腎臓でそれぞれ 124、42、368 及び 394 µg/kg)。

筋肉及び脂肪中残留は、全例でどの時点においても検出限界未満であった。肝臓及び腎臓では、どの時点においてもわずかなアプラマイシン残留が認められたが、経時的に明らかな減少を伴うものではなかった。肝臓中残留は、最終投与 6 日後で 368 µg/kg 未満~600 µg/kg で、最終投与 30 日後で 450~700 µg/kg であった。腎臓中残留は、最終

投与 6 日後で 1,000～1,200 µg/kg、最終投与 30 日後で 1,300～1,700 µg/kg であった。
(参照 5) [EMA 20、p221]

(4) 残留試験 (鶏)

① 5 日間飲水投与試験 a

鶏 (肉用鶏、4 週齢、10 羽/時点) にアプラマイシンを 5 日間飲水投与 (500 mg/L) し、残留試験が実施された。最終投与 3、6、9 及び 12 日後に組織 (肝臓、腎臓、筋肉及び皮膚/脂肪) 中残留を HPLC により測定した (定量限界: 肝臓、腎臓、筋肉及び皮膚/脂肪で 500 µg/kg、検出限界: それぞれ 470、133、319、及び 32 µg/kg)。

結果を表 5 に示した。

表 5 鶏におけるアプラマイシン 5 日間飲水投与後の組織中残留 (µg/kg)

試料	最終投与後日数 (日)			
	3	6	9	12
肝臓	ND~BLQ	ND	ND	ND
腎臓	BLQ~1,480	BLQ~1,400	ND~600	ND~580
筋肉	ND	ND	ND	ND
皮膚/脂肪	ND~620	ND~ BLQ	ND	ND~ BLQ

LOQ (定量限界): 肝臓、腎臓、筋肉及び皮膚/脂肪; 500 µg/kg

LOD (検出限界): 肝臓; 470 µg/kg、腎臓; 133 µg/kg、筋肉; 319 µg/kg、皮膚/脂肪; 32 µg/kg

BLQ: <LOQ ND: <LOD

筋肉では、全例が検出限界未満であった。肝臓では、投与 3 日後に 1 例が定量限界未満であったことを除き全例が検出限界未満であった。皮膚/脂肪では、最終投与 3 日後の 2 例以外は定量又は検出限界未満であった。腎臓中残留の最高濃度は、最終投与 3 日後の 1,480 µg/kg であったが、その後の測定時点において全般的な減少が観察された。鶏卵中の残留についてのデータは得られていない。(参照 3) [承認申請書 EXPERT REPORT ON RESIDUES- Soluble、p121~122]

② 5 日間飲水投与試験 b

鶏 (肉用鶏、6 羽/時点) に ¹⁴C 標識アプラマイシンを 5 日間飲水投与 (500 mg/L) し、残留試験が実施された。最終投与当日 (1 日以内)、7 及び 14 日後に組織 (肝臓、腎臓、筋肉及び皮膚) 中残留を測定した。

結果を表 6 に示した。

また、肝臓及び腎臓はバイオアッセイを用いて調べた結果、肝臓及び腎臓中残留の 80%以上が未変化体であることが判明した。(参照 5) [EMA 21、p222]

表 6 鶏における ¹⁴C 標識アプラマイシン 5 日間飲水投与後の平均組織中濃度 (µg eq/kg)

試料	最終投与後日数 (日)
----	-------------

	0(最終投与当日)	7	14
肝臓	420	150	80
腎臓	3,230	1,470	470
筋肉	70	20	
皮膚	200	60	30

③ 5日間飲水投与試験 c

鶏（肉用鶏、6羽/時点）に硫酸アプラマイシンを5日間飲水投与（559 mg/L）し、残留試験が実施された。最終投与当日（1日以内）、7、10及び14日後に組織（肝臓、腎臓、筋肉及び皮膚/脂肪）中残留をバイオアッセイにより測定した。

組織中残留は筋肉では全例が 50 µg/kg 未満であった。皮膚では、最終投与当日にのみ検出された（60～200 µg/kg）。脂肪中の平均残留は最終投与当日に 150 µg/kg で、その後 50 µg/kg 未満となった。肝臓では個体差が大きく、最終投与当日に 260～540 µg/kg、最終投与 7 日後に 60～210 µg/kg となり、最終投与 14 日後には 50～230 µg/kg であった。（参照 5）[EMEA 22、p222]

(5) 残留試験（ウサギ）

ウサギ（5匹/時点）にアプラマイシンを7日間飲水投与（100 mg/L）し、残留試験が実施された。最終投与 0、3、7、14 及び 21 日後に組織（肝臓、腎臓、筋肉及び脂肪）中残留を HPLC により測定した（定量限界：肝臓、筋肉及び脂肪で 500 µg/kg、腎臓で 2,500 µg/kg、検出限界：肝臓、腎臓、筋肉及び脂肪でそれぞれ 100、600、500、及び 200 µg/kg）。

アプラマイシンの残留は、最終投与 0 日後において、腎臓で 4 例が検出されたが定量限界未満であった。最終投与 0 日後の肝臓の 1 例（600 µg/kg）を除き、他の肝臓、筋肉及び脂肪の全例が検出限界未満であった。（参照 3）[承認申請書 EXPERT REPORT ON RESIDUES- Soluble、p122]

3. 遺伝毒性試験

アプラマイシンの遺伝毒性に関する各種 *in vitro* 試験が実施され、結果を表 7 にまとめた。結果はすべて陰性であった。（参照 3、4、5）[承認申請書、p43、CONFIDENTIAL、p168] [FAS66-2.2.4、p200] [EMEA 10、p219]

表 7 *in vitro* 試験

検査項目	試験対象	用量 (被験薬)	結果
復帰突然変異試験	<i>Salmonella typhimurium</i> TA98、TA100、TA1535、TA1537、 TA1538	3~300 µg/plate (±S9) (硫酸アプラマイシン)	陰性
	<i>S. typhimurium</i> TA98、TA100、	0.1~1,000 µg/mL (±S9)	陰性

	TA1535、TA1537 <i>Escherichia coli</i> WP2uvrA-	(不明)	
前進突然変異試験	マウスリンフォーマ L5178Y 細胞	62.5~1,000 µg/mL (±S9) (硫酸アプラマイシン)	陰性
DNA 修復試験 (不定期 DNA 合成試験)	ラット 肝 初代培養肝細胞	0.5~500 nmol/mL 20 時間培養 (硫酸アプラマイシン)	陰性

実施された遺伝毒性試験の結果は、全て陰性であった~~ことから、アプラマイシンは生体に影響を及ぼす遺伝毒性はないと考えられる。~~

4. 急性毒性試験

アプラマイシンの急性毒性試験が各動物種を用いて経口及び静脈内投与により調べられている。

結果を表 8 に示した。(参照 4) [FAS66-2.2.1, p194~195]

表 8 アプラマイシンの急性毒性試験結果

被験薬	動物種	性別	投与経路	LD ₅₀ (mg(力価)/kg 体重)
硫酸アプラマイシン	マウス	雌雄	経口	>5,200
	ラット	雌雄		>4,160
	モルモット	雌雄		>1,250
	ウサギ	雌雄		>832
	イヌ	雌雄		>520
アプラマイシン塩基	マウス	雌雄	静脈内	570~573
	ラット	雌雄		1,596~1,640

アプラマイシンは、経口投与における急性毒性は低く、マウス、ラット、ウサギ及びイヌで死亡例はみられなかった。臨床的な毒性徴候として、マウスでは投与後 4~6 時間にわたる下痢及び 4~5 日間の衰弱が、ラットでは投与当日に消瘦、身づくろいの減少及び下痢が、ウサギでは摂餌低下、体重減少及び自発運動の抑制が、イヌでは軽度の下痢及び嘔吐がみられた。モルモットでは、摂餌低下、脱毛、胃の膨張、体重増加抑制、腎障害及び遅発性死亡が 10 例中 2 例にみられた。

静脈内投与の場合、げっ歯類では投与後 1 時間以内に中枢神経毒性によるものと考えられる死亡例がみられた。硫酸アプラマイシンで死亡率が高いのは投与した水溶液の pH が低いことによるもので、高用量投与の生存マウス及びラットでは~~種々の程度の腎臓障害の程度が様々であったを示した。~~(硫酸アプラマイシン iv のデータがない?)

専門委員コメント

腎障害が腎臓障害のどちらかに統一されてはどうでしょうか？

事務局：「腎障害」に統一しました。

ラットを微粒子状のアプラマイシンを含む大気中に 1 時間暴露したところ、単回の暴露では死亡例も毒性徴候もみられなかった。LC₅₀は 211 mg(力価)/m³ 超であった。(参照 4) [FAS66-2.2.1、194]

子豚（体重 13.6～18.1 kg、5 頭/群）に硫酸アプラマイシンを強制経口投与（500、800 又は 1,250 mg(力価)/kg 体重）した。その結果、最高用量である 1,250 mg(力価)/kg 体重投与群においても死亡例はみられなかった。(参照 3) [承認申請書 CONFIDENTIAL、p151]

5. 亜急性毒性試験

(1) 2 週間亜急性毒性試験（ラット）

ラット (Wistar 系、雌雄各 5 匹/群) に硫酸アプラマイシンを 2 週間混餌投与 (0、500、1,000 又は 2,000 ppm : 雄で 0、46、92 又は 191 mg(力価)/kg 体重/日、雌で 0、50、101 又は 193 mg(力価)/kg 体重/日、~~対照として無投与群を設定~~) し、亜急性毒性試験が実施された。

投与群において死亡例はみられず、一般状態、体重、摂餌量、血液生化学的検査、剖検及び腎臓の病理組織学的検査に投与に起因する影響はみられなかった。(参照 3) [承認申請書、p40~42]

本試験における NOAEL は、最高用量である 2,000 ppm（アプラマイシンとして雌雄それぞれ 191 及び 193 mg(力価)/kg 体重/日）と考えられた。

専門委員コメント

該当資料より、投与量に(力価)を付けることは可能でしょうか。

(2) 1 か月間亜急性毒性試験（ラット）

ラット (Fischer344 系、雌雄各 10 匹/群) にアプラマイシンを 1 か月間混餌投与 (0、10,000、25,000 又は 50,000 ppm(力価)、~~対照として無投与群を設定~~) し、亜急性毒性試験が実施された。

一般状態では、25,000 ppm(力価)以上投与群が投与期間の最終週に暗色から黒色の糞を排泄した。

体重では、50,000 ppm(力価)投与群の雌雄で、増加抑制がみられた。

血液生化学的検査では、50,000 ppm(力価)投与群の雌雄で血清中 Glu 及び BUN の増加がみられ、~~雌で血清中 Cre 及び雄で ALP の軽度の減少がみられた。~~

専門委員コメント

毒性学的意義は低いので「雌で血清中 Cre 及び雄で ALP の軽度の減少がみられた。」は削除してもよいかと思います。

血液学的検査及び臓器重量測定は実施されず、限定的な剖検のみが実施された。
剖検では、腎臓に変化はみられなかったが、50,000 ppm(力価)投与群の全例で盲腸が正常の2～3倍の大きさを示した。

検査項目が不十分な範囲のものであったため、本試験におけるNOAELは設定できなかった。(参照4) [FAS66-2.2.2(b)、p196]

(3) 3か月間亜急性毒性試験(ラット①)

離乳ラット(Wistar系、雌雄各10匹/群)に硫酸アプラマイシンを3か月間混餌投与(0、200、400又は1,000 ppm:雄で0、11、21又は50 mg/kg体重/日、雌で0、13、26又は63 mg/kg体重/日、アプラマイシンとしての摂取量:雄で0、5.6、11又は26 mg(力価)/kg体重/日、雌で0、6.7、14又は33 mg(力価)/kg体重/日、~~対照として無投与群を設定~~)又は飲水投与(10 mg/mL:雄で1,040 mg/kg体重/日、雌で1,359 mg/kg体重/日、アプラマイシンとしての摂取量:雄で541 mg(力価)/kg体重/日、雌で707 mg(力価)/kg体重/日)し、亜急性毒性試験が実施された。

混餌投与では、いずれの群においても死亡例はみられず、投与に起因する影響は認められなかった。

飲水投与では、いずれの群においても死亡例はみられず、雌雄の数例に軟便が観察され、雄でGluの上昇及びプロトロンビン時間の減少がみられたものの、腸の病理組織学的検査を含むその他の検査項目において投与に起因する影響はみられなかった。(参照3、4) [承認申請書、p40~42、CONFIDENTIAL、p158] [FAS66-2.2.2(b)、p196]

専門委員コメント

飲水投与試験は1用量群のみのようなので、この試験の取扱いをご確認お願い致します。

本試験におけるNOAELは、混餌投与の最高用量である1,000 ppm(アプラマイシンとして雌雄それぞれ33及び26 mg(力価)/kg体重/日)と考えられた。

(4) 3か月間亜急性毒性試験(ラット②)

ラット(Fischer344系、雌雄各15匹/群)にアプラマイシンを3か月間混餌投与(0、1,800、2,750、6,200又は10,000 ppm(力価):雄で0、129、198、460又は738 mg/kg体重/日、雌で0、153、228、556又は896 mg/kg体重/日、~~対照として無投与群を設定~~)し、亜急性毒性試験が実施された。

死亡例はみられず、一般状態、血液学的検査、血液生化学的検査及び臓器重量に投与の影響はみられなかった。

全投与群で摂餌量の増加が、体重増加では、6,200 ppm以上投与群の雌で、~~摂餌量の増加を伴う増加量のわずかな~~増加がみられたが、用量相関性はなかった。

剖検及び病理組織学的検査では、10,000 ppm(力価)投与群の雄3例に軽度のネフローゼがみられた。(参照4) [FAS66-2.2.2(b)、p197]

本試験における NOAEL は、腎毒性に基づき 460 mg/kg 体重/日 (6,200 ppm(力価)) と考えられた。

(5) 6 か月間亜急性毒性試験 (ラット)

ラット (Wistar 系、雌雄各 30 匹/群) にアプラマイシンを 6 か月間混餌投与 (0、1,000、2,500 又は 5,000 ppm(力価) : 雄で 0、69、170 又は 343 mg/kg 体重/日、雌で 0、77、191 又は 388 mg/kg 体重/日、対照として無投与群を設定) し、亜急性毒性試験が実施された。雌雄各 4~6 匹/群を投与開始 4 週後に、雌雄各 10 匹/群を投与開始 29~30 週後に剖検した。

死亡例はみられず、摂餌量、体重増加量及び尿検査に影響はみられなかった。

一般状態では、全投与群で水分の多い、暗色の軟便が用量相関的に飲水量の増加に伴ってみられたが、抗生物質の大量投与による腸内細菌叢の変化によるものと考えられた。

血液学的検査では、最初の 1 か月間に 5,000 ppm(力価)投与群の雄で RBC、Hb 及び Ht が低値を示したが、最終投与時には解消された。最終投与後には、5,000 ppm(力価)投与群の雌で好中球数が減少した。

血液生化学的検査では、5,000 ppm(力価)投与群で血清中 GDH が増加した。

臓器重量では、5,000 ppm(力価)投与群の雄で腎臓の絶対及び相対重量がより低値を示したが病理組織学的変化はみられなかった。(参照 3、4) [承認申請書 CONFIDENTIAL、p160] [FAS66-2.2.2(b)、p197]

本試験における NOAEL は、血液学的検査及び血液生化学的検査所見に基づき 2,500 ppm(力価) (雌雄それぞれ 191 及び 170 mg/kg 体重/日) と考えられた。

専門委員コメント

NOAEL は上記より 2,500ppm で良いかと思いますが、全投与群でみられた一般状態(軟便)について追記すべきと思われます。

(6) 14 日間亜急性毒性試験 (イヌ)

イヌを用いたアプラマイシンの 14 日間経口投与 (250、1,250 及び 1,600 mg(力価)/kg 体重/日) 試験を実施した。

死亡例はみられなかった。全例に体重減少を伴う食欲不振が観察され、1,600 mg(力価)/kg 体重/日群では嘔吐及び黒色糞がみられた。ネフローゼが全例にみられ、その程度は 250 mg(力価)/kg 体重/日群の非常に軽度なことから 1,600 mg(力価)/kg 体重/日群の中等度又は重篤なものまで広範囲にわたった。(参照 7) [NADA 106-964、p247]

(7) 3 か月間亜急性毒性試験 (イヌ)

イヌ (ビーグル種、雌雄各 3 匹/群) に硫酸アプラマイシンを 3 か月間経口投与 (0、5、10 又は 25 mg/kg 体重/日、カプセル投与、対照として無投与群を設定) し、亜急性毒性試験が実施された。

死亡率、一般状態、体重増加量、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、骨髄/赤血球比、及び剖検及び病理組織学的検査に影響を及ぼさなかった。

臓器重量では、25 mg/kg 体重/日投与群で腎臓、心臓及び精巣重量が対照群に比べて増加した。これらの変化は明らかではあったが、背景対照値と有意差はみられなかった。

(参照 3、4) [承認申請書 CONFIDENTIAL、p158] [FAS66-2.2.2(c)、p197]

本試験における NOAEL は、最高用量である 25 mg/kg 体重/日（アプラマイシンとして 13 mg(力価)/kg 体重/日）と考えられた。

事務局：本評価書案における最小の NOAEL となりますが、本試験の最高用量となりますので、毒性学的 ADI の設定は次のイヌの 6 か月間亜急性毒性試験の NOAEL を採用する案としています。

(8) 6 か月間亜急性毒性試験（イヌ）

イヌ（ビーグル種、雌雄各 6 匹/群）に硫酸アプラマイシンを 6 か月間経口投与（アプラマイシンとして 0、25、50 又は 100 mg(力価)/kg 体重/日、カプセル投与、~~対照として無投与群を設定~~）し、亜急性毒性試験が実施された。雌雄各 4 匹/群は 6 か月で試験を終了し、雌雄各 2 匹/群は最終投与後 3 か月の回復期間を設けた。

体重では、100 mg(力価)/kg 体重/日投与群の雌雄で増加抑制がみられたが、死亡例はなかった。

一般状態では、100 mg(力価)/kg 体重/日投与群の 1 例が投与期間中に食欲減退を示し、回復期間中に食欲不振を示~~が~~進~~進~~した。~~が~~この動物は、体重減少及び衰弱のため結果、投与開始 236 日後に安楽死~~させ~~した。50 mg(力価)/kg 体重/日投与群の 1 例及び 100 mg(力価)/kg 体重/日投与群の 4 例が、投与開始 3～5 か月の間、雑音刺激に反応しなかったが、最終投与後には全例が回復した。投与群のほとんど全例に軟便が発症したが、これはイヌにおける毒性影響というより腸内細菌叢に対する影響の結果と考えられた。

血液学的検査では、投与期間中 50 mg(力価)/kg 体重/日以上投与群の雌雄で常に RBC の低値を示したが、用量相関性はなく、検査を実施した 3/8 例のみ 8 回の測定中 3 回のみに統計学的有意差がみられた。

血液生化学的検査、尿検査、臓器重量及び病理学的検査（近位尿細管の電子顕微鏡検査を含む）に変化はみられなかった。（参照 3、4）[承認申請書 CONFIDENTIAL、p160～161] [FAS66-2.2.2(c)、p197～198]

本試験における NOAEL は、体重増加抑制-RBC の低下に基づき ~~50~~25 mg(力価)/kg 体重/日と考えられた。

事務局：アプラマイシンの ADI 設定根拠の NOAEL となります。

EMA では、この試験の記述はありませんが、毒性学的 ADI の根拠として「イヌを用いた 6 か月間亜急性毒性試験における軽度の貧血及び軽度の臓器重量の変化から NOAEL 25 mg/kg 体重」を設定しています。

RBC の低値を毒性影響と考えた場合は、NOAEL は 25 mg(力価)/kg 体重/日となります。

専門委員コメント①

「8 回のうち 3 回」の意味のようにもとれますので、原文の再確認をお願い致します

専門委員コメント②

限定的な血液学的検査の結果については毒性影響とするか否か判断する明確な根拠はありませんが、安全サイドに立った場合、NOAEL は 25 とすべきと考えます。

6. 慢性毒性及び発がん性試験

(1) 1 年間慢性毒性試験 (イヌ)

イヌ (ビーグル種、雌雄各 4 匹/投与群、雄 5 匹及び雌 4 匹/対照群(無投与)) にアプラマイシンを 1 年間経口投与 (25、50 又は 100 mg(力価)/kg 体重/日、カプセル投与) し、慢性毒性試験が実施された。

死亡率、一般状態、眼科学的検査、聴覚反応、体重増加量、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、剖検及び病理組織学的検査が実施された。

血液学的検査で ~~パラメータ~~に有意な変化が認められたが、一時的な変化単発的な値である、用量相関性が無い、後続の検査測定時点で変化がみられない等の理由からアプラマイシン投与に起因するものではないと判断された。

専門委員コメント

6 か月のイヌの試験での RBC 変化と、以下で M/E 比に言及していることから何か繋がりがるように思われます。

骨髓検査では、M/E 比 (骨髓系細胞と赤芽球の比) に有意な変化はみられなかった。

臓器重量では、100 mg(力価)/kg 体重/日投与群の雄で病理組織学的変化はみられなかったが副腎重量が増加した。~~が、病理組織学的変化はみられなかった。~~

他のパラメータの統計学的解析から、有意な悪性有害影響はみられなかった。

(参照 4、8) [FAS66-2.2.2(c), p198] [NADA 126-050, p251~251]

本試験における NOAEL は、最高用量である ~~100~~ 50mg(力価)/kg 体重/日と考えられた。

事務局：FDA はこの試験の NOAEL を毒性学的 ADI の根拠としています。

EMA は NOAEL を 50 mg(力価)/kg 体重/日としています。

(2) 2 年間慢性毒性/発がん性併合試験 (マウス)

マウス (B6C3F₁、雌雄各 60 匹/群) にアプラマイシンを 2 年間混餌投与 (0、1,500、5,000、15,000 又は 45,000 ppm(力価) : 雄で 0、189、623、1,928 又は 7,183 mg/kg 体重/日、雌で 0、213、668、2,043 又は 7,570 mg/kg 体重/日、~~対照として無投与群を設定~~) し、慢性毒性/発がん性併合試験が実施された。

死亡率及び一般状態に毒性影響はみられなかった。

体重は、5,000 ppm 以上投与群の雌及び 45,000 ppm 投与群の雄において、平均体重及び累積体重増加量 (cumulative body weight gain) の有意な低値がみられた。1,500 ppm 投与群の雄においては、一過性の軽度の累積体重増加量の低値がみられた。試験

1 期間後半では、平均体重は 1,500 ppm 投与群の雌雄ともに対照群と同様であった。血
2 液学的検査では、45,000 ppm(力価)投与群の雌雄で Hb 及び Ht の増加、雌で RBC の
3 増加、雄でリンパ球数のわずかな減少及び好中球数の増加がみられた。

4 血液生化学的検査では、5,000 ppm(力価)以上投与群の雌で血清中 ALP が増加し、
5 45,000 ppm(力価)投与群の雌雄で血清中 Glu が減少し、BUN が増加した。

6 臓器重量及び剖検所見に投与の影響はみられなかった。

7 病理組織学的検査では、5,000 ppm 以上投与群の雌雄で腎皮質尿細管上皮~~を含む~~
8 細胞質~~内好塩基性斑の~~に用量相関的な~~好塩基球~~増加が明らかであった。

9 良性及び悪性腫瘍は投与群において散発的に発生し、45,000 ppm 群では雌雄共に悪
10 性及び悪性/良性腫瘍の発生率は低かった。また、45,000 ppm 群の雌では、悪性リンパ
11 ~~肉腫~~の発生数が著しく減少した。(参照 3、4、8) [承認申請書 CONFIDENTIAL p162~164]、
12 [FAS66-2.2.3(a)、p199] [NADA 126-050、p254~256]

13 1,500 ppm 投与群でみられた体重増加抑制は一過性のもので、試験期間の後半では
14 対照群と同様であったことから毒性影響とはせず、5,000ppm 以上投与群でみられた体
15 重増加抑制、血清中 ALP の増加、腎皮質尿細管上皮細胞質~~の~~好塩基~~性斑球~~の増加等の
16 影響から、本試験における NOAEL を 1,500 ppm(力価) (雄で 189 mg/kg 体重/日、雌
17 で 213 mg/kg 体重/日) と判断した。発がん性はみられなかった。

18 専門委員コメント

19 「細胞質好塩基性化」でもよいです。
20
21
22

23 (3) 2 年間慢性毒性/発がん性併合試験 (ラット)

24 ラット (Fischer344 系、雌雄各 50 匹/投与群、雄 59 匹及び雌 61 匹/対照群(無投与))
25 にアプラマイシンを 2 年間混餌投与 (2,500、5,000、10,000 又は 50,000 ppm(力価) :
26 雄で 124、245、488 又は 2,772 mg/kg 体重/日で、雌で 154、301、610 又は 3,451 mg/kg
27 体重/日) し、慢性毒性/発がん性併合試験が実施された。被験動物には、同様の飼料を
28 3 か月間投与された動物由来の兎動物を用いた。

29 死亡率、聴覚反応、摂餌量、血液学的検査、血液生化学的検査及び病理組織学的検査
30 に投与の影響はみられなかった。

31 体重では、50,000 ppm(力価)投与群の雌雄で増加抑制がみられた。

32 臓器重量では、50,000 ppm(力価)投与群の雌雄で肝臓及び腎臓重量が減少した。

33 腫瘍発生率に投与の影響はみられなかった。(参照 3、4、8) [承認申請書 CONFIDENTIAL
34 p164~166][FAS66-2.2.3(a)、p199] [NADA 126-050、p253~254]

35 本試験の NOAEL は、体重増加抑制及び臓器重量の減少に基づき 10,000 ppm(力価)
36 (雌雄それぞれ 610 及び 488 mg/kg 体重/日) と考えられた。発がん性はみられなかつ
37 た。
38

7. 生殖発生毒性試験

(1) 多世代生殖毒性試験（ラット）

ラット（Fischer344 系、雌雄各 25 匹/群）に~~アプラマイシンを~~四世代にわたりアプラマイシンを混餌投与（0、2,500、5,000 又は 10,000 ppm(力価)：0、194、388 又は 785 mg/kg 体重/日、~~対照として無投与群を設定~~）し、多世代生殖毒性試験が実施された。F₁ 世代は、~~最初~~3 群（F_{1a}、F_{1b} 及び F_{1c}）が設定されたが、F_{1a} は全群において生存率が低かったため安楽死され、F_{1b} は慢性毒性及び発がん性試験に割り付けられ、F_{1c} は F₂ 世代作出のため飼育された。F₂ を 2 回交尾させ、得られた F_{3a} 児は離乳まで哺育させ、F_{3b} 妊娠動物は妊娠 20 日に胎児を検査した。

親動物では、死亡率、一般状態、体重増加、受胎率及び妊娠期間に投与の影響はみられなかった。

児動物では、同腹産児数、出生児時体重及び性比、哺育中の体重増加及び生存死亡率、並びに外表、内臓及び骨格に投与の影響はみられなかった。（参照 4、5、8）[FAS66-2.2.5(a)、p200] [EMA 8、p219] [NADA 126-050、p252~253]

本試験における NOAEL は、最高用量である 10,000 ppm（785 mg/kg 体重/日）と考えられた。

(2) 生殖毒性試験（豚）

豚（ヨークシャー種又は交雑種（ハンプシャー種×ヨークシャー種）、雄 1 頭及び雌 17 頭）に硫酸アプラマイシンを飲水投与（アプラマイシンとして 0 又は 0.53 g(力価)/L：雄で 0 又は 4 g/頭/日、雌で 0 又は 23.4~35.5 mg/kg 体重/日、~~対照として無投与群を設定~~）し、生殖毒性試験が実施された。雄には、人工授精用の精子採取 5 日前より投与を開始し、雌では、人工授精期間の後 7 日間、妊娠 21~28 日、又は授乳 1~7 日に投与した。

妊娠率、同腹産児数、出生児時体重、並びに児動物の生後 14 日までの生存死亡率及び体重増加量は、いずれの群でも同様であった。（参照 4）[FAS66-2.2.5(b)、p201]

(3) 発生毒性試験（ラット）

ラット（Wistar 系、25 匹/群）の妊娠 6~15 日にアプラマイシンを強制経口投与（0、250、500 又は 1,000 mg(力価)/kg 体重/日、~~対照として無投与群を設定~~）し、発生毒性試験が実施された。~~被験~~動物は、妊娠 20 日に検査した。

母動物では、死亡例はみられず、摂餌量及び体重増加量に投与の影響はみられなかった。着床数、吸収胚数及び死亡胎児数に群間の違いはなかった。

胎児では、性比、体重、並びに外表、内臓及び骨格異常の発生に投与の影響はみられなかった。

いずれの投与量においても、母体毒性、胎児毒性及び催奇形性の証拠はみられなかった。（参照 3、4、5）[承認申請書、p43、CONFIDENTIAL、p167] [FAS66-2.2.5(c)、p201] [EMA9、p219]

本試験における NOAEL は、最高用量である 1,000 mg/kg 体重/日と考えられた。催奇形性はみられなかった。

(4) 発生毒性試験（ウサギ）＜参考データ＞

ウサギ（Dutch Belted 種、15 匹/群）の妊娠 6～18 日にアプラマイシンを強制経口投与（0、2、8 又は 32 mg(力価)/kg 体重/日、~~対照として無投与群を設定~~）し、発生毒性試験が実施された。~~被験~~動物は、妊娠 28 日に検査した。

母動物では、全投与群で摂餌量減少を伴う体重増加抑制がみられ、流産する動物数が用量相関的に増加した。流産した動物の大部分では、消化管に内容物がみられなかった。~~流産をしなかった残りの動物では、着床数及び死亡胎児数には群間に差はなかった。同様であった。~~胚吸収数は 32 mg(力価)/kg 体重/日投与群で増加した。

胎児では、~~32 mg(力価)/kg 体重/日投与群で胎児体重の減少が用量相関的に観察された。減少し、また、32 mg(力価)/kg 体重/日投与群で~~両側性の第 13 肋骨の発生率が増加した。~~胎児奇形、並びに~~外表及び~~内臓内部~~異常の発現率に、投与の影響はみられなかった。

母体毒性は、抗生物質を投与されたウサギの腸内細菌叢が特に感受性が高いことに関連していると考えられた。（参照 4） [FAS66-2.2.5(c), p201]

抗生物質に対しウサギの腸内細菌叢の感受性が非常に高いこと及び胎児でみられた投与の影響は母体に対する影響の二次的影響であると考えられることから、アプラマイシンの母体及び胎児毒性について NOAEL を設定することはできないと考えられた。

8. 対象動物を用いた安全性試験

(1) 5 日間安全性試験（牛）

牛（ホルスタイン種、雌雄各 5 頭/群）に硫酸アプラマイシンを代用乳に混じて 5 日間投与（アプラマイシンとして 0、20、40、80 又は 120 mg(力価)/kg 体重/日、~~対照として無投与群を設定~~）した。投与群の全例が試験期間中臨床上異常はみられなかった。死亡率、体重増加、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、臓器重量及び病理検査に投与の影響はみられなかった。（参照 4） [FAS66-2.2.2(f), p199]

(2) 28 日間安全性試験（豚①）

子豚（4 週齢、雌雄各 5 頭/群）を用いた硫酸アプラマイシンの 28 日間混餌投与（0、100、300 及び 500 ppm、~~対照として無投与群を設定~~）試験を実施した。

試験期間中、対照群の 1 例（投与開始 28 日に死亡）を除いて死亡例はみられなかった。下痢の徴候はみられず、体重は、投与群では対照群と同等かそれ以上増加した。臓器重量に毒性を示唆するような変化はみられなかった。血液学的及び血液生化学的検査及び尿検査において有意差のみられる所見が散見されたが、いずれもわずかな変化であり、用量依存性がない、散発性である等の理由から投与に起因する影響とはみなされなかった。病理組織学的検査でみられた変化は投与群及び対照群に散見され、投与に起因した有害影響ではないと考えられた。（参照 4、8） [FAS66-2.2.2(e), p198] [NADA126-050, p275~277]

(3) 28日間安全性試験（豚②）

離乳豚にアプラマイシンを28日間飲水投与（0、0.2、0.6又は0.9 g(力価)/L、~~対照として無投与群を設定~~）し、亜急性毒性試験が実施された。投与に起因する死亡率、一般状態、体重増加、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、臓器重量及び病理検査の影響はみられなかった。（参照 4、8）[FAS66-2.2.2(e)、p198] [NADA126-050、p274]

(4) 安全性試験（鶏）

鶏（肉用鶏(コブ)、22～36日齢、雌雄各60羽/群）に硫酸アプラマイシンを飲水投与（0、500、1,500又は2,500 mg/L、投与期間不明、~~対照として無投与群を設定~~）し、亜急性毒性試験が実施された。被験動物は37～44日齢時にと殺した。

死亡率、一般状態、体重増加、摂餌量、血液学的検査、血液生化学的検査、臓器重量及び病理学的検査に投与の影響はみられなかった。（参照 4）[FAS66-2.2.2(d)、p198]

9. 微生物学的影響に関する試験

(1) 臨床分離菌に対するMIC（ヒト由来①）

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影響調査（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アプラマイシンの約 5×10^6 CFU/spotにおけるMICが調べられている（表9）。

表9 アプラマイシンのMIC₅₀

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

であり、MIC_{calc}²⁾は 20.132 µg/mL (0.02 mg/mL) であった。(参照 9) [H18 年度調査事業、p281~302]

(2) 臨床分離菌に対する MIC (ヒト由来②)

ヒト糞由来の正常腸内細菌叢の代表的 10 菌種各 10 株の分離菌、計 100 菌株 (*Bifidobacterium*、*Eubacterium*、*Clostridium*、*Bacteroides fragilis*、他の *Bacteroides* sp. (非 *fragilis*)、*Fusobacterium*、*Peptostreptococcus*、*Lactobacillus*、*Enterococcus* 及び *E. coli*) について、標準寒天希釈法によりアプラマイシンの MIC が調べられた。使用された検体は、採取前 4 週間に下痢の徴候はなく、検体採取前 3 か月間は抗生物質による治療歴のないヒトボランティア由来のものであった。結果を表 10 に示した。

表 10 ヒトボランティアの糞由来の代表的菌種に対するアプラマイシンの MIC

菌種	アプラマイシンの MIC のパラメータ (µg/mL)			
	範囲	MIC ₅₀	MIC ₉₀	幾何平均 MIC
<i>Bifidobacterium</i> sp.	>128	>128	>128	>128
<i>Eubacterium</i> 及び関連した菌種	4~>128	16	>128	26
<i>Clostridium</i> sp.	>128	>128	>128	>128
<i>Bacteroides fragilis</i>	>128	>128	>128	>128
非 <i>fragilis</i> の <i>Bacteroides</i> sp.	>128	>128	>128	>128
<i>Fusobacterium</i> sp.	2~>128	16	>128	34
<i>Peptostreptococcus</i> sp.	2~>128	16	128	13
<i>Lactobacillus</i> sp.	32~128	64	64	60
<i>Enterococcus</i> sp.	32~128	32	64	37
<i>Escherichia coli</i>	4~8	4	4	4.3
全菌株 (n=100)	2~>128	128	>128	44

アプラマイシンの活性は *E. coli* では明らかに示された (MIC₅₀=4 µg/mL)。アプラマイシンは、*Bifidobacterium*、*Clostridium*、*Bacteroides fragilis* 及び非 *fragilis* の *Bacteroides* sp. では、測定可能な抗菌活性は示さなかった。アプラマイシンは、*Lactobacillus* (MIC₅₀=64 µg/mL)、*Enterococcus* (MIC₅₀=32 µg/mL)、*Fusobacterium* (MIC₅₀=16 µg/mL)、*Eubacterium* (MIC₅₀=16 µg/mL) 及び *Peptostreptococcus* (MIC₅₀=16 µg/mL) に対しては、比較的活性が弱かった。

本試験における MIC_{calc} は、8.3µg/mL (0.0083 mg/mL) であった。(参照 4) [FAS66-2.2.6(e)、p203~207]

(3) 臨床分離菌に対する最小発育阻止濃度 (MIC) (豚由来)

豚由来の大腸菌及びサルモネラの臨床分離株に対するアプラマイシンの MIC は表 11

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

のとおりであった。(参照 3) [\[承認申請書添付資料 p52~52\]](#)

表 11 豚由来大腸菌及びサルモネラに対するアプラマイシンの MIC (μg (力価)/mL)

菌種	MIC ₅₀	範囲
大腸菌	3.13	1.56~25
サルモネラ	6.25	3.13~12.5

10. ヒトにおける知見

アプラマイシンはヒト用医薬品として使用されておらず、ヒトに対する影響のデータは得られていない。(参照 4) [\[FAS66-2.3, p207\]](#)

11. 一般薬理試験

(1) 各種摘出組織における反応

アプラマイシン (10^{-8} ~ 10^{-5} mol/L) の薬理学的活性について、モルモットの回腸、気管及び心房、並びにラットの大動脈、輸精管及びエストロゲン処理した子宮の摘出組織を用いて調べられた。平滑筋及び心筋組織は 37°C の *Kreb* の重炭酸溶液(回腸、気管、大動脈、心房及び輸精管) 又は室温の *Jalon* の溶液(子宮) に吊り下げ、酸素 95 % と二酸化炭素 5 % で通気した。

モルモットの心臓の自発拍動が、 10^{-5} mol/L ($5.4 \mu\text{g}$ (力価)/mL) の濃度でわずかに増加 (4 %) したが、他の組織ではアゴニスト活性はみられなかった。アプラマイシンは 10^{-5} mol/L の濃度でモルモットの回腸のカルバミルコリン (コリン作動薬) に対する反応をわずかの増強し、ラットの大動脈のフェニレフリン (交感神経様作用 α 作動薬) に対する反応をわずかに阻害した。モルモットの回腸におけるヒスタミンに対する反応、ラットの輸精管におけるノルエピネフリンに対する反応、ラットの子宮におけるオキシトシンに対する反応、モルモットの気管におけるイソプロテレノールに対する反応に変化はみられず、アプラマイシンは、ムスカリン、ヒスタミン H_1 又は β アドレナリン作動性の各受容体を遮断しないことが示唆された。(参照 4) [\[FAS66-2.2.6\(d\), p202~203\]](#)

(2) 前脛骨筋の攣縮反応 (ラット)

麻酔したラットにアプラマイシンを単回静脈内投与 (25 mg/kg 体重)、又は単回強制経口投与 (250 又は 400 mg/kg 体重) した。坐骨神経を刺激することで生じる前脛骨筋のれん縮反応はいずれの投与量でも影響がみられず、神経筋接合部に作用しないことが示唆された。陽性対照のツボクラリンでは反応がみられた。(参照 4) [\[FAS66-2.2.6\(d\), p203\]](#)

(3) 心臓及び肺への影響 (イヌ)

麻酔したイヌにアプラマイシンを静脈内投与 (累積投与量として 4、8、12、16 又は 20 mg(力価)/kg 体重、対照群には生理食塩液を投与) した。8 mg/kg 体重以上投与群で平均動脈血圧が上昇したが、4 mg/kg 体重投与群では上昇しなかった。対照群では心拍数が減少したが、8 mg/kg 体重以上投与群では維持された。これらの変化は、フェノキ

シベンザミン (α 受容体拮抗作動薬) 又はプロパラノール (β 受容体拮抗作動薬) で前
処理した動物ではみられず、アプラマイシンにわずかな交感神経様反応があることが示
唆された。心電図、心拍出量、1 回仕事量、血管抵抗、呼吸に関するパラメータ及び血
液ガスについては、いずれの投与量でも変化はみられなかった。(参照 4) [FAS66-2.2.6(d)、
p203]

12. その他の試験

(1) 皮膚刺激性試験 (ウサギ)

硫酸アプラマイシンをウサギの皮膚に適用 (2,000 mg/kg 体重(アプラマイシンとし
て 1,040 mg(力価)/kg 体重)) し、14 日間観察した結果、無傷、有傷にかかわらず死亡
例はみられなかった。投与に起因する影響として、適用部位の軽微な一過性の紅斑のみ
が認められ、この紅斑は適用 5 日後には消退した。(参照 3) [承認申請書 CONFIDENTIAL、
p156]

(2) 眼刺激性試験 (ウサギ)

硫酸アプラマイシンをウサギに点眼 (36 mg/匹(アプラマイシンとして 19 mg(力価)/
匹)) した結果、6 例中 2 例に軽度の結膜発赤が発現した。この所見は投与 48 及び 96
時間後には回復した。(参照 3) [承認申請書 CONFIDENTIAL、p156~157]

(3) 皮膚感作性試験 (モルモット)

モルモットを用いてアプラマイシンを主成分とする (73%(力価)) 薬剤の 40w/v%水
溶液による遅発性過敏症試験を実施した。0.1 mL を 3 週間にわたり週に 3 回適用し、2
週間の休薬後、5 週目に抗原投与した。その結果、アプラマイシンに遅発性過敏症は観
察されなかった。(参照 3) [承認申請書 CONFIDENTIAL、p157]

(4) 腸管刺激性試験 (豚)

豚 (品種不明、雄 4 頭又は雌 6 頭/群) に硫酸アプラマイシンを 5 週間混餌投与 (0
又は 110 ppm、~~対照として無投与群を設定~~) した。死亡率、体重増加量及び消化管の剖
検所見に影響はみられなかった。(参照 4) [FAS66-2.2.6(a)、p202]

豚 (雌雄、体重 10.9~16.8 kg) を用いて、ラウリル硫酸ナトリウム (SLS)、硫酸ア
プラマイシン (AS) 又はラウリル硫酸アプラマイシン (ALS) の 5 週間混餌投与 (それ
ぞれ 300、100 又は 100 ppm) 試験を実施した。なお、基礎飼料投与群を対照群とした。

剖検の結果、腸管内の炎症は投与群と同様に対照群でもみられたことから、SLS、
AS 及び ALS の混餌投与で豚に腸管内の有害反応は起こさないと考えられた。(参照 3、
8) [承認申請書 CONFIDENTIAL、p151]、[NADA126-050、p271~272]

(5) 腎毒性試験 (ラット)

ラット (SD 系、雌 24 匹/群) に硫酸アプラマイシン (0.2、1、2、5、10 又は 50 mg/kg
体重/日) を 0.9%生理食塩水溶液として強制経口投与 (対照群は 0.9%生理食塩水溶液の

みを投与) し、5 時間蓄尿し検査した。

50 mg/kg 体重/日投与群では、Na、K、Cl 及び Cre がより高濃度になり、浸透圧が上昇し、尿量が 38%減少した。しかし、排泄された各電解質及び Cre の絶対量のに有意な変化はみられなかった。(参照 4) [FAS66-2.2.6(b)、p202]

専門委員コメント

電解質と Cre の増加傾向はあったが、有意な変化ではなかった、という意味でしょうか？

(6) 聴神経毒性試験 (豚)

豚 (品種不明、雌雄各 5 頭/群) にアプラマイシンを 8 週間混餌投与 (110 ppm(力価) 及び対照群(無投与)) した。投与終了前に、被験動物に電気ショックを回避する聴覚反応を条件づけた。投与群でこの条件反応の変化はみられなかった。(参照 4) [FAS66-2.2.6(c)、p202]

III. 食品健康影響評価

1. 国際機関等における評価

(1) JECFA における評価

JECFA では、イヌを用いた 6 か月間亜急性毒性試験における体重増加抑制から NOAEL 50 mg/kg 体重/日を設定し、安全係数 100 を適用し、毒性学的 ADI 0.5 mg/kg 体重/日が設定された。また、微生物学的 ADI については、ヒト臨床分離菌の MIC 試験 (II.9.(2)) から得られた MIC_{calc} 8.3 µg/mL に、アプラマイシンがほとんど吸収されず主に未変化体として糞中に排泄されることから、腸内細菌に利用される経口分画に 1 を適用し、VICH の算定式により以下のとおり算出された。

$$\text{ADI} = \frac{0.0083 \text{ (mg/mL)}^{*1} \times 220^{*2}}{1^{*3} \times 60^{*4}} = 30 \text{ µg/kg 体重/日}$$

*1 : 試験薬に活性のある最も関連のある属 (MIC₅₀ が 32 µg/mL 以下の菌種 : *E.coli*、*Enterococcus* sp.、*Fusobacterium* sp.、*Peptostreptococcus* sp. 及び *Eubacterium* sp.) の平均 MIC₅₀ の 90%信頼限界の下限值

*2 : 結腸内容物 (g)

*3 : 経口用量として生物学的に利用可能な比率 (アプラマイシンがほとんど吸収されず主に未変化体として糞中に排泄されることから 1 とした。)

*4 : ヒト体重 (kg)

アプラマイシンの ADI としては、毒性学的な影響より微生物学的影響を考慮する方が

適切であると考えられ、定着障壁³の崩壊のデータに基づき、ADI として 0～30 µg/kg 体重/日（有効数字 1 桁）と設定された。（参照 4）[FAS66-3.2、p210~211、3.3、p211~p212、4、p212]

(2) EMEA における評価

EMEA では、イヌを用いた 6 か月間亜急性毒性試験における軽度の貧血及び軽度の臓器重量の変化から NOAEL 25 mg/kg 体重/日を設定した。また、ラットを用いた 90 日間亜急性毒性試験でもほぼ同様の NOAEL（雌雄それぞれ 26.1 及び 20.9 mg/kg 体重/日）が得られていることから、安全係数 100 を適用し、アプラマイシンの毒性学的 ADI として 0.25 mg/kg 体重/日と算定した。

また、ヒト及び家畜由来の細菌を用いた *in vitro* 試験で得られた最も感受性の高い *E. coli* の MIC₅₀ 8 µg/mL をもとに好気性から嫌気性の状態への変換を考慮し、微生物学的 ADI として 以下のとおり算定された。（参照 5）[EMEA14、15、p219~220]

$$\text{ADI} = \frac{\frac{8^{*1} \times 2^{*2}}{1^{*3}} \times 150^{*4}}{1^{*5} \times 60^{*6}} = 40 \text{ } \mu\text{g/kg 体重/日}$$

*1：好気性条件下で最も感受性の高い *E. coli* の MIC₅₀

*2：好気性条件下から嫌気性条件下への変換を考慮した値：2

*3：最も感受性が高く関連性のある細菌が用いられたことから 1

*4：結腸内容物 (g)

*5：経口用量として生物学的に利用可能な比率（アプラマイシンがほとんど吸収されず主に未変化体として糞中に排泄されることから 1 とした。）

*6：ヒト体重 (kg)

EMEA では、アプラマイシンの ADI として 40 µg/kg 体重/日が設定された。

(3) FDA における評価

FDA では、ADI を設定するにあたっては、各種毒性学的試験からイヌの 1 年間慢性毒性試験における NOAEL（100 mg/kg 体重/日）を用いることが妥当であると判断し、安全係数 100 で除して、ADI として 1 mg/kg 体重/日を設定した。しかしながらこの値は CVM により設定された微生物学的 ADI（0.025 mg/kg 体重/日）を超えるものであり、FDA では、アプラマイシンの ADI として 25 µg/kg 体重/日が設定されている。（参照 8）[NADA126-050、p256~257]

³ 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。

2. 毒性学的 ADI について

アプラマイシンについては、in vivo の小核試験は行われていないが、各種その他の遺伝毒性試験の結果がいずれも陰性であり、慢性毒性/発がん性併合試験でも発がん性が認められなかったことから、遺伝毒性発がん物質ではないと考えられ、ADI を設定することが可能であると考えられた。

各種毒性試験において得られた最も低い NOAEL はイヌを用いた 3 か月間亜急性毒性試験における 13 mg/kg 体重/日であった。しかしながら、当該 NOAEL は試験の最高用量であったことから、より高用量で行われた 6 か月間亜急性毒性試験でみられた、体重増加抑制 RBC 低下の NOAEL ~~2550~~ mg/kg 体重/日を毒性学的 ADI の根拠として採用することが妥当であると判断され、安全係数として、種差 10、個体差 10 に、遺伝毒性試験の一部が行われていないことの 10 を追加した 1,000 を適用し、アプラマイシンの毒性学的 ADI は 0.025 mg/kg 体重/日と考えた。

事務局：6 か月間亜急性毒性試験の NOAEL 及び安全係数の採用により、ADI 値は 0.025、0.05、0.25 及び 0.5 の 4 つが考えられ、最小値の 0.025 の場合は微生物学的 ADI よりも小さくなります。

3. 微生物学的 ADI について

微生物学的影響については、VICH ガイドラインに基づく試算を行うに足る詳細な知見として、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」から得られた MIC_{calc} 0.02mg/mL、又は JECFA の MIC 試験から得られた MIC_{calc} 0.0083 mg/mL を基に微生物学的 ADI を算出することができる。本調査会においては、より 新しい知見であること安全性を確保する観点から、JECFA の試験から得られた MIC_{calc} を基に微生物学的 ADI を算出することとした。

細菌が暴露される分画はアプラマイシンがほとんど吸収されず主に未変化体として糞中に排泄されることから 1、結腸内容物に 220 g/日、ヒト体重に 60 kg を適用し、VICH の算出式により、ADI を算出すると、以下のとおりとなる。

$$\text{ADI (mg/kg 体重/日)} = \frac{0.0083 \text{ (mg/mL)}^{*1} \times 220^{*2}}{1^{*3} \times 60^{*4}} = 0.0\text{393} \text{ mg/kg 体重/日}$$

*1：試験薬に活性のある最も関連のある属（MIC₅₀ が 32 µg/mL 以下の菌種： *E.coli*、*Enterococcus* sp.、*Fusobacterium* sp.、*Peptostreptococcus* sp. 及び *Eubacterium* sp.）の平均 MIC₅₀ の 90%信頼限界の下限值

*2：結腸内容物（g）

*3：経口用量として生物学的に利用可能な比率（アプラマイシンがほとんど吸収されず主に未変化体として糞中に排泄されることから 1 とした。）

*4：ヒト体重（kg）

4. ADI の設定について

事務局：毒性学的 ADI の NOAEL 及び安全係数の取捨により、結論が異なることになります。
以下にそれぞれの案を示します。

① 案

毒性学的 ADI が 0.025 (NOAEL25、安全係数 1,000) の場合

毒性学的 ADI (0.025 mg/kg 体重/日) は、微生物学的 ADI (0.03 mg/kg 体重/日) より小さいため、アプラマイシンの ADI としては、次の値を採用することが適当と考えられる。

② 案

毒性学的 ADI が 0.5 (NOAEL50、安全係数 100)、0.05 (NOAEL50、安全係数 1,000) 及び 0.25 (NOAEL25、安全係数 100) の場合

微生物学 ADI (0.0303 mg/kg 体重/日) は毒性学的 ADI (0.5 (または 0.05、0.25) mg/kg 体重/日) よりも小さいことから、アプラマイシンの ADI としては、次の値を採用することが適当と考えられる。

アプラマイシン 0.025 (または 0.0303) mg/kg 体重/日

暴露量については、当該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とする。

1

2 表 12 JECFA 及び EMEA における各種試験の無毒性量等の比較

動物種	試験	投与量 (mg/kg 体重/日)	NOAEL (mg/kg 体重/日)	
			JECFA	EMEA
マウス	2 年間慢性毒性/発がん性併合試験	アプラマイシン 0、1,500、5,000、 15,000、45,000 ppm 雄：0、189、623、 1,928、7,183 雌：0、213、668、 2,043、7,570 (混餌投与)	雄：189 雌：213 (1,500 ppm) 体重増加抑制、腎皮質尿管上皮を含む細胞質の好塩基球増加	— 0.15 % (最低用量) 投与群で体重増加抑制 発がん性なし
ラット	1 か月間亜急性試験	アプラマイシン 0、10,000、25,000、 50,000 ppm (混餌投与)	— 検査項目が不十分なため設定不可	記載なし
	3 か月間亜急性毒性試験	硫酸アプラマイシン 0、200、400、1,000 ppm 雄：0、11、21、50 雌：0、13、26、63 (混餌投与) 雄：1.040 雌：1.359 (飲水投与)	アプラマイシンとして 雄：26 雌：33 (1,000 ppm) 毒性影響なし	雄：20.9 雌：26.1 軽度の貧血、下痢、腎臓毒性 3～6 か月間投与試験 3 試験の結果を総合的に判断した。
		アプラマイシン 0、1,800、2,750、 6,200、10,000 ppm 雄：0、129、198、 460、738、雌：0、 153、228、556、896 (混餌投与)	雄で 460 (6,200 ppm) 腎毒性	
		アプラマイシン 0、1,000、2,500、 5,000 ppm 雄：0、69、170、343 雌：0、77、191、388 (混餌投与)	雄：170 雌：191 (2,500 ppm) 雄で RBC、Hb、Ht の一過性の低値 雌で好中球数減少 血清中 GDH の増加	
	2 年間慢性毒性/発がん性	アプラマイシン 0、2,500、5,000、	雄：488 雌：610 (10,000 ppm)	雄：124 雌：154 (0.25%) 体重増加抑制、肝臓及び腎臓重

	併合試験	10,000、50,000 ppm 雄：0、124、245、 488、2,772 雌：0、154、301、 610、3,451 (混餌投与)	体重増加抑制、肝臓及び腎臓重 量減少 発がん性なし	量減少 発がん性なし
	多世代生殖毒 性試験	アブラマイシン 0、2,500、5,000、 10,000 ppm : 0、194、 388、785 (混餌投与)	785 (10,000 ppm) 毒性影響なし 生殖毒性なし	— 生殖毒性なし
	発生毒性試験	アブラマイシン 0、250、500、1,000 (強制経口投与) 妊娠 6～15 日	1,000 毒性影響なし 催奇形性なし	— 毒性影響なし 催奇形性なし
ウサギ	発生毒性試験	アブラマイシン 0、2、8、32 (強制経口投与) 妊娠 6～18 日	— 母動物：摂餌量減少、体重増加 抑制、流産増加 胎児：胎児体重減少	— 母動物：摂餌量減少、体重増加 抑制、流産増加、吸収胚増加 胎児：胎児体重減少
イヌ	3 か月間亜急 性毒性試験	硫酸アブラマイシン 0、5、10、25 (経口投与)	25 アブラマイシンとして 13 毒性影響なし	—
	6 か月間亜急 性毒性試験	0、25、50、100 (経口投与)	50 体重増加抑制	25 軽度の血液学的検査値の低値
	1 年間慢性毒 性試験	0、25、50、100 (経口投与)	100 毒性影響なし	50 軽度の血液学的検査値の低値
毒性学的 ADI			0.5 mg/kg 体重/日 SF : 100	0.25 mg/kg 体重/日 SF : 100
毒性学的 ADI 設定根拠			イヌ 6 か月間亜急性毒性試験 NOAEL : 50 mg/kg 体重/日	イヌ 6 か月間亜急性毒性試験 NOEL : 25 mg/kg 体重/日
微生物学的 ADI			30 µg/kg 体重/日	0.04 mg/kg 体重/日
微生物学的 ADI 設定根拠			ヒト腸内細菌由来菌 10 属の 幾何平均 MIC _{calc} : 8.3 µg/mL (VICH 算出式)	ヒト及び家畜由来の細菌の最も 高い MIC ₅₀ (<i>E.coli</i>) : 8 µg/mL (CVMP 算出式)
ADI			30 µg/kg 体重/日	0.04 mg/kg 体重/日

1

2 〈別紙：検査値等略称〉

略称等	名称
ADI	一日摂取許容量
ALP	アルカリホスファターゼ
ARG	オートラジオグラフィー
AUC	薬物濃度曲線下面積
BUN	血中尿素窒素
CFU	コロニー形成単位
Cl	塩素
C _{max}	最高濃度
Cre	クレアチニン
CVM	米国食品医薬品庁動物用医薬品センター
CVMP	欧州医薬品審査庁動物用医薬品委員会
EMA	欧州医薬品審査庁
FDA	米国食品医薬品庁
GDH	グルタミン酸脱水素酵素
Glu	グルコース（血糖）
HPLC	高速液体クロマトグラフィー
Hb	ヘモグロビン（血色素）量
Ht	ヘマトクリット値
JECFA	FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議
K	カリウム
LC ₅₀	半数致死濃度
LD ₅₀	半数致死量
LSC	液体シンチレーションカウンター
MIC	最小発育阻止濃度
MIC ₅₀	50%最小発育阻止濃度
MIC ₉₀	90%最小発育阻止濃度
Na	ナトリウム
NOAEL	無毒性量
NOEL	最大無作用量
RBC	赤血球数
VICH	動物用医薬品の承認審査資料の調和に関する国際協力会議

3

1
2 〈参照〉

- 3 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
4 成 17 年 11 月 29 日厚生労働省告示第 499 号）
5 2. The Merck Index, 14th Edition, 2004
6 3. 日本イーラーリリー株式会社.残留基準見直しに関する資料等. アプラマイシン
7 4. JECFA: Apramycin: Toxicological evaluation of certain veterinary drug residues in
8 food. The Seventy-fifth meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food
9 Additives (JECFA). WHO Food Additives Series, 2012; 66: 39~63
10 5. EMA: COMMITTEE FOR VETERINARY MEDICINAL PRODUCTS 、
11 APRAMYCIN,SUMMARY REPORT(2),1999;
12 6. JECFA: Apramycin: Evaluation of certain veterinary drug residues in food. The
13 seventy-fifth meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives
14 (JECFA). WHO Technical Report Series 2012; 969: 23~35
15 7. FDA: apramycin sulfate: Freedom of Information Summary, NADA 106-964, 1981
16 8. FDA: apramycin sulfate: Freedom of Information Summary, NADA 126-050, 1997
17 9. 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的
18 影響についての調査