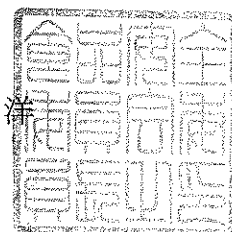




府 食 第 5 1 1 号
令和元年11月26日

厚生労働大臣
加藤 勝信 殿

食品安全委員会
委員長 佐藤 洋



食品健康影響評価の結果の通知について

平成21年3月10日付け厚生労働省発食安第0310003号をもって厚生労働大臣から食品安全委員会に意見を求められたナナフロシンに係る食品健康影響評価の結果は下記のとおりですので、食品安全基本法（平成15年法律第48号）第23条第2項の規定に基づき通知します。

なお、食品健康影響評価の詳細は別添のとおりです。

記

ナナフロシンの許容一日摂取量を 0.01 mg/kg 体重/日とする。

動物用医薬品評価書

ナナフロシン

2019年11月

食品安全委員会

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	4
○ 要約	6
I. 評価対象動物用医薬品の概要	7
1. 用途	7
2. 有効成分の一般名	7
3. 化学名	7
4. 分子式	7
5. 分子量	7
6. 構造式	7
7. 使用目的及び使用状況	7
II. 安全性に係る知見の概要	9
1. 薬物動態試験	9
(1) 薬物動態試験（ラット）	9
(2) 薬物動態試験（ラット、皮下投与）	10
(3) 薬物動態試験（牛、経皮投与）	11
2. 残留試験	11
(1) 残留試験（牛、経皮投与）	11
(2) 残留試験（泌乳牛、経皮投与）	12
(3) 残留試験（牛、経口投与）	12
(4) 残留試験（泌乳牛、経口投与）	12
3. 遺伝毒性試験	13
4. 急性毒性試験	14
5. 亜急性毒性試験	15
(1) 28日間亜急性毒性試験（Tg マウス）	15
(2) 1か月間亜急性毒性試験（ラット、皮下投与）（参考資料）	16
(3) 90日間亜急性毒性試験（ラット）	16
(4) 3か月間亜急性毒性試験（ラット、皮下投与）（参考資料）	17
6. 慢性毒性及び発がん性試験	18
7. 生殖発生毒性試験	18
(1) 生殖発生毒性試験（ラット）（参考資料）	18
8. 対象動物を用いた試験（参考資料）	18
9. その他の試験	19
(1) 皮膚刺激性試験	19

(2) 眼刺激性試験	19
10. 微生物学的影響に関する試験	19
(1) 臨床分離菌に対する MIC.....	19
III. 国際機関等における評価	20
IV. 食品健康影響評価	21
1. 毒性学的 ADI について	21
2. 微生物学的 ADI について	21
3. ADI の設定について.....	21
・ 別紙：検査値等略称	23
・ 参照	24

〈審議の経緯〉

- 2005年 11月 29日 暫定基準告示（参照1）
- 2009年 3月 10日 厚生労働大臣から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0310001号）、関係資料の接受
- 2009年 3月 12日 第277回食品安全委員会（要請事項説明）
- 2012年 10月 9日 第60回肥料・飼料等専門調査会
- 2012年 10月 31日 厚生労働省へ追加資料提出依頼
- 2013年 10月 31日 厚生労働省から追加資料送付
- 2013年 11月 19日 第79回肥料・飼料等専門調査会
- 2013年 12月 2日 厚生労働省へ追加資料提出依頼
- 2014年 4月 23日 厚生労働省から追加資料送付
- 2015年 8月 7日 第105回肥料・飼料等専門調査会
- 2016年 12月 12日 第117回肥料・飼料等専門調査会
- 2017年 2月 3日 厚生労働省へ追加資料提出依頼
- 2018年 5月 1日 厚生労働省から追加資料送付
- 2019年 3月 13日 厚生労働省から追加資料送付
- 2019年 4月 26日 第143回肥料・飼料等専門調査会
- 2019年 6月 24日 第145回肥料・飼料等専門調査会
- 2019年 8月 1日 第147回肥料・飼料等専門調査会
- 2019年 9月 24日 第758回食品安全委員会（報告）
- 2019年 9月 25日 から10月24日まで 国民からの意見・情報の募集
- 2019年 11月 20日 肥料・飼料等専門調査会座長から食品安全委員会委員長へ報告
- 2019年 11月 26日 第765回食品安全委員会（報告）
（同日付けで食品安全委員会委員長から厚生労働大臣に通知）

〈食品安全委員会委員名簿〉

（2006年12月20日まで）

寺田 雅昭（委員長）

見上 彪（委員長代理）

小泉 直子

長尾 拓

野村 一正

畑江 敬子

本間 清一

（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

*：2007年2月1日から

**：2007年4月1日から

（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

*：2009年7月9日から

(2012年6月30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

(2015年6月30日まで)

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

(2017年1月6日まで)

佐藤 洋 (委員長)
山添 康 (委員長代理)
熊谷 進
吉田 緑
石井 克枝
堀口 逸子
村田 容常

* : 2011年1月13日から

(2018年6月30日まで)

佐藤 洋 (委員長)
山添 康 (委員長代理)
山本 茂貴
吉田 緑
石井 克枝
堀口 逸子
村田 容常

(2018年7月1日から)

佐藤 洋 (委員長)
山本 茂貴 (委員長代理)
川西 徹
吉田 緑
香西 みどり
堀口 逸子
吉田 充

〈食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会専門委員名簿〉

(2013年9月30日まで)

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
栞形 麻樹子 吉田 敏則
下位 香代子
高橋 和彦

(2015年9月30日まで)

津田 修治 (座長)
今井 俊夫 (座長代理)
荒川 宜親 戸塚 恭一
池 康嘉 中山 裕之
石原 加奈子 細川 正清
今田 千秋 宮島 敦子
栞形 麻樹子 宮本 亨
小林 健一 山田 雅巳
下位 香代子 山中 典子
高橋 和彦 吉田 敏則

(2016年9月30日まで)

今井 俊夫 (座長)
山中 典子 (座長代理)
荒川 宜親 菅井 基行
石原 加奈子 高橋 和彦
今田 千秋 戸塚 恭一
植田 富貴子 中山 裕之
栞形 麻樹子 宮島 敦子
小林 健一 宮本 亨
佐々木 一昭 山田 雅巳
下位 香代子 吉田 敏則

(2017年9月30日まで)

今井 俊夫 (座長)
山中 典子 (座長代理)
荒川 宜親 菅井 基行
今田 千秋 高橋 和彦
植田 富貴子 戸塚 恭一
川本 恵子 中山 裕之
栗形 麻樹子 宮島 敦子
小林 健一 宮本 亨
佐々木 一昭 山田 雅巳
下位 香代子 吉田 敏則

(2019年9月30日まで)

今井 俊夫 (座長)
山中 典子 (座長代理)
新井 鍾蔵 下位 香代子
荒川 宜親 菅井 基行
今田 千秋 高橋 和彦
植田 富貴子 中山 裕之
川本 恵子 宮島 敦子
栗形 麻樹子 山田 雅巳
小林 健一 吉田 敏則
佐々木 一昭

(2019年10月1日から)

今井 俊夫 (座長)
山中 典子 (座長代理)
新井 鍾蔵 佐々木 一昭
荒川 宜親 下位 香代子
井手 鉄哉 中山 裕之
今田 千秋 宮島 敦子
植田 富貴子 森田 健
川本 恵子 山口裕子
栗形 麻樹子 山田 雅巳
小林 健一

〈第105回肥料・飼料等専門調査会専門参考人名簿〉

唐木 英明

〈第117回肥料・飼料等専門調査会専門参考人名簿〉

唐木 英明

〈第143回肥料・飼料等専門調査会専門参考人名簿〉

唐木 英明

要 約

抗生物質である「ナナフロシン」(CAS No. 52934-83-5) について、動物用医薬品承認申請資料等を用いて食品健康影響評価を実施した。

ナナフロシンは、*in vitro* の復帰突然変異試験及び染色体異常試験において、ラット S9 添加条件下でのみ弱い陽性を示したが、*in vivo* のマウスを用いた小核試験及びトランスジェニックマウスを用いた遺伝子突然変異試験ではいずれも陰性であった。これらの結果から、ナナフロシンが動物用医薬品として適切に使用された場合において、食品を介して、ヒトに対して特段問題となる遺伝毒性は生じないと考えた。したがって、ナナフロシンについては、毒性学的 ADI を設定することは可能であると判断した。

各種毒性試験において得られた主な毒性所見は、体重増加抑制、各臓器の相対重量の増加、腎臓腫大、腎臓尿細管腔の拡張、腎臓尿細管上皮の褐色顆粒沈着等であった。これら毒性所見のうち、最も低い用量で認められた影響は、ラットを用いた 90 日間亜急性毒性試験における腎臓の相対重量の増加及び尿の着色であり、その LOEL は 5 mg/kg 体重/日であった。

毒性学的 ADI の設定に当たっては、慢性毒性及び発がん性試験が実施されていないが、長期ばく露による発がん性を懸念させる所見はみられていないこと及び毒性学的意義が高いとはいえない毒性所見に基づく LOEL を基準とすることから、追加の安全係数 5 を適用することとした。したがって、ラットを用いた 90 日間亜急性毒性試験における LOEL である 5 mg/kg 体重/日を根拠として安全係数 500 で除した 0.01 mg/kg 体重/日を毒性学的 ADI とすることが適当であると判断した。

微生物学的 ADI は、0.01 mg/kg 体重/日と算定した。

以上から、毒性学的 ADI 及び微生物学的 ADI が同じ値であることから、ナナフロシンの ADI を 0.01 mg/kg 体重/日と設定した。

I. 評価対象動物用医薬品の概要

1. 用途

抗菌剤

2. 有効成分の一般名

和名：ナナフロシン（ナナオマイシン A）

英名：Nanafrocin (Nanaomycin A)

3. 化学名

IUPAC

英名：2-[(1*S*,3*R*)-9-hydroxy-1-methyl-5,10-dioxo-3,4-dihydro-1*H*-benzo[*g*]isochromen-3-yl]acetic acid

CAS No. 52934-83-5 (参照1)

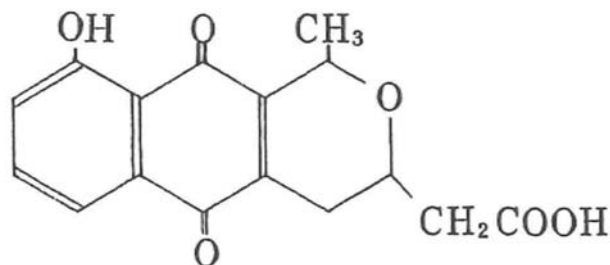
4. 分子式

C₁₆H₁₄O₆

5. 分子量

302.28 (参照 1)

6. 構造式



(参照 1)

7. 使用目的及び使用状況

ピラノナフトキノン（pyranonaphthoquinone）系抗生物質に属するナナオマイシン類のうちナナオマイシン A であるナナフロシンは、*Streptomyces rosa* var. *notoensis* から北里研究所及び協和発酵工業により創薬・開発された主にグラム陽性菌並びにマイクロスポルム、トリコフィトン等の糸状菌に対して抗菌活性を有し、牛の白癬症の治療に有効とされる抗生物質である（参照 1）。

主な作用機序は、菌の呼吸を阻害し、真菌では DNA の合成に関与するトポイソメラーゼ II 等を阻害することで、抗菌作用を示す（参照 1、2、3、4）。

日本では、動物用医薬品として、牛の皮膚糸状菌症に対する外用剤が承認されている（参照5）。

過去に当委員会で評価されたいずれの抗菌性物質の系統別分類でのグループにも属さない。また、国内外においてヒト用医薬品としては販売されていない。

なお、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。

¹ 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

II. 安全性に係る知見の概要

本評価書では、動物用医薬品承認申請資料等をもとに、ナナフロシンの毒性に関する主な知見を整理した。

1. 薬物動態試験

(1) 薬物動態試験（ラット）

ラット（SD系、雌雄、8週齢）にナナフロシン（油剤：20 mg/mL）を単回経口投与（20 mg/kg 体重）する薬物動態試験が実施された。経時的に、血清、肝臓、腎臓、心臓、肺、筋肉、胃、糞及び尿を採材し、各検体中のナナフロシン濃度を測定した（検出限界（LOD）：0.025 mg/kg 又は mg/L）。また、尿については、ナナフロシン（ナナオマイシン A）、ナナオマイシン D 及びナナオマイシン E を対象とした TLC 及び HPLC による分析を行った。

ナナフロシンの血清及び組織中濃度並びに糞及び尿中排泄率に関する測定結果を表 1～表 3 に示した。

血清中濃度は投与 1 時間後に最高濃度（ C_{max} ）となり、その後速やかに減少し、投与 24 時間後には LOD 未満となったことから、ナナフロシンは急速に吸収された後、速やかに消失すると考えられた。また、雄よりも雌の C_{max} 値が高かったことから、吸収率に性差がある可能性が考えられた。

各組織中濃度は血清と同様に投与 1 時間後に最高濃度となり、その後速やかに消失した。筋肉では投与 3 時間後に、肝臓、腎臓、心臓及び肺では投与 24 時間後に LOD 未満となったが、胃では僅かに検出された（雄：0.034 mg/kg、雌：0.054 mg/kg）。また、各組織中の分布量は雌の方が雄より多い傾向を示した。投与後 24 時間の 2 検体における糞中排泄率は雄では 15.4 及び 19.6%、雌では 18.1 及び 12.9%であった。尿中排泄率は雄で 5.5 及び 3.7%、雌で 11.0 及び 15.1%であった。

尿を分析した結果、ナナフロシン及びナナオマイシン D のほか、キノン構造を有すると考えられる物質等がみられた。このうち、ナナオマイシン D については、水溶液中ではナナフロシンからナナオマイシン D が容易に生じるため、代謝との関連は不明であった。また、キノン構造を有すると考えられる物質についても、ナナフロシンの代謝物かどうかは確認できなかった。（参照 1）

表 1 ラットにおけるナナフロシン経口投与（20 mg/kg 体重）後の血清中濃度（mg/L）

性別	投与後時間(h)				
	1	3	6	12	24
雄	0.88	0.43	0.30	0.14	<LOD
雌	3.0	0.56	0.53	0.16	<LOD

(10 匹を 1 検体として各 3 検体の平均値)

表2 ラットにおけるナナフロシン経口投与（20 mg/kg 体重）後の組織中濃度（mg/kg）

試料	性別	投与後時間(h)			
		1	3	6	24
肝臓	雄	0.88	0.72	0.59	< LOD
	雌	2.0	0.63	0.78	< LOD~0.036 ^a
腎臓	雄	1.1	0.49	0.36	< LOD
	雌	1.6	0.39	0.35	< LOD
心臓	雄	0.17	0.06	< LOD~0.038 ^a	< LOD
	雌	0.77	0.11	0.091	< LOD
肺	雄	0.17	0.084	0.059	< LOD
	雌	0.58	0.14	0.096	< LOD
筋肉	雄	0.09	< LOD	< LOD	—
	雌	0.2	< LOD	< LOD	—
胃	雄	62	40	23	0.034
	雌	90	43	22	0.054

(10匹を1検体として各3検体の平均値)

—：検査実施せず

a：測定値の一部がLOD（0.025 mg/kg）未満

表3 ラットにおけるナナフロシン経口投与（20 mg/kg 体重）後24時間の糞及び尿中排泄率（%）

性別		糞	尿	合計
雄	検体1	15.4	5.5	21.0
	検体2	19.6	3.7	23.3
雌	検体3	18.1	11.0	29.2
	検体4	12.9	15.1	28.0

(投与後24時間までの全尿、全糞を採取し、雌雄各3匹を1検体とした分析値)

(ラットの平均体重(雄247g、雌168g)から算出。)

(2) 薬物動態試験（ラット、皮下投与）

ラット（Wistar系、雄、3匹/群）にナナフロシンを単回皮下投与（5 mg/kg 体重）する薬物動態試験が実施された。

ナナフロシンの血清及び組織中濃度の測定結果を表4に示した。

血清中濃度は投与0.5時間後に最高値を示し、投与24時間後にはLOD未満となった。また、各組織では投与1時間後では検出されたが、投与8時間後ではほとんど検出されなかった。これらの結果から、本物質は、皮下投与後速やかに全身に分布し、消失すると考えられた。（参照1）

表4 ラットにおけるナナフロシン皮下投与（5 mg/kg 体重）後の組織中濃度（ $\mu\text{g}/\text{kg}$ 又は L）

試料 ^a	投与後時間 (h)					
	0.5	1	2	4	8	24
血清	1,371	478.7	295.1	119.6	26.7 ^b	<LOD
肝臓	—	366.1	—	—	± ^c	—
腎臓	—	631.1	—	—	±	—
胃	—	105.4	—	—	±	—
心臓	—	167.3	—	—	<LOD	—
脾臓	—	38.8	—	—	<LOD	—
脳	—	46.4	—	—	<LOD	—
肺	—	229.9	—	—	±	—

—：検査実施せず

a：血清中濃度：3匹の平均値

組織中濃度 1時間：2匹の平均値、8時間：1匹の値

b：2匹の平均値（残り1匹は±）

c：10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 以下（trace を表す）

（3）薬物動態試験（牛、経皮投与）

牛（品種性別等不明²、2頭）にナナフロシン（油剤：0.1 mg/mL）を7日間経皮投与³（100 mL/頭/日⁴、塗布）し、塗布中及び塗布後の血中への移行が調べられた。

その結果、血中からナナフロシンは検出されなかった。（参照1）

2. 残留試験

（1）残留試験（牛、経皮投与）

牛（品種不明⁵、雄、7～8か月齢、2頭/群）にナナフロシン（油剤：0.1 mg/mL）を7日間経皮投与（1又は10 mg/頭/日、塗布）する残留試験が実施された。投与最高用量は、臨床で使用される投与量（1 mL/100 cm²）の約10倍とし、7日間連続投与⁶した。

最終投与1時間後に1 mg/頭/日投与群の各塗布部位（頭頸部又は体側部）の皮膚を微量（毛を含む、約1 cm²（0.2 g））採取し、また、最終投与2及び7日後に各2頭（各投与群から1頭ずつ）の血液（血清）及び組織（塗布部位直下の脂肪付き筋肉、筋肉、腎臓、腎周囲脂肪及び肝臓）中のナナフロシン濃度をHPLCにより測定した（LOD：0.0125 mg/kg 又は mg/L）。

測定結果を表5に示した。

² 参照資料では「黒牛」とされている。

³ 承認されている用法・用量：1回100 mL中ナナフロシン10 mg（力価）の製剤を患部に100 cm²当たりナナフロシンとして0.05～0.1 mg（力価）（0.5～1.0 mL）刷毛等を用いて塗布する。重症の場合は塗布1週間又は2週間後再塗布する。

⁴ 用法・用量で規定される100 cm²での最大投与量の70倍に相当。

⁵ 参照資料では、「和牛」とされている。

⁶ 用法・用量で規定される100 cm²での最大投与量の70倍に相当。

投与1時間後の投与部位では1.6及び2.4 µg/gであったが、最終投与2及び7日後では、いずれの投与量並びに血清及び組織においてもナナフロシンは検出されなかった。(参照1)

表5 牛におけるナナフロシン経皮投与後の組織中濃度 (µg/g 又は mL)

牛	投与量 (塗布) (mg/頭日)	塗布部位 ^a	最終投与後時間		
			1時間	2日	7日
A	1	頭頸部	2.4 ^b	—	全部位 <LOD ^c
B	1	体側部	1.6 ^b	全部位 <LOD ^c	—
C	10	頭頸部	—	全部位 <LOD ^c	—
D	10	体側部	—	—	全部位 <LOD ^c

— : 検査実施せず LOD : 12.5 µg/kg 又は mL

a : 塗布部位の面積 : 90 cm² (牛 A 及び B)、900 cm² (牛 C 及び D)

b : 塗布部位の皮膚 (毛を含む、約 1 cm² (0.2 g)) の測定結果

c : 血清及び各組織 (塗布部位直下脂肪付き筋肉、筋肉、腎臓、腎周囲脂肪、肝臓) の測定結果

(2) 残留試験 (泌乳牛、経皮投与)

乳牛 (品種不明、2頭、2及び4歳) にナナフロシン (油剤 : 0.1 mg/mL) を7日間経皮投与 (10 mg/頭/日、塗布) する残留試験が実施された。投与最高用量は、臨床で使用される投与量 (1 mL/100 cm²) の約10倍とし、7日間連続投与⁷した。最終投与1、2、3及び5日後に採乳し、ナナフロシンの乳汁中濃度を HPLC により測定した (LOD : 0.0125 mg/L)。

いずれの時点においても、乳汁からナナフロシンは検出されなかった。(参照1)

(3) 残留試験 (牛、経口投与)

子牛 (ホルスタイン種、雌、3頭/試験群、1頭/対照群) にナナフロシン (油剤 : 0.5 mg/mL) を4日間混餌投与 (2.5 mg/頭/日、対照群 : 無投与) する残留試験が実施された。最終投与1日後 (2頭) 及び5日後 (1頭) における血清及び組織 (肝臓、腎臓、筋肉、第4胃、肺及び心臓) 中のナナフロシン濃度を HPLC により測定した (定量限界 (LOQ) : 0.0125 mg/L (血清) 及び 0.025 mg/kg (組織))。

最終投与1及び5日後ともに、いずれの血清及び組織中からもナナフロシンは検出されなかった。(参照1)

(4) 残留試験 (泌乳牛、経口投与)

泌乳牛 (ホルスタイン種、3頭、産歴2~4回、泌乳量約20 kg/日) にナナフロシン (油剤 : 0.5 mg/mL) を4日間混餌投与 (5 mg/頭/日、24時間ごと (夕方搾乳直後))

⁷ 用法・用量で規定される 100 cm² での最大投与量の 70 倍に相当。

する残留試験が実施された。投与前、投与期間中並びに最終投与 1、2 及び 3 日後の乳汁（4 分房の合乳）中のナナフロシン濃度を HPLC により測定した（LOQ：0.0125 mg/L）。

投与前から最終投与 3 日後までのいずれの乳汁からもナナフロシンは検出されなかった。（参照 1）

3. 遺伝毒性試験

ナナフロシンの遺伝毒性試験の結果を表 6 に示した。

ナナフロシンは、*in vitro* の復帰突然変異試験において、ラット S9 を添加した条件で陽性となったが、その突然変異の頻度は陽性対照物質に比較して低かった（参照 9）。哺乳動物培養細胞を用いた *in vitro* の染色体異常試験における、染色体異常細胞の出現率の観察において、ラット S9 添加条件（5 µg/mL）では、処理 18 時間後では、5%で疑陽性であったが、処理 42 時間後ではこれが 3%であったため陰性と判定された。また、ラット S9 の 1.25 及び 2.5 µg/mL 処理では、処理 18 及び 42 時間後いずれも 0～2%であり、陰性と判定された。一方、*in vivo* のマウスを用いた小核試験は陰性であった。（参照 1）

これらの結果を受けてマウス S9 を添加した条件での復帰突然変異試験が実施されたが、その結果は陽性であり、トランスジェニック（Tg）マウスを用いた遺伝子突然変異試験の結果は陰性であった。（参照6、7、8）

以上から、食品安全委員会は、ナナフロシンが動物用医薬品として適切に使用された場合において、食品を介して、ヒトに対して特段問題となる遺伝毒性は生じないと判断した。

表 6 ナナフロシンの遺伝毒性試験結果

試験	対象	用量	結果	参照
<i>in vitro</i> 復帰突然変異試験	<i>Salmonella typhimurium</i> TA98、TA100、TA1535、TA1537、 <i>Escherichia coli</i> WP2 <i>uvrA</i>	ラット S9mix を使用 0.15～19.5 µg/plate (-S9 : <i>S. typhimurium</i> TA98、TA100、TA1535、TA1537) 2.44～78.1 µg/plate (-S9 : <i>E. coli</i> WP2 <i>uvrA</i> 、+S9 : <i>S. typhimurium</i> TA1535、TA1537) 9.77～313 µg/plate (+S9 : <i>S. typhimurium</i> TA98、TA100、 <i>E. coli</i> WP2 <i>uvrA</i>)	陽性 ^a	9

		<i>S. typhimurium</i> TA98、TA100、 TA102、 TA1535、 TA1537	マウス S9mix を使用 0.61~19.5 µg/plate (-S9 : <i>S. typhimurium</i> TA98、TA100、TA102、 TA1535、TA1537) 4.88~313 µg/plate (+S9 : <i>S. typhimurium</i> TA98) 9.77~313 µg/plate (+S9 : <i>S. typhimurium</i> TA100) 2.44~78.1µg/plate (+S9 : <i>S. typhimurium</i> TA102、TA1535、 TA1537)	陽性 ^b	7
	染色体異常試験	チャイニーズハムスター肺由来培養細胞 (CHL細胞)	0.05~0.2 µg/mL (-S9) 1.25~5 µg/mL (+S9)	弱陽性 ^c	1
<i>in vivo</i>	小核試験	マウス (ICR系) 骨髓細胞 (雄 5 匹/群)	5~20 ^d mg/kg 体重 2 回腹腔内投与 (初回投与 24 時間後に再投与)	陰性	1
	遺伝子突然変異試験(レポーター遺伝子 <i>lacZ</i>)	トランスジェニック (Tg) マウス Muta TM Mouse) 肝臓、腎臓	0~72.5 mg/kg 体重 28 日間強制経口投与	陰性	8

a : TA98、WP2 *uvrA* 及び TA1537 であって+S9 の場合。比活性値 : 8.95×10^2 Rev/mg

b : TA98 であって+S9 の場合。比活性値 : 1.59×10^3 Rev/mg

c : +S9、最高用量のみ

d : マウス腹腔内投与の LD₅₀ 値 : 41.0 mg/kg 体重の約 1/2 量相当

4. 急性毒性試験

マウス及びラットを用いて各投与経路 (経口、腹腔内及び皮下) によるナナフロシンの急性毒性試験が実施された。

結果を表 7 に示した。(参照 2)

表7 マウス及びラットにおけるナナフロシンの急性毒性試験結果 (mg/kg 体重)

動物種	投与経路	LD ₅₀ (95%信頼限界)	
		雄	雌
マウス	経口	142.5 (125.5~161.9)	134.9 (122.5~148.6)
	腹腔内	41.0 (36.2~46.4)	37.4 (35.0~40.0)
	皮下	60.7 (46.7~78.9)	51.0 (43.8~59.4)
ラット	経口	220.0 (194.4~249.1)	165.0 (142.0~191.7)
	腹腔内	22.6 (19.4~26.5)	23.7 (20.9~26.9)
	皮下	29.5 (25.2~34.6)	33.0 (28.3~38.5)

5. 亜急性毒性試験

(1) 28日間亜急性毒性試験 (Tg マウス)⁸

① 用量設定試験 (参考資料⁹)

Tg マウスを用いた経口投与試験 (IIの5の(1)の②)における用量設定のために、マウス (CD2F1/Slc (BALB/C x DBA/2)系、雄、9週齢、体重 23.2~27.5 g、3匹/群) にナナフロシン (5%炭酸水素ナトリウム溶液) を14日間経口投与 (0、36.3、72.5、145又は290 mg/kg 体重/日) する試験が実施された。

その結果、145及び290 mg/kg 体重/日投与群では、それぞれ1及び3例の死亡例がみられ、145 mg/kg 体重/日投与群では、初回投与後、状態悪化により1例を安楽死させた。残り1例では投与期間中、呼吸不整、立毛、着色尿並びに体重及び摂餌量の減少がみられた。他の投与群全例に着色尿がみられた。これらの結果から、本試験 (IIの5の(1)の②)における投与最高量は72.5 mg/kg 体重/日と設定された。(参照8)

② Tg マウスを用いた28日間亜急性毒性試験¹⁰ (参考資料¹¹)

マウス (CD₂-LacZ80/HazfBR、Tg (MutaTMMouse)、雄、9週齢、体重 23.8~26.5 g、6匹/群) にナナフロシン (5%炭酸水素ナトリウム溶液) を28日間強制経口投与 (0、18.1、36.3、72.5又は100 mg/kg 体重/日) する亜急性毒性試験が実施された。

体重及び摂餌量を試験期間中おおむね週1回測定するとともに、少なくとも1日1回一般状態を観察し、最終投与3日後に肝臓及び腎臓を採取して、臓器重量測定及び肉眼的観察を行った。

毒性所見を表8に示した。(参照8)

表8 マウスを用いた28日間強制経口投与における主な毒性所見

投与量(mg/kg 体重/日)	毒性所見
18.1以上	着色尿 (黒色)

⁸ Tg マウスを用いた遺伝子突然変異試験に伴い実施された。

⁹ 本試験は、28日間亜急性毒性試験 (Tg マウス) (IIの5の(1)の②)での用量設定試験のため参考資料とした。

¹⁰ Tg マウスを用いた遺伝子突然変異試験と同じ動物を用いて実施された。

¹¹ 本試験は、検査項目が少ないため参考資料とした。

(2) 1 か月間亜急性毒性試験 (ラット、皮下投与) (参考資料¹²)

ラット (雌雄各 15 匹/群) にナナフロシンを 1 か月間皮下投与 (0、0.6、1.7、5.0、8.7 及び 15.0 mg/kg 体重/日) する亜急性毒性試験が実施された。

毒性所見を表 9 に示した。(参照 1)

食品安全委員会は、0.6 mg/kg 体重/日以上投与群でみられた尿の着色に基づき、本試験におけるナナフロシンの LOAEL を 0.6mg/kg 体重/日と考えた。なお、本 LOAEL は、非経口投与試験のため参考値とする。

表 9 ラットを用いた 1 か月間皮下投与における主な毒性所見

投与量 (mg/kg 体重/日)	毒性所見
15	死亡 (雄 2 例 : 22 及び 25 日、雌 2 例 : 26 及び 29 日)、WBC 百分比及びリンパ球の減少、脾臓うっ血 (雄)、好中球の増加、腎臓尿細管顆粒沈着
8.7 以上	自発運動の低下、投与部位の出血、脱毛及び痂皮形成 (23 日頃から)、胸腺、前立腺及び精嚢腺重量の減少、脾臓うっ血 (雌)、脾臓髓外造血、胸腺及びリンパ節のリンパ球減少、WBC 増加 (雌)
5.0 以上	投与部位の硬結 (3 日頃から)、被毛粗剛及び立毛 (8 日頃から)、体重増加抑制 (雌)、摂餌量の減少、RBC、Ht、Hb 及びプロトロンビン時間の低下、血小板数及び網状赤血球の増加、WBC 増加 (雄)、A/G 比の低下、脾臓重量の増加、骨髓造血亢進、AST の増加 (雄・雌)、Chol の増加 (雄)
1.7 以上	体重増加抑制 (雄)、投与部位の皮下出血・炎症、中性脂肪の増加 (雌)
0.6 以上	尿の着色 (茶褐色～暗赤色)

(3) 90 日間亜急性毒性試験 (ラット)

ラット (Wistar 系、5 週齢、雌雄各 15 匹/群) にナナフロシン (5%炭酸水素ナトリウム溶液) を 90 日間強制経口投与 (0、5、15、45 及び 78 mg (力価) /kg 体重/日) する亜急性毒試験が実施された。投与終了後、雌雄各 5 匹/群には、30 日間の休薬期間を設定した。

一般状態の観察は毎日行い、体重及び摂餌量の測定は投与開始後 1 か月は 3 日ごと、それ以降は 6 日ごとに実施した。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は、90 日間投与終了後に雌雄各 10 匹/群について行い、30 日間の休薬期間を設定した雌雄各 5 匹/群については休薬期間終了後に実施した。

毒性所見を表 10 に示した。

なお、30 日間の休薬を実施した動物では、45 mg/kg 体重/日以上投与群でみられた腎臓での変化を除いていずれも回復がみられた。

試験実施者は 5 mg/kg 体重/日投与群では毒性所見がみられないとし、同用量を最大安全用量¹³とした。(参照 1)

食品安全委員会は、毒性影響の判断のため、5 mg/kg 体重/日以上投与群の雄でみられた腎臓の相対重量の増加及び同投与量の雌雄でみられた尿の着色 (茶褐色～暗赤色)

¹² 本試験は、ラットを用いた非経口投与試験であるため参考資料とした。

¹³ NOAEL と考えられる。

について検討を行った。腎臓の相対重量の増加については、当該用量では腎臓における変性・壊死等の器質的変化、BUN の上昇等の傷害性を示唆する所見がみられない一方で、尿細管上皮の褐色顆粒沈着で示されるように、同定されていない代謝物などの吸収に伴う適応性変化であることが示唆されるが、毒性影響の可能性について完全には否定できないと考えられる。低用量からみられる着色尿については、薬物動態試験において尿中からキノン構造を有する物質が検出されていること、血色素の混入の原因となり得る溶血性貧血等の血液学的所見が低用量にはみられないことから、代謝物が原因となっている可能性が考えられるものの、着色の原因の確認には到っていない。したがって、毒性影響の可能性について完全には否定できないが、他の毒性所見を考慮すると、重篤な毒性影響の存在を反映しているとは考えにくい。

以上から、食品安全委員会は、これらの所見について、毒性学的意義は高いとはいえないものの毒性影響であるとし、本試験における LOAEL を 5 mg/kg 体重/日と判断した。

表 10 ラットを用いた 90 日間強制経口投与における主な毒性所見

投与量 (mg/kg 体重/日)	毒性所見
78	立毛及び腹臥、摂餌量の軽度の減少 (雄)、副腎の相対重量の増加 (雄)、胸腺及び子宮重量の減少 (雌)、Hb の軽度の減少 (雄)、WBC 増加 (雌)、A/G 比の上昇
45 以上	体重増加抑制、投与直後の自発運動量の減少、尿ケトン体陽性、胸腺重量の減少 (雄)、RBC 及び Ht の軽度の減少、Hb の軽度の減少 (雌)、各臓器 (心臓、肺、脾臓、肝臓及び脳) の相対重量の増加、腎臓腫大、腎臓尿細管腔の拡張、前胃部の炎症、前胃上皮の増生、腸間膜リンパ節細網細胞の増生
15 以上	腎臓重量の増加、WBC 増加 (雄)、腎臓尿細管上皮の褐色顆粒沈着
5 以上	腎臓の相対重量の増加 (雄)、尿の着色 (茶褐色～暗赤色)

(4) 3 か月間亜急性毒性試験 (ラット、皮下投与) (参考資料¹⁴)

ラット (雌雄各 15 匹/群) にナナフロシンを 3 か月間皮下投与 (ナナオマイシン A として、0、0.16、0.38、0.89、2.11 及び 5.00 mg/kg 体重/日) する亜急性毒性試験が実施された。

毒性所見を表 11 に示した。

試験期間中に死亡例はみられなかった。なお、0 mg/kg 体重/日を含む全投与例で投与方法 (溶媒等) によると考えられる皮下出血等の所見がみられた。(参照 1)

食品安全委員会は、雄の 0.38 mg/kg 体重/日投与群でみられた軽度の体重増加抑制所見に基づき、本試験における NOAEL を 0.16mg/kg 体重/日と考えた。なお、本 NOAEL は、非経口投与試験のため参考値とする。

¹⁴ 本試験は、ラットを用いた非経口投与試験であるため参考資料とした。

表 11 ラットを用いた 3 か月間皮下投与における主な毒性所見

投与量 (mg/kg 体重/日)	毒性所見
5.00	体重増加抑制 (雄・雌)、脾臓うっ血、骨髓造血亢進
2.11 以上	WBC 増加 (雄)、AST 増加 (雄)、肝脂肪沈着 (雌)、腎尿細管上皮褐色顆粒沈着 (雌)
0.89 以上	WBC 増加 (雌)、胸腺重量の低下 (雄)
0.38 以上	軽度の体重増加抑制 (雄)
0.16	所見なし

6. 慢性毒性及び発がん性試験

慢性毒性及び発がん性に関するデータは示されていない。

7. 生殖発生毒性試験

(1) 生殖発生毒性試験 (ラット) (参考資料¹⁵)

ラットにナナフロシンを妊娠 7~17 日まで皮下投与 (0、0.6、1.7、5.0 及び 8.7 mg/kg 体重/日) する生殖発生毒性試験が実施された。

母動物では、5.0 mg/kg 体重/日以上投与群で摂餌量の減少がみられ、8.7 mg/kg 体重/日投与群で体重低下、飲水量減少、死胚数の増加及び生存胎児数の減少がみられた。

生殖能力には影響はみられなかった。

胎児については、全投与群で外形、骨格及び内臓異常はみられなかった。

新生児では、8.7 mg/kg 体重/日投与群で体重低下がみられたが、全投与群で外形、骨格及び内臓異常はみられなかった。(参照 1)

食品安全委員会は、5.0 mg/kg 体重/日以上投与群で摂餌量の減少がみられたことから、母動物における皮下投与による NOAEL を 1.7 mg/kg 体重/日と判断した。また、8.7 mg/kg 体重/日投与群で新生児の体重低下がみられたことから、児動物における NOAEL を 5.0 mg/kg 体重/日と判断した。なお、いずれの NOAEL についても、非経口投与試験のため参考値とする。また、催奇形性はみられなかった。

8. 対象動物を用いた試験 (参考資料¹⁶)

牛を用いたナナフロシンの経口 (1 件) 及び経皮投与 (2 件) による安全性試験が実施された。経口投与では 4 日間混餌投与 (0.01 mg/kg 体重/日) した。経皮投与では承認製剤と同一の濃度 (0.1 mg/mL) の油剤を用いて 7 日間投与 (0.0037 mg/kg 体重/日¹⁷又は 0.037 mg/kg 体重/日¹⁸) 又は承認製剤の 5 倍濃度 (0.5 mg/mL) の油剤を用いて 5 日間投与 (16 mL¹⁹) した。

¹⁵ 本試験は、ラットを用いた非経口投与試験であるため参考資料とした。

¹⁶ 対象動物の知見であるため、参考資料とした。

¹⁷ 試験に用いた牛の平均体重 (2 頭) : 265 kg、通常 1,000 cm² の塗布量に相当

¹⁸ 試験に用いた牛の平均体重 (2 頭) : 270 kg、通常 10,000 cm² の塗布量に相当

¹⁹ 通常 8,000 cm² の塗布量に相当

実施された経口及び経皮投与のいずれの試験においても、実施された尿検査、体重測定等の結果に異常値はみられず、一般状態についても異常な所見はみられなかった。(参照 1)

9. その他の試験

(1) 皮膚刺激性試験

ウサギを用いて、ドレイズ皮膚刺激性試験を実施した。

常用濃度 (0.1 mg/kg 体重) では、刺激性は認められなかった。(参照 1)

(2) 眼刺激性試験

ウサギを用いて、ドレイズ眼粘膜刺激性試験を実施した。

特記すべき刺激性は認められなかった。(参照 1)

10. 微生物学的影響に関する試験

(1) 臨床分離菌に対する MIC

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調査」(平成 18 年 9 月～平成 19 年 3 月)において、ナナフロシンのヒト臨床分離株等に対する MIC が調べられている。

結果を表 12 に示した。

調査された菌種のうち、最も低い MIC₅₀ は *Peptococcus* spp. /*Peptostreptococcus* spp. の 0.25 µg/mL であった。本調査の結果から、ナナフロシンの MIC_{calc}²⁰ は 1.226 µg/mL (0.001226 mg/mL) と算出された。(参照10)

表 12 ヒト臨床分離菌等に対するナナフロシンの MIC₅₀

菌名	株数	最小発育阻止濃度 (µg/mL)	
		MIC ₅₀	範囲
<i>Escherichia coli</i>	30	64	32~128
<i>Enterococcus</i> spp.	30	8	2~32
<i>Bacteroides</i> spp.	30	1	0.5~2
<i>Fusobacterium</i> spp.	20	64	16~64
<i>Bifidobacterium</i> spp.	30	1	0.12~8
<i>Eubacterium</i> spp.	20	4	0.5~32
<i>Clostridium</i> spp.	30	2	1~16
<i>Peptococcus</i> spp./ <i>Peptostreptococcus</i> spp.	30	0.25	≤0.06~1
<i>Prevotella</i> spp.	20	0.5	≤0.06~1
<i>Lactobacillus</i> spp.	30	>128	64~>128
<i>Propionibacterium</i> spp.	30	1	1~4

²⁰ 試験薬に活性を有する最も関連のある属の平均 MIC₅₀ の 90%信頼下限値

Ⅲ. 国際機関等における評価

国際機関等において評価は行われていない。

IV. 食品健康影響評価

1. 毒性学的 ADI について

ナナフロシンは、*in vitro* の復帰突然変異試験及び染色体異常試験において、ラット S9 添加条件下でのみ弱い陽性を示したが、*in vivo* のマウスを用いた小核試験及び Tg マウスを用いた遺伝子突然変異試験ではいずれも陰性であった。これらの結果から、ナナフロシンが動物用医薬品として適切に使用された場合において、食品を介して、ヒトに対して特段問題となる遺伝毒性は生じないと考えた。したがって、ナナフロシンについては、毒性学的 ADI を設定することは可能であると判断した。

各種毒性試験において得られた主な毒性所見は、体重増加抑制、各臓器の相対重量の増加、腎臓腫大、腎臓尿細管腔の拡張、腎臓尿細管上皮の褐色顆粒沈着等であった。これら毒性所見のうち、最も低い用量で認められた影響は、ラットを用いた 90 日間亜急性毒性試験における 5 mg/kg 体重/日投与群でみられた腎臓の相対重量の増加及び尿の着色（茶褐色～暗赤色）であった。これらの所見については、腎臓への傷害性を示唆する他所見を伴わず、代謝物が着色尿の原因となっている可能性が考えられるが、原因の確認には到っていないことを踏まえ、それらの毒性学的意義は高いとはいえないものの、毒性所見であるとし、LOAEL を 5 mg/kg 体重/日と判断した。

毒性学的 ADI の設定に当たっては、慢性毒性及び発がん性試験は実施されていないが、亜急性毒性試験では長期ばく露をした場合に発がん性を懸念させる所見はみられていないこと及び毒性学的意義が高いとはいえない毒性所見に基づく LOAEL を基準とすることから、安全係数として 5 を追加することが適当と判断した。したがって、毒性学的 ADI は、ラットを用いた 90 日間亜急性毒性試験における LOAEL である 5 mg/kg 体重/日を根拠として安全係数 500 で除した 0.01 mg/kg 体重/日と設定することが適当であると判断した。

2. 微生物学的 ADI について

VICH ガイドライン 36 に基づき、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調査」結果から得られた MIC_{calc} (1.226 µg/mL (0.001226 mg/mL)) を用いて、以下のとおり微生物学的 ADI を算定した。

$$\text{ADI} = \frac{0.001226^a \times 500^b}{1^c \times 60^d} = 0.01 \text{mg/kg 体重/日}$$

a : MIC_{calc} : 1.226 µg/mL

b : ヒト結腸内容物の容積 (mL)

c : 微生物が利用可能な経口用量の分画：糞中回収率等に関する明確な知見が示されていないため、係数を 1 とする。

d : ヒトの体重 (kg)

3. ADI の設定について

毒性学的 ADI 及び微生物学的 ADI は、0.01 mg/kg 体重/日と同じ値である。

以上から、ナナフロ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ことが適当と考えた。

ADI 0.01 mg/kg 体重/日

ばく露量については、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とする。

〈別紙：検査値等略称〉

略称	名称
ADI	Acceptable Daily Intake：許容一日摂取量
A/G 比	albumin / globulin ratio：アルブミン/グロブリン比
AST	aspartate aminotransferase：アスパラギンアミノトランスフェラーゼ (GOT)
BUN	blood urea nitrogen：血中尿素窒素
CFU	colony forming unit：コロニー形成単位
Chol	cholesterol：コレステロール
C _{max}	maximum drug concentration：最高血中濃度
FDA	Food and Drug Administration：米国食品医薬品局
Hb	hemoglobin：ヘモグロビン量 (血色素量)
HPLC	High Performance Liquid Chromatography：高速液体クロマトグラフィー
Ht	hematocrit：ヘマトクリット値
LD ₅₀	50% lethal dose：半数致死量
LOAEL	Lowest Observed Adverse Effect Level：最小毒性量
LOD	Limit of detection：検出限界
LOQ	Limit of quantification：定量限界
MIC	minimum inhibitory concentration：最小発育阻止濃度
MIC ₅₀	50% minimum inhibitory concentration：50%最小発育阻止濃度
NOAEL	No Observed Adverse Effect Level：無毒性量
RBC	red blood cell：赤血球数
TLC	thin-layer chromatography：薄層クロマトグラフィー
Tg	transgenic：トランスジェニック
VICH	International Cooperation on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Veterinary Medicinal Products：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
WBC	white blood cell：白血球数

〈参照〉

- 1 協和発酵バイオ株式会社：平成 20 年度残留基準見直しに関する資料（動物医薬品承認申請資料より抽出）（非公表）
- 2 Heapy AM, Patterson AV, Smaill JB, Jamieson SM, Guise CP, Sperry J, *et al.*: Synthesis and cytotoxicity of pyranonaphthoquinone natural product analogues under bioreductive conditions. *Bioorg Med Chem.* 2013; 21(24): 7971-80.
- 3 Sperry J, Bachu P and Brimble MA: Pyranonaphthoquinones--isolation, biological activity and synthesis. *Nat Prod Rep.* 2008; 25(2): 376-400.
- 4 Sperry J, Lorenzo-Castrillejo I, Brimble MA and Machín F: Pyranonaphthoquinone derivatives of eleutherin, ventiloquinone L, thysanone and nanaomycin A possessing a diverse topoisomerase II inhibition and cytotoxicity spectrum. *Bioorg Med Chem.* 2009; 17(20): 7131-7.
- 5 動物用医薬品データベース. <https://www.vm.nval.go.jp/>.
- 6 食品健康影響評価に係る追加資料提出用の依頼について（平成 29 年 2 月 3 日付け食品安全委員会事務局評価第二課長通知）
- 7 農林水産省：ナナフロシンの細菌を用いる復帰突然変異試験 最終報告書（ラット S9mix） 2018 年 3 月
- 8 農林水産省：トランスジェニックマウスを用いるナナフロシンの遺伝子突然変異試験 最終報告書 2019 年 3 月
- 9 農林水産省：ナナフロシンの細菌を用いる復帰突然変異試験（ラット S9mix）2014 年 3 月
- 10 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影響についての調査