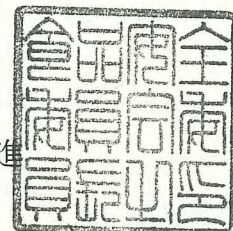




府食第596号  
平成26年8月5日

厚生労働大臣  
田村 憲久 殿

食品安全委員会  
委員長 熊谷 進



食品健康影響評価の結果の通知について

平成25年3月12日付け厚生労働省発食安0312第20号及び平成25年11月11日付け厚生労働省発食安1111第10号をもって貴省から当委員会に意見を求められたラサロシド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

ラサロシドの一日摂取許容量を0.005 mg/kg 体重/日（ラサロシドナトリウムとして）とする。

別添

# 動物用医薬品・飼料添加物評価書

## ラサロシド

2014年8月

食品安全委員会

## 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 .....	6
I. 評価対象動物用医薬品及び飼料添加物の概要 .....	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等 .....	8
II. 安全性に係る知見の概要 .....	8
1. 薬物動態試験 .....	8
(1) 薬物動態試験 (マウス、吸収・分布・排泄) .....	8
(2) 薬物動態試験 (ラット、吸収・分布・排泄) .....	10
(3) 薬物動態試験 (鶏、吸収・分布・排泄) .....	12
(4) 薬物動態試験 (七面鳥、吸収・分布・排泄) .....	15
(5) 薬物動態試験 (牛、吸収・分布・排泄) .....	16
(6) 代謝試験 (鶏) .....	16
(7) 代謝試験 (マウス、ラット、イヌ、鶏、七面鳥及び豚) .....	17
2. 残留試験 .....	18
(1) 残留試験 (牛) ① .....	18
(2) 残留試験 (牛) ② .....	18
(3) 残留試験 (乳汁) .....	19
(4) 残留試験 (鶏) ① .....	19
(5) 残留試験 (鶏) ② .....	21
(6) 残留試験 (鶏) ③ .....	22
(7) 残留試験 (鶏) ④ .....	23
(8) 残留試験 (鶏、マーカ―残留) ① .....	23
(9) 残留試験 (鶏、マーカ―残留) ② .....	23
(10) 残留試験 (鶏卵) ① .....	24
(11) 残留試験 (鶏卵) ② .....	25
(12) 残留試験 (七面鳥) .....	25
(13) 残留試験 (きじ) .....	26

(14) 残留試験 (うずら) .....	26
(15) 残留マーカ-について .....	27
3. 遺伝毒性試験 .....	27
4. 急性毒性試験 .....	29
5. 亜急性毒性試験 .....	29
(1) 13 週間亜急性毒性試験 (ラット、混餌投与) .....	29
(2) 13 週間亜急性毒性試験 (ラット、離乳児、混餌投与) .....	30
(3) 13 週間亜急性毒性試験 (ラット、投与した親動物由来の離乳児、混餌投与) .....	31
(4) 13 週間亜急性毒性試験 (イヌ、経口投与) .....	31
6. 慢性毒性及び発がん性試験 .....	32
(1) 2 年間慢性毒性試験 (イヌ、混餌投与) .....	32
(2) 2 年間発がん性試験 (マウス、混餌投与) .....	32
(3) 130 週間慢性毒性/発がん性併合試験 (ラット、混餌投与) .....	33
7. 生殖発生毒性試験 .....	34
(1) 生殖毒性試験 (ラット、混餌投与) .....	34
(2) 三世代生殖毒性試験 (ラット、混餌投与) .....	34
(3) 発生毒性試験 (ウサギ、強制経口投与) ① .....	35
(4) 発生毒性試験 (ウサギ、強制経口投与) ② .....	35
(5) 発生毒性試験 (ウサギ、強制経口投与) ③ 〈参考データ〉 .....	36
8. 対象動物を用いた安全性試験 .....	36
(1) 牛 .....	36
(2) 鶏 .....	36
(3) 七面鳥 .....	38
(4) きじ .....	38
(5) やまうずら .....	38
(6) ほろほろちょう .....	39
9. その他の試験 .....	39
(1) 眼刺激性試験 (ウサギ) .....	39
(2) 皮膚刺激性試験 (ウサギ) .....	39
(3) 皮膚感作性試験 (モルモット) .....	39
(4) 神経毒性について .....	40
(5) 薬理作用 .....	40
(6) ヒトに関する知見 .....	41
10. 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) MIC に関するその他の知見 (pH の影響) .....	43
(4) 糞便結合試験 (ヒト) .....	43
III. 食品健康影響評価 .....	44

1. 海外における評価について .....	44
(1) EMEA における評価 .....	44
(2) EFSA における評価 .....	44
(3) FDA における評価.....	45
(4) FSANZ における評価.....	45
2. 食品健康影響評価について .....	45
(1) 毒性学的 ADI について .....	45
(2) 微生物学的 ADI について.....	45
(3) ADI の設定について.....	46
• 表 28 海外における各種試験の無毒性量等の比較.....	47
• 別紙：検査値等略称.....	49
• 参照.....	50

### 〈審議の経緯〉

- 2005年 11月 29日 暫定基準告示（参照1）
- 2013年 3月 12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0312第20号、ポジティブリスト制度導入に伴う残留基準値の見直し）、関係資料の接受
- 2013年 3月 18日 第467回食品安全委員会（要請事項説明）
- 2013年 11月 14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1111第10号、インポートトレランスに係る基準値設定）、関係資料の接受
- 2013年 11月 18日 第494回食品安全委員会（要請事項説明）
- 2014年 2月 5日 第83回肥料・飼料等専門調査会
- 2014年 3月 18日 第85回肥料・飼料等専門調査会
- 2014年 6月 3日 第516回食品安全委員会（報告）
- 2014年 6月 4日から 7月3日まで 国民からの意見・情報の募集
- 2014年 7月 31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
- 2014年 8月 5日 第525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へ通知

### 〈食品安全委員会委員名簿〉

（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

\*：2012年7月2日から

### 〈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  
桑形 麻樹子 吉田 敏則  
下位 香代子

（2013年10月1日から）

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  
桑形 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

高橋 和彦 吉田 敏則

\* : 2013年10月10日から

〈第83回肥料・飼料等専門調査会専門参考人名簿〉

唐木 英明

〈第85回肥料・飼料等専門調査会専門参考人名簿〉

唐木 英明

## 要 約

ポリエーテル系抗生物質である「ラサロシドナトリウム」(CAS No.25999-20-6) について、EMEA 評価書、飼料添加物指定のための審査用資料等を用いて食品健康影響評価を実施した。

評価に用いた試験成績は、薬物動態 (マウス、ラット、イヌ、牛、豚、鶏及び七面鳥)、残留 (牛、鶏、七面鳥、きじ及びうずら)、遺伝毒性、急性毒性 (マウス、ラット、ウサギ、牛、馬及び鶏)、亜急性毒性 (ラット及びイヌ)、慢性毒性及び発がん性 (マウス、ラット及びイヌ)、生殖発生毒性 (ラット及びウサギ)、微生物学的影響に関する試験等の成績である。

遺伝毒性試験の結果から、ラサロシドナトリウムは DNA と直接反応して遺伝毒性を示す可能性は低く、閾値の設定は可能であると考えられた。発がん性も認められなかったことから、一日摂取許容量 (ADI) を設定することが可能であると判断した。

各種毒性試験で得られた無毒性量 (NOAEL) の最小値は、ラットを用いた 130 週間慢性毒性/発がん性併合試験及びウサギを用いた発生毒性試験の 0.5 mg/kg 体重/日であったことから、安全係数として 100 (種差 10 及び個体差 10) を適用し、毒性学的 ADI を 0.005 mg/kg 体重/日と設定することが適当であると考えられた。

微生物学的 ADI は、VICH の式により 0.0317 mg/kg 体重/日と算出された。

毒性学的 ADI が微生物学的 ADI よりも小さいことから、ラサロシドナトリウムの ADI を 0.005 mg/kg 体重/日と設定した。



# I. 評価対象動物用医薬品及び飼料添加物の概要

## 1. 用途

抗菌剤

## 2. 有効成分の一般名

和名：ラサロシドナトリウム

英名：Lasalocid sodium

## 3. 化学名

IUPAC

英名：sodium;6-[(3*R*,4*S*,5*S*,7*R*)-7-[(2*S*,3*S*,5*S*)-5-ethyl-5-[(2*R*,5*R*,6*S*)-5-ethyl-5-hydroxy-6-methyloxan-2-yl]-3-methyloxolan-2-yl]-4-hydroxy-3,5-dimethyl-6-oxononyl]-2-hydroxy-3-methylbenzoate

CAS (No. 25999-20-6)

英名：6-[(3*R*,4*S*,5*S*,7*R*)-7-[(2*S*,3*S*,5*S*)-5-Ethyl-5-[(2*R*,5*R*,6*S*)-5-ethyltetrahydro-5-hydroxy-6-methyl-2*H*pyran-2-yl] tetrahydro-3-methyl-2-furanyl]-4-hydroxy-3,5-dimethyl-6-oxononyl]-2-hydroxy-3-methylbenzoic acid, sodium salt

Lasalocid A 〈参考〉

CAS (No. 25999-31-9)

英名：6-[(3*R*,4*S*,5*S*,7*R*)-7-[(2*S*,3*S*,5*S*)-5-Ethyl-5-[(2*R*,5*R*,6*S*)-5-ethyltetrahydro-5-hydroxy-6-methyl-2*H*pyran-2-yl]tetrahydro-3-methyl-2-furanyl]-4-hydroxy-3,5-dimethyl-6-oxononyl]-2-hydroxy-3-methylbenzoic acid

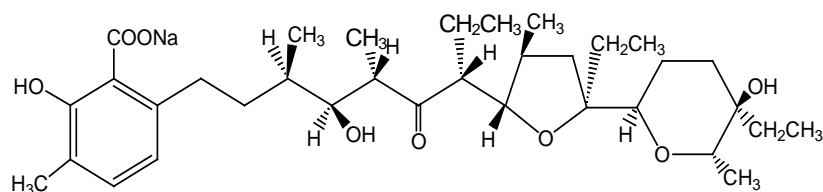
## 4. 分子式

C<sub>34</sub>H<sub>53</sub> NaO<sub>8</sub>

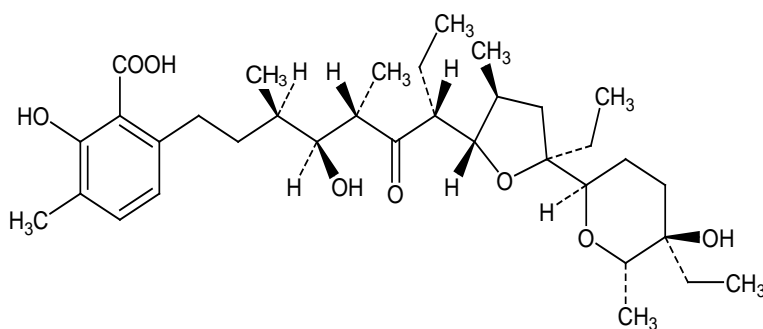
## 5. 分子量

612.78

## 6. 構造式



(参照 2、3)



Lasalocid A (参考)

## 7. 使用目的及び使用状況等

ラサロシドは、*Streptomyces lasaliensis* が産生するポリエーテル系の抗生物質であり、ナトリウム塩として使用される。ラサロシドナトリウム（以下「ラサロシド Na」という。）は1及び2価の陽イオンを結合するカルボン酸イオノフォアである。

ラサロシドは、ラサロシド A を主成分とし、その他の類縁物質としてラサロシド B、C、D 及び E を含む混合物であり、これらの類縁物質は活性成分の総重量の 10%以下である。主にグラム陽性菌に対して有効である。

ラサロシドは、海外では、家きん（鶏、七面鳥、きじ、やまうずら、うずら及びほろほろちょう）、牛及び羊のкокциジウム症予防のために動物用医薬品又は飼料添加物として使用される。ヒト用医薬品としては使用されていない。（参照 4、5、6、7、8、9）

日本では、ラサロシド Na が鶏及び牛の飼料添加物として指定されている。動物用医薬品としては承認、使用されていない。

ラサロシドはポジティブリスト制度導入に伴う残留基準値<sup>1</sup>が設定されている。（参照 1）また、厚生労働省からインポートトレランスに係る残留基準の設定のための評価の要請がなされている。

## II. 安全性に係る知見の概要

本評価書では、EMEA 評価書、飼料添加物指定のための審査用資料等を基に、ラサロシドの毒性に関する主な知見を整理した。

各種試験のほとんどがラサロシド Na を用いて実施されている。

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（マウス、吸収・分布・排泄）

マウス（CD-1 系、雄、5 匹/時点）に<sup>14</sup>C 標識ラサロシド Na を単回強制経口投与（1 mg/kg 体重）し、投与 15 及び 30 分後、並びに 1、3、6、24 及び 48 時間後に血液、組織（脳、カーカス<sup>2</sup>、心臓、肝臓、腎臓、肺、脾臓、胸腺、脂肪、胃、小腸及び大腸）、

<sup>1</sup> 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（参照 1）

<sup>2</sup> 組織・臓器を取り除いた残渣

消化管内容物、糞便及び尿を採取し、放射活性が測定された。

ラサロシド Na は、投与 15 分後に  $C_{max}$  (0.62  $\mu\text{g eq /mL}$ ) に達し、これは総投与放射活性 (TAR) の 1.4%であった。血中放射活性の  $T_{1/2}$  は 3 時間で、投与 24 時間後には、放射活性は検出されなくなった。

組織中の放射活性は、消化管組織を除き、投与 3 時間後までに最高値に達し、その後急速に減少した。最高濃度 (消化管組織を除く、ラサロシド Na 相当) は、肝臓における投与 1 時間後の 3.49  $\mu\text{g eq /g}$  で、TAR の 17.6%であった。投与 24 時間後では、消化管組織及び肝臓を除き放射活性は検出されなかった。投与 48 時間後では、肝臓でのみ検出され、濃度は、0.06  $\mu\text{g eq /g}$  で TAR の 0.35%であった。

消化管組織の最高濃度及び TAR に対する割合は、胃及び小腸でそれぞれ、投与 15 分後の 5.4 及び 2.6  $\mu\text{g eq /g}$  (6.3 及び 14.4%) であり、大腸では投与 6 時間後の 1.6  $\mu\text{g eq /g}$  (3.3%) であった。これらの組織の内容物では、それぞれ投与 15 分、3 時間及び 6 時間後に最高濃度が認められた。

TAR の約 95%が、投与 24 時間後までの糞便中から回収され、投与後 24~48 時間の糞便中からは 2%が回収された。尿中からは、投与 24 時間後までに 0.7%が回収され、24~48 時間の尿からは検出されなかった。(参照 2、10)

マウス (CD-1 系、雄、5 匹/時点) に  $^{14}\text{C}$  標識ラサロシド Na を 7 日間強制経口投与 (1 mg/kg 体重/日) し、最終投与 15 及び 30 分後、並びに 1、3、6、24 及び 48 時間後に血液、組織 (脳、カーカス、心臓、肝臓、腎臓、肺、脾臓、胸腺、脂肪、胃、小腸及び大腸)、消化管内容物、糞便及び尿を採取し、放射活性が測定された。

ラサロシド Na は、最終投与 30 分後に  $C_{max}$  (0.69  $\mu\text{g eq /mL}$ ) に達し、これは TAR の 0.23%であった。血中放射活性の  $T_{1/2}$  は 3 時間で、最終投与 24 時間後には、放射活性は検出されなくなった。

消化管組織を除き組織中濃度 (ラサロシド Na 相当) が最も高かったのは、肝臓における最終投与 3 時間後の 2.64  $\mu\text{g eq /g}$  で、TAR に対する割合は、1.95%であった。その他の組織における最高濃度、TAR に対する割合及び最終投与後の時間は、心臓 (0.37  $\mu\text{g eq /g}$ 、0.04%、30 分)、腎臓 (0.19  $\mu\text{g eq /g}$ 、0.05%、30 分~3 時間)、肺 (0.33  $\mu\text{g eq /g}$ 、0.03%、1 時間)、脾臓 (0.12  $\mu\text{g eq /g}$ 、0.004%、1 時間)、胸腺 (0.21  $\mu\text{g eq /g}$ 、0.004%、1 時間) であった。最終投与 48 時間後では、消化管組織を除き放射活性が検出されたのは、肝臓 (0.13  $\mu\text{g eq /g}$ 、0.09%) 及び腎臓 (痕跡、0.001%) のみであった。

消化管組織及びその内容物中の最高濃度及び TAR に対する割合の最高値は、胃では組織、内容物ともに最終投与 15 分後、小腸では組織で 15 分後、内容物で 1 時間後 (最高濃度) 及び 3 時間後 (TAR に対する割合の最高値)、大腸では組織、内容物ともに 6 時間後にみられ、糞便では 24 時間後に最高値が認められた。

TAR の 96%が最終投与 24 時間後までの糞便中から回収され、24~48 時間では 0.45% (濃度: 0.47  $\mu\text{g eq /mL}$ ) が回収された。尿中からは、最終投与 24 時間後までに 0.11% が回収され、24~48 時間の尿からは検出されなかった。(参照 2、11)

マウス (CD-1 系、6 週齢、雌雄各 5 匹) に  $^{14}\text{C}$  標識ラサロシド Na を単回強制経口投

与 (1 mg/kg 体重) し、投与 4、8、12、24、48 及び 72 時間後に糞便及び尿を採取し、放射活性を測定した。

投与 72 時間後までに雄及び雌の糞便からそれぞれ TAR の  $96.3 \pm 2.0$  及び  $95.7 \pm 1.0\%$  が回収され、それぞれ約 95 及び約 92% が投与 24 時間後までに、約 2 及び約 3% が投与後 24~72 時間に回収された。回収率の最高値は、雄では投与後 8~12 時間に、雌では投与後 4~8 時間にみられ、それぞれ TAR の約 58 及び約 49% であった。放射活性の排泄速度に雌雄で有意な差はみられなかった。

投与 72 時間後までの尿からは、雌雄ともに TAR の 1% 未満 (雄:  $0.9 \pm 0.1\%$ 、雌:  $0.9 \pm 0.4\%$ ) が回収された。(参照 2、12)

マウス (CD-1 系、投与群: 雌雄各 13 匹、対照群(無投与): 雌雄各 5 匹) に  $^{14}\text{C}$  標識ラサロシド Na を 7 日間強制経口投与 (1 mg/kg 体重/日、1 回/日、30% エタノール/水溶液) し、薬物動態試験が実施された。

初回投与 24 時間後までに、投与放射活性の 96.68% が排泄物 (糞 89.75%、尿 1.44%) 及びケージ洗浄液 (5.49%) から回収された。最終投与 4 時間後までに、糞、尿及びケージ洗浄液からそれぞれ、TAR の 77.08、1.01 及び 2.61% が回収された。

最終投与 4 時間後に採取された肝臓中の放射活性濃度 (ラサロシド Na 相当) は、 $2.05 \mu\text{g eq/g}$  であった。(参照 2、49)

## (2) 薬物動態試験 (ラット、吸収・分布・排泄)

ラット (SD 系、雄、5 匹/時点) に  $^{14}\text{C}$  標識ラサロシド Na を単回強制経口投与 (1 mg/kg 体重) し、投与 15 及び 30 分後、並びに 1、3、6、24 及び 48 時間後に血液、組織 (脳、カーカス、心臓、肝臓、腎臓、肺、脾臓、胸腺、脂肪、胃、小腸及び大腸)、消化管内容物、糞便及び尿を採取し、放射活性が測定された。

ラサロシド Na は、投与 3 時間後に  $C_{\text{max}}$  ( $0.05 \mu\text{g eq/mL}$ ) に達し、これは TAR の 0.12% であった。全血の放射活性の  $T_{1/2}$  は 4.8 時間で、投与 48 時間後には、放射活性は検出されなかった。

消化管組織を除き組織中濃度 (ラサロシド Na 相当) が最も高かったのは、肝臓における投与 6 時間後の  $2.85 \mu\text{g eq/g}$  で、TAR に対する割合は、10.0% であった。その他の各組織におけるこれらの最高値は、投与 6 時間後まで (肺及びカーカス: 15 分後まで、脳、脂肪、心臓、腎臓及び脾臓: 3 時間後、胸腺: 6 時間後) に認められ、投与 48 時間後では、消化管組織を除き放射活性が検出されたのは、肝臓 ( $0.09 \mu\text{g eq/g}$ 、0.38%) 及び心臓 ( $0.001 \mu\text{g eq/g}$ 、0.0005%) のみであった。

消化管組織及びその内容物中の最高濃度及び TAR に対する割合の最高値は、胃では組織で最終投与 30 分後、内容物で 15 分後、小腸では組織及び内容物ともに 3 時間後、大腸では組織及び内容物ともに 6 時間後にみられた。投与 48 時間後においても、消化管組織及びその内容物中に放射活性がみられ、その大部分は大腸内容物 ( $0.21 \mu\text{g eq/g}$ 、0.49%) に認められた。

TAR の 86% が投与 24 時間後までの糞便中から回収され、投与後 24~48 時間では 9% (濃度:  $2.57 \mu\text{g eq/mL}$ ) が回収された。尿中からは、0.2% (濃度:  $0.03 \mu\text{g eq/mL}$ ) が投

与 24 時間後までに回収され、24~48 時間の尿からは検出されなかった。(参照 2、13)

ラット (SD 系、8 週齢、雌雄各 5 匹) に  $^{14}\text{C}$  標識ラサロシド Na を単回強制経口投与 (1 mg/kg 体重) し、投与前 (24 時間前まで、対照) 並びに投与 4、8、12、24、48 及び 72 時間後に糞便及び尿を採取し、放射活性を測定した。

投与 72 時間後までに雄及び雌の糞便からそれぞれ TAR の  $91.8 \pm 4.0$  及び  $86.3 \pm 6.5\%$  が回収され、それぞれ約 81 及び約 59% が投与 24 時間後までに、約 11 及び約 28% が投与後 24~72 時間に回収された。回収率の最高値は、雌雄ともに投与後 8~12 時間にみられ、それぞれ TAR の約 80 及び約 50% であった。以上のように、放射活性の排泄速度は、雌の方が雄より遅かった。

投与 72 時間後までの尿からは、雌雄ともに TAR の 1% 未満 (雄:  $0.3 \pm 0.1\%$ 、雌:  $0.4 \pm 0.1\%$ ) が回収された。(参照 2、14)

胃及び総胆管上部にカニューレを施し、胃カテーテルを挿入してタウロコール酸ナトリウムを持続注入したラット (SD 系、8 週齢、雄、5 匹) を用いて、 $^{14}\text{C}$  標識ラサロシド Na を単回強制経口投与 (1 mg/kg 体重) し、胆汁 (投与前 6~24 時間(対照)並びに投与 2、4、6、8、12、24、30 及び 48 時間後)、糞便及び尿 (投与前 24 時間(対照)並びに投与 4、8、12、24 及び 48 時間後) 並びに組織 (カーカス、消化管内容物、消化管組織及び肝臓、投与 48 時間後) の放射活性を測定した。

投与 48 時間後までに TAR の  $58.7 \pm 6.8\%$  が胆汁から回収された。1 時間当たりの回収率 (%/時間) は投与 4~6 時間後に最高値となった。投与 8、12 及び 24 時間後までの回収は、それぞれ TAR の 32.8、44.0 及び 54.9% であり、投与 24~48 時間後は 3.75% であった。胆汁中の最高放射活性濃度 (ラサロシド Na 相当、 $9.7 \pm 9.0 \mu\text{g eq/mL}$ ) は投与 2 時間後までにみられ、吸収は速やかであった。

投与 48 時間後までに TAR の  $37.1 \pm 7.0\%$  が糞便中から回収され、投与 24 時間後までに TAR の 34.7% (糞便中総放射活性の 93.7%) が回収された。糞便中の最高放射活性濃度 ( $22.3 \pm 19.7 \mu\text{g eq/g}$ ) は投与 4~8 時間後にみられた。

投与 48 時間後までに TAR の  $1.1 \pm 0.9\%$  が尿中から回収された。尿中の最高放射活性濃度 ( $0.9 \pm 1.2 \mu\text{g eq/mL}$ ) は投与 4~8 時間後にみられた。

投与 48 時間後の組織中からは、TAR の  $1.6 \pm 0.9\%$  が回収され、消化管内容物、消化管組織及び肝臓中からそれぞれ 0.44、0.07 及び 0.94% が回収された。組織中濃度は、それぞれ 0.28、0.01 及び  $0.22 \mu\text{g eq/g}$  であった。カーカスの放射活性は検出限界 ( $0.0054 \mu\text{g eq/g}$ ) 以下であった。

TAR の 98.36% が回収された (表 1)。(参照 2、15)

表 1 ラットにおける  $^{14}\text{C}$  標識ラサロシド Na 単回強制経口投与 48 時間後までの各組織中総放射活性の TAR に対する割合 (回収率)

組織		回収率 (%)	合計 (%)
非吸収	糞便	37.05	37.49
	消化管内容物	0.44	
吸収	胆汁	58.67	60.87
	カーカス	0.13 <sup>a</sup>	
	消化管組織	0.07	
	肝臓	0.94	
	尿	1.05	
総合計			98.36

a : 検出限界(0.4363%)未満 (カーカス中濃度が検出限界(0.0054  $\mu\text{g eq/g}$ )未満)

ラット (SD 系、雌雄各 26 匹) に非標識ラサロシド Na を 2 週間混餌投与 (70 ppm の用量で 1 週間、その後 80 ppm で 1 週間、6.5 mg/kg 体重/日相当) した後、 $^{14}\text{C}$  標識ラサロシド Na<sup>3</sup> を 3 日間混餌投与 (80 ppm、雌雄それぞれ  $6.9 \pm 0.7$  及び  $6.2 \pm 0.3$  mg/kg 体重/日相当) し、最終投与 0、1 及び 3 日後 (雌雄各 5 匹) 並びに 5 日後 (雌雄各 6 匹) の肝臓の放射活性が測定された。

最終投与後、肝臓中の放射活性は急速に低下し、最終投与 0、1、3 及び 5 日後の肝臓中放射活性濃度 (ラサロシド Na 相当) は、雄では、12.3、4.76、0.58 及び 0.35 mg eq/kg、雌では、26.8、9.05、1.56、0.46 mg eq/kg であった。鶏 (雌) を用いた同様の試験 (薬物動態試験 [II. 1. (3)]) では、それぞれ 10.3、0.99、0.24 及び 0.19 mg eq/kg であり、同様の減衰傾向がみられた。(参照 2、16)

ラット (SD 系、投与群: 雌雄各 5 匹、対照群(無投与): 雌雄各 3 匹) に  $^{14}\text{C}$  標識ラサロシド Na を 7 日間強制経口投与 (1 mg/kg 体重/日、1 回/日、30 %エタノール/水溶液) し、薬物動態試験が実施された。

初回投与 24 時間後までに、投与放射活性の 67.37 % が排泄物 (糞 66.70 %、尿 0.67 %) から回収された。最終投与 4 時間後までに、糞及び尿からそれぞれ、TAR の 73.46 及び 0.60 % が回収された。ケージ洗浄液中の放射活性は、いずれの時点においても検出限界未満であった。

最終投与 4 時間後に採取された肝臓中の放射活性濃度 (ラサロシド Na 相当) は、3.63  $\mu\text{g eq/g}$  であった。(参照 2、50)

### (3) 薬物動態試験 (鶏、吸収・分布・排泄)

鶏 (肉用種、33 日齢、雌、投与群 12 羽、対照群 4 羽) に非標識ラサロシドを 16 日間混餌投与 (75 ppm) した後、 $^{14}\text{C}$  標識ラサロシド<sup>4</sup> を 3 日間混餌投与 (75 ppm、5 mg/

<sup>3</sup>  $^{14}\text{C}$  標識酪酸を前駆体として生合成

<sup>4</sup>  $^{14}\text{C}$  標識酪酸基質を用いる発酵法で調製

カプセル/羽/日) し、薬物動態試験が実施された。結果を表 2 及び 3 に示した。

血中  $C_{max}$  (ラサロシド相当) は、投与 2 時間後の  $5.80 \mu\text{g eq/mL}$  で、血中放射活性の  $T_{1/2}$  は 3 時間であった。最終投与 48 時間後の血中濃度は  $0.04 \mu\text{g eq/mL}$  に低下した。

全ての可食組織で最終投与 2 時間後に最高濃度に達し、肝臓、腎臓、筋肉、皮膚及び脂肪から 10.28、3.042、0.760、1.503 及び  $1.354 \mu\text{g eq/g}$  が検出された ([II. 2. (6)]表 15 参照)。

TAR の 98.0%が組織及び排泄物 (尿及び糞便) から回収され、最終投与 24 時間後までに TAR の 94.3%が排泄物から回収された。(参照 2、17)

表 2 鶏における  $^{14}\text{C}$  標識ラサロシド 3 日間混餌投与後の血中総放射活性濃度

最終投与後時間 (時間)	2	6	24	48	72	96	120
血中濃度 <sup>a</sup> ( $\mu\text{g eq/mL}$ )	5.80	2.23	0.13	0.04	0.03	0.01 <sup>b</sup>	0.01 <sup>b</sup>

a : ラサロシド相当      b : 参考値 (検出限界:  $0.015 \mu\text{g eq/mL}$  未満)

表 3 鶏における  $^{14}\text{C}$  標識ラサロシド 3 日間混餌投与後の組織中総放射活性の TAR に対する割合 (%)

組織	最終投与後時間 (時間)					
	2	24	48	72	96	120
可食組織 <sup>a</sup>	6.59	0.69	0.13	0.07	0.05	0.05
非可食組織 <sup>b</sup>	27.76	4.17	0.42	0.20	0.14	0.03
尿/糞便	68.69	94.26	96.02	98.16	94.30	96.52
合計	103.04	99.12	96.57	98.43	94.49	96.60
平均総回収率	98.04					

a : 肝臓、腎臓、筋肉、皮膚、脂肪及び血液を含む。      b : 消化器系、胆嚢、脾臓及び心臓を含む。

鶏 (肉用種、雌雄各 3 羽/群) に  $^{14}\text{C}$  標識ラサロシド Na (主要化合物ラサロシド A 並びに類縁物質ラサロシド B~E を含む。) を 7 日間経口投与 ( $125 \text{ mg/kg}$  体重/日、カプセル、2 回/日) し、薬物動態試験が実施された。結果を表 4 及び 5 に示した。

血漿中の総放射活性は、投与開始 2 時間後に最高濃度  $1.30 \mu\text{g eq/g}$  (ラサロシド Na として) に達し、その後、徐々に低下し、投与開始 8 時間後に  $0.35 \mu\text{g eq/g}$  となった。投与開始 24~168 時間後では、 $0.43$  から  $0.56 \mu\text{g eq/g}$  に上昇し、216 時間後以降は、定量限界 ( $0.03 \mu\text{g eq/g}$ ) 未満となり、336 時間後 (最終投与 184 時間後) には最小値  $0.003 \mu\text{g eq/g}$  (参考値) となった (表 4)。

投与開始 336 時間後までに、TAR の 90.6%が、排泄物、ケージ洗浄液及び羽毛洗浄液から回収され、それぞれ 88.7、1.80 及び 0.04%を占めた。これらの排泄物由来の総放射活性の 99.0%は、投与開始 168 時間後 (最終投与 16 時間後) までに回収され、排泄は急速であった。この時点 (最終投与 16 時間後) までに、TAR の 89.7%が排泄物 (排

泄物及びケージ洗浄液からそれぞれ 88.2 及び 1.5%) から回収された (表 5)。(参照 2、18)

表 4 鶏における  $^{14}\text{C}$  標識ラサロシド Na 7 日間経口投与後の血漿中総放射活性濃度 ( $\mu\text{g eq/g}$ )

投与開始後時間 (時間)	血漿中濃度 ( $\mu\text{g eq/g}$ )	投与開始後時間 <sup>a</sup> (時間)	血漿中濃度 ( $\mu\text{g eq/g}$ )
0.25	$0.058 \pm 0.058^b$	72 <sup>c</sup>	$0.539 \pm 0.154$
0.5	$0.286 \pm 0.200$	120 <sup>c</sup>	$0.558 \pm 0.247$
1	$0.984 \pm 0.391$	168 (16)	$0.560 \pm 0.236$
2	$1.301 \pm 0.270$	216 (64)	<0.03 ( $0.022 \pm 0.013$ ) <sup>b</sup>
4	$0.847 \pm 0.190$	264 (112)	<0.03 ( $0.009 \pm 0.006$ ) <sup>b</sup>
8 <sup>c</sup>	$0.349 \pm 0.095$	312 (160)	<0.03 ( $0.005 \pm 0.002$ ) <sup>b</sup>
24 <sup>c</sup>	$0.428 \pm 0.224$	336 (184)	<0.03 ( $0.003 \pm 0.002$ ) <sup>b</sup>

a : ( )内の数字は最終投与後時間    b : 数字は参考値 (30 dpm 未満のデータを含む。)

c : 投与直前血液サンプル採取    定量限界:  $0.03 \mu\text{g eq/g}$

表 5 鶏における  $^{14}\text{C}$  標識ラサロシド Na 7 日間経口投与後の排泄物中総放射活性の TAR に対する割合 (回収率%)

投与開始後時間 <sup>a</sup> (時間)	回収率 (%)	投与開始後時間 <sup>a</sup> (時間)	回収率 (%)
24	$12.58 \pm 1.73$	192 (40)	$88.58 \pm 4.83$
48	$24.91 \pm 2.82$	216 (64)	$88.66 \pm 4.85$
72	$36.87 \pm 4.16$	240 (88)	$88.70 \pm 4.85$
96	$48.84 \pm 5.15$	264 (112)	$88.71 \pm 4.85$
120	$61.52 \pm 4.59$	288 (136)	$88.72 \pm 4.85$
144	$74.90 \pm 4.55$	312 (160)	$88.72 \pm 4.85$
168 (16)	$88.17 \pm 4.73$	336 (184)	$88.73 \pm 4.85$

a : ( )内は最終投与後時間

鶏 (肉用種、7 週齢、雌雄各 3 羽/群) に  $^{14}\text{C}$  標識ラサロシド Na を 7 日間混餌投与 (0 及び 127 ppm) し、排泄物を投与開始直前及びその後 24 時間間隔で採取し、LSC で放射活性を測定した。肝臓は最終投与 8 時間後に採取し、放射活性測定及び HPLC 分析を行った。

最終投与 8 時間後までに TAR の 77.53% が排泄物から回収された。最終投与 8 時間後



の肝臓中放射活性濃度（ラサロシド Na 相当）は、2.01  $\mu\text{g eq/g}$  で、HPLC 測定による未変化体ラサロシドの濃度（ラサロシド Na 相当）は、0.094  $\mu\text{g/g}$  であった。総残留放射活性（TRR）に対する未変化体の割合は、4.7%であった。（参照 2、19）

鶏（肉用種、雄、28 日齢、投与群 40 羽(5 羽/時点)、対照(無投与)群 10 羽) にラサロシドを 14 日間混餌投与（90 ppm 混餌飼料 100 g/羽/日）し、最終投与 0～7 日後までの血液（心臓穿刺）、肝臓及び筋肉（胸筋）を採取して ELISA により血清及び組織中残留濃度を測定した（検出限界：血清、肝臓及び筋肉でそれぞれ 0.016 ng/mL、0.09 及び 0.01 ng/g）。

血清、肝臓及び筋肉中のラサロシド濃度の  $T_{1/2}$  は、それぞれ 11、36 及び 41 時間で、最終投与 7 日後の濃度は、それぞれ 0.1 ng/mL 未満、約 10 ng/g 及び 1.0 ng/g 未満であった。（参照 2、20）

#### （4）薬物動態試験（七面鳥、吸収・分布・排泄）

七面鳥（B.U.T Big 6 系、投与群：雌雄各 8 羽、対照群：雌雄各 1 羽）に  $^{14}\text{C}$  標識ラサロシド Na を 14 日間混餌投与（127 ppm）し、排泄物、血液及び組織中の放射活性濃度及びラサロシド濃度を、LSC 及び HPLC/FLD で測定した。結果を表 6 に示した。

投与開始 24 時間後で投与放射活性の 57.51（雄）及び 56.72（雌）%が排泄物中に排泄され、排泄は速やかであった。最終投与 120 時間後の雄では、TAR の 83.48%が排泄され、雌では 80.19%が排泄された。

投与期間中の血中放射活性濃度（ラサロシド Na 相当）は、雄で 0.42～0.62 及び雌で 0.75～1.21  $\mu\text{g eq/g}$  で雌の方が高かった。最終投与 8、24、96 及び 120 時間後には、雄でそれぞれ 0.34、0.15、0.07 及び 0.04  $\mu\text{g eq/g}$  に低下し、雌ではそれぞれ 0.50、0.19、0.07 及び 0.04  $\mu\text{g eq/g}$  に低下した。

血液中の未変化体ラサロシド濃度（ラサロシド Na 相当）は、最終投与 8 時間後に 13.7～65.8 ng/g であり、最終投与 24 時間後以降では、ほとんど検出限界（5 ng/g）未満となった。

組織中総放射活性濃度（ラサロシド Na 相当）では、最終投与後のいずれの時点においても胆汁又は肝臓の値が最も高く、最終投与 8 時間後では、それぞれ 304.23（271.00～346.63）及び 3.38（2.59～4.18） $\mu\text{g eq/g}$  であった。

組織中の未変化体ラサロシド濃度（ラサロシド Na 相当）は、肝臓、筋肉及び腹部脂肪で最終投与後の全ての時点において検出限界（それぞれ 0.025、0.025 及び 0.1  $\mu\text{g/g}$ ）未満であった。最終投与 8 時間後の腎臓及び皮膚/脂肪の各 1 例並びに 96 時間後の皮膚/脂肪の 1 例では検出可能な濃度であった（それぞれ 0.027、0.17 及び 0.11  $\mu\text{g/g}$ ）。（参照 2、21）

表 6 七面鳥における  $^{14}\text{C}$  標識ラサロシド Na14 日間混餌投与後の体液及び組織中総放射活性濃度 (ラサロシド Na 相当、 $\mu\text{g eq/g}$ )

組織	最終投与後時間 (時間) <sup>a</sup>					
	8	24	48	72	96	120
血液	0.42	0.18	0.13	0.09	0.07	0.04
肝臓	3.38	1.43	1.49	1.04	1.10	0.87
腎臓	0.43	0.20	0.17	0.12	0.12	0.08
胆汁	304.23	6.09	4.60	1.66	1.14	0.82
筋肉	0.03	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02
腹部脂肪	0.16	0.08	0.10	0.12	0.13	0.12
皮膚/脂肪	0.30	0.16	0.11	0.10	0.14	0.09

a : 8 時間後 (n=6)、24~120 時間後 (n=2)

#### (5) 薬物動態試験 (牛、吸収・分布・排泄)

牛(肉用種、子牛、雌雄各 6 頭)に  $^{14}\text{C}$  標識ラサロシド Na を 10 日間経口投与 (1 mg/kg 体重/日、1 日 2 回、カプセル) し、薬物動態試験が実施された。

牛(雌雄各 2 頭)を用いて、最終投与 168 時間 (7 日間) 後まで、血液、尿及び糞便を定期的に採取した後、組織を残留分析に供した。残りの 8 頭は、最終投与 0 及び 72 時間後にそれぞれ雌雄各 2 頭を残留分析に供した。

血漿中濃度は、投与開始後約 144 時間で定常状態に達し、最終投与後、急速に低下した。排泄の主要経路は糞便で、投与量の平均 74% が最終投与 1 日後までに排泄され、最終投与 7 日後では 80% が排泄された。一方、尿への排泄は非常に少なく、最終投与 7 日後で投与量の 0.6% であった。未変化体が、糞便及び尿で検出された唯一の化合物であった。

TRR 濃度は肝臓で最高値を示し (最終投与後 0、72 及び 168 時間で、それぞれ 3.6、1.1 及び 0.4  $\mu\text{g/kg}$ )、筋肉では低かった (0.05  $\mu\text{g/kg}$  未満)。総残留濃度は時間経過とともに徐々に低下した。最終投与 0 及び 72 時間後の肝臓中に、未変化体とは別の 3 種類の成分が 0.1  $\mu\text{g eq/g}$  以上の濃度で検出されたが、いずれも TRR の 10% 未満であった。さらに、多くの微量成分 (0.1  $\mu\text{g eq/g}$  未満) が認められたが、これらは最終投与 72 時間後では検出されなかった。LC/MS 分析により、これらの代謝物の同定が行われ、ジヒドロキシラサロシド及びヒドロキシラサロシドが同定された。その他の代謝物については、同定されなかった。腎臓及び脂肪では、未変化体が主要残留物質であった。筋肉では、残留濃度が低く、解析されなかった。(参照 7)

#### (6) 代謝試験 (鶏)

鶏(肉用種、雌雄各 3 羽/群)に  $^{14}\text{C}$  標識ラサロシド Na を 7 日間経口投与 (125 mg/kg 体重/日、カプセル、2 回/日) し、代謝試験が実施された。

排泄物及び組織 (肝臓、腎臓、筋肉及び皮膚/脂肪) 中の放射活性はメタノール及び水/メタノールで抽出可能で、ラサロシドは抽出条件下で安定であった。抽出物を用いて

HPLC 解析が実施された。排泄物中のラサロシド及び代謝物の TAR 及び TRR に対する割合を表 7 に示した。

投与開始 24 及び 168 時間（最終投与 16 時間）後の排泄物の解析では、ラサロシド A の後に溶出された 3 種類の成分がラサロシド類縁物質と考えられ、雌雄ともにラサロシド A が主要成分であり、TAR の 9.6~10.6%（TRR の 74.3~82.8%）であった。5~9 種類の放射活性成分が検出され、ラサロシド A の後に溶出された 3 種類の成分が類縁物質と考えられ、168 時間後では TAR の 0.10~0.53%（TRR の 0.8~4.1%）であった。投与開始 168 時間（最終投与 16 時間）後の組織の解析においても、ラサロシド A が雌雄ともに全ての組織で主要残留物質であり、組織から最大 7 種類の放射活性成分が検出され、そのうちの最大 2 種類がラサロシドの類縁物質と考えられた。未同定成分（最大 5 種類）は、168 時間後で TAR の 0.04~0.56%（TRR の 0.3~4.4%）であった。代謝プロフィールは、全ての組織及び雌雄でほぼ同様であり、排泄物においても同様であった。

LC/MS 解析では、ラサロシド A が雄の肝臓、腎臓及び皮膚/脂肪において残留マーカであることが確認された。また、代謝プロフィールとの関連性を踏まえて、ラサロシド A が雌雄の全組織で残留マーカとなることが示された。また、HPLC では、いずれのラサロシド類縁物質もラサロシド A と同時に溶出されなかったことから、ラサロシド A が選択的に測定されたことが示された。（参照 2、18）

表 7 鶏における <sup>14</sup>C 標識ラサロシド Na7 日間経口投与後の排泄物中のラサロシド A 及び代謝物の TAR 及び TRR に対する割合 (%)

解析対象物質	投与開始後時間（時間）			
	24		168 <sup>a</sup>	
	%TAR	%TRR	%TAR	%TRR
ラサロシド A	10.6、10.0 <sup>b</sup>	81.0、82.8 <sup>b</sup>	9.6、10.5 <sup>b</sup>	74.3、76.9 <sup>b</sup>
ラサロシド類縁物質	0.15~0.31	1.2~2.4	0.10~0.53	0.8~4.1
未同定物質	0.08~0.32	0.7~2.6	0.04~0.56	0.3~4.4

a : 最終投与 16 時間後    b : 雄、雌の順に記載

#### (7) 代謝試験（マウス、ラット、イヌ、鶏、七面鳥及び豚）

マウス、ラット、イヌ、鶏、七面鳥及び豚を用いて、<sup>14</sup>C 標識ラサロシド Na を投与（投与量不明）し、糞便及び肝臓を採取して、代謝プロフィールを比較した。採取したサンプルは、凍結乾燥後、メタノール、続いてヘキサン又はクロロホルムで抽出し、LSC、TLC 及び HPLC により分析された。

全ての動物種の代謝物の構成は同様であったが、それぞれの量は異なっていた。これらの動物種の糞便では、総放射活性の 67.8~82.1%がメタノール抽出画分にみられた。全ての動物種の糞便及び肝臓における主要成分は、未変化体のラサロシドであった。糞便中の総放射活性に対する未変化体の割合は、ラット、イヌ及び豚の間（それぞれ 43.7、32.2 及び 33.2%）並びに鶏及び七面鳥の間（それぞれ 12.0 及び 10.0%）で類似性がみ

られたが、肝臓中では、それぞれ 3.8～31.9%の範囲であり、動物種により異なっていた (表 8)。(参照 2、22)

表 8 各動物種における糞便及び肝臓中の総放射活性に対するラサロシドの割合 (%)

動物種	糞便	肝臓
マウス	22.1	28.1
ラット	43.7	31.9
イヌ	32.2	18.1
鶏	12.0	11.4
七面鳥	10.0	3.8
豚	33.2	6.2

## 2. 残留試験

### (1) 残留試験 (牛) ①

牛 (2～3 か月齢、6 頭/時点) にラサロシドを 28 日間混餌投与 (1.05 mg/kg 体重/日) し、最終投与 12、24、72、120 及び 168 時間後のラサロシド A の組織中残留を LC/MS/MS で分析した。結果を表 9 に示した。

肝臓では、ラサロシド A が最終投与 120 時間後 (17.90±7.80 µg/kg) まで検出された。

腎臓、筋肉及び脂肪では、最終投与 72 時間後には検出されなくなった。(参照 7)

表 9 牛におけるラサロシド 28 日間混餌投与後の組織中ラサロシド A 濃度 (µg/kg)

組織	最終投与後時間 (時間)			
	12	24	72	120
肝臓	1,165.06±300.55	943.22±373.38	101.39±51.09	17.90±7.80
腎臓	22.20±6.27	26.48±15.98	<LOQ	<LOQ
筋肉	12.58±9.98	13.68±6.80	<LOQ	<LOD
脂肪	21.73±7.91	20.14±14.25	<LOQ	<LOD

<LOQ: 定量限界 (全組織 5 µg/kg) 未満

<LOD: 検出限界 (肝臓 0.13、腎臓及び筋肉 0.14、脂肪 2.81 µg/kg) 未満

総放射性残留物と代謝プロフィールの結果から、ラサロシド A が残留マーカーとして用いられた。最終投与後 0 日の残留マーカー濃度と総残留濃度から総残留に対する残留マーカーの比率が算出され、肝臓、腎臓及び脂肪でそれぞれ 13.1(0.489/4.047)、33.1 (0.018/0.056)及び 25.3%(0.027/0.107)であった。筋肉では、残留濃度が低かったことから 1 とされた。(参照 7)

### (2) 残留試験 (牛) ②

子牛 (性別、頭数等不明) にラサロシド Na を 105 日間混餌投与 (33 及び 99 ppm(力

価) し、投与開始 35 及び 71 日後並びに最終投与 0、1、3 及び 5 日後の組織 (血清、肝臓、腎臓、筋肉、脂肪及び小腸) 中の残留をバイオオートグラフィーで分析した (検出限界: 組織 0.02~0.04 µg(力価)/g、血清 0.02~0.08 µg(力価)/mL)。

33 ppm 投与群では、全ての時点の全ての組織で、検出限界未満であった。99 ppm 投与群では、投与開始 35 及び 71 日後並びに最終投与 0 日後の肝臓でそれぞれ 0.11~0.14、0.02~0.04 及び 0.02 µg (力価)/g、投与開始 71 日後の小腸で 0.03µg (力価)/g の残留がみられた。その他の組織では、いずれの時点においても検出限界未満であった。(参照 3)

子牛にラサロシド Na を 105 日間混餌投与 (33 及び 99 ppm(力価)) し、最終投与 0、6、24 及び 48 時間後の組織 (血清、肝臓、腎臓、筋肉、脂肪及び小腸) 中の残留をバイオオートグラフィーで分析した (検出限界: 組織 0.02~0.04 µg(力価)/g、血清 0.02~0.08 µg(力価)/mL)。

33 ppm 投与群の最終投与 0 時間後の肝臓 (0.06~0.07 µg(力価)/g) 並びに 99 ppm 投与群の最終投与 0 及び 6 時間後の肝臓 (それぞれ 0.20 及び 0.11~0.13 µg(力価)/g) で残留がみられた。その他の組織では、いずれの時点においても検出限界未満であった。(参照 3)

子牛 (性別、頭数等不明) にラサロシド Na を 300 日間混餌投与 (33 及び 66 ppm(力価)) し、最終投与 0、1、及び 3 日後の組織 (血清、肝臓、腎臓、筋肉、脂肪及び小腸) 中の残留をバイオオートグラフィーで分析した (検出限界: 組織 0.02~0.04 µg(力価)/g、血清 0.02~0.08 µg(力価)/mL)。

全ての組織において、いずれの時点においても検出限界未満であった。(参照 3)

### (3) 残留試験 (乳汁)

牛 (乳用種) にラサロシド Na を 8 日間混餌投与 (545 mg/頭/日) し、HPLC/FLD を用いて乳汁中の残留分析が実施された。投与中及び投与後のいずれにおいても残留は認められなかった。(参照 3)

### (4) 残留試験 (鶏) ①

鶏 (肉用種、雌雄各 3 羽/群) に <sup>14</sup>C 標識ラサロシド Na を 7 日間経口投与 (125 mg/kg 体重/日、カプセル、2 回/日) し、薬物動態試験 ([Ⅱ. 1. (3)]参照) 及び代謝試験 ([Ⅱ. 1. (6)]参照) と併せて残留試験が実施された。組織中の総放射活性濃度及びラサロシド A 濃度を LSC 及び HPLC/LSC 又は HPLC/FLD を用いて測定した。結果を表 10~表 12 に示した。

測定期間中の組織中最高濃度は、最終投与 16 時間後の肝臓の 1.22 µg eq/g であった。腎臓及び皮膚/脂肪における最高値も最終投与 16 時間後にみられ、それぞれ 0.40 及び 0.43 µg eq/g で比較的高い値であった。筋肉では 0.08 µg eq/g であった。残留放射活性の組織分布のパターンは、調べた全ての時点で同様で、濃度は時間とともに低下し、最終投与 184 時間後 (休薬 7 日) には全ての組織で最小 (肝臓、腎臓、筋肉及び皮膚/脂肪でそれぞれ 0.14、0.02、<0.005 及び 0.02 µg eq/g) となった (表 10)。

最終投与 16 時間後の各組織中のラサロシド A の濃度は、肝臓、腎臓、筋肉及び皮膚/脂肪でそれぞれ 0.235、0.122、0.041 及び 0.208  $\mu\text{g eq/g}$  であった。最終投与 40、88 及び 136 時間後では、それぞれ肝臓で 73.9、49.7 及び 37.4、腎臓で 24.5、21.6 及び 29.4、皮膚/脂肪で 32.7、22.9 及び 23.0  $\text{ng/g}$  であり、筋肉ではこれらの全時点で定量限界 (19.7  $\text{ng/g}$ ) 未満であった。最終投与 184 時間後 (休薬 7 日) には、これらの全ての組織で定量限界 (19.7  $\text{ng/g}$ ) 未満となった (表 11)。

最終投与 16、40、88 及び 136 時間後の肝臓の TRR に対するラサロシド A の比率は、それぞれ 22.4、8.6、9.5 及び 13.2% であった。腎臓及び皮膚/脂肪における比率は、両者ともに調べた全時点で肝臓より大きかった (腎臓: それぞれ 40.6、14.2、27.0 及び 85.8%、皮膚/脂肪: それぞれ 51.8、28.3、33.9 及び 38.8%)。最終投与 16 時間後 (休薬 0 日) の筋肉では、55.2% であった (表 12)。(参照 2、18)

表 10 鶏における  $^{14}\text{C}$  標識ラサロシド Na 7 日間経口投与後の組織中総放射活性濃度 (ラサロシド Na 相当、 $\mu\text{g eq/g}$ )

組織	最終投与後時間 (時間)				
	16	40	88	136	184
肝臓	1.22±0.47	0.84±0.18	0.56±0.16	0.33±0.12	0.14±0.06
腎臓	0.40±0.19	0.17±0.05	0.10±0.02	0.07±0.03	0.02±0.01
筋肉	0.08±0.02	0.02±0.01	0.02±0.01	0.01±0.01	<0.005 (0.002±0.001) <sup>a</sup>
皮膚/脂肪	0.43±0.36	0.11±0.03	0.07±0.02	0.06±0.02	0.02±0.01

定量限界: 0.005  $\mu\text{g eq/g}$

a : 参考値 (30 dpm 未満のデータを含む。)

表 11 鶏における  $^{14}\text{C}$  標識ラサロシド Na 7 日間経口投与後の組織中ラサロシド A 濃度 ( $\text{ng eq/g}$  又は  $\text{ng/g}$ )

組織	最終投与後時間 (時間)				
	16 <sup>a</sup>	40 <sup>b</sup>	88 <sup>b</sup>	136 <sup>b</sup>	184 <sup>b</sup>
肝臓	234	73.9	49.7	<37.4	<LOQ
腎臓	122	<24.5	<21.6	<29.4	<LOQ
筋肉	41	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
皮膚/脂肪	208	<32.7	<22.9	<23.0	<LOQ

a : HPLC/LSC 測定 (定量限界: 肝臓・腎臓・筋肉 1.156  $\text{ng eq/g}$ 、皮膚/脂肪 3.5  $\text{ng eq/g}$ )

b : HPLC/FLD 測定 (定量限界: 19.7  $\text{ng/g}$ )

<LOQ: 定量限界未満

表 12 <sup>14</sup>C 標識ラサロシド Na を 7 日間経口投与した鶏の組織中 TRR に対するラサロシド A の比率 (%)

組織	最終投与後時間 (時間)			
	16 <sup>a</sup>	40 <sup>b</sup>	88 <sup>b</sup>	136 <sup>b</sup>
肝臓	22.4	8.6	9.5	13.2
腎臓	40.6	14.2	27.0	85.8
筋肉	55.2	—	—	—
皮膚/脂肪	51.8	28.3	33.9	38.8

a : HPLC/LSC 測定    b : HPLC/FLD 測定    — : ラサロシド A 濃度定量限界 (19.7 ng/g) 未満

### (5) 残留試験 (鶏) ②

鶏 (肉用種、3 日齢、30 羽) に非標識ラサロシドを 34 日間混餌投与 (125 ppm) した後、<sup>14</sup>C 標識ラサロシド Na を 21 日間混餌投与 (132 ppm、8.3~10.5 mg/kg 体重/日) し、最終投与 0、1、2、3、4 及び 5 日後に組織を採取 (各時点 3~5 羽) し残留濃度 (ラサロシド Na 相当) を測定した。血中濃度は、投与開始後から最終投与 5 日後まで測定した。結果を表 13 及び 14 に示した。

最終投与後 0 日の血中放射活性濃度は、4.35 µg eq/mL であった。この時点で、各組織における総放射活性最高濃度がみられ、肝臓で最も高く (11.93 µg eq/g)、次いで腎臓であった (2.48 µg eq/g)。最終投与 3~5 日後の腎臓、筋肉、皮膚及び脂肪では、総放射活性濃度が 0.20 µg eq/g を下回ったが、肝臓では 1.59~1.15 µg eq/g であった。(参照 2、23)

表 13 <sup>14</sup>C 標識ラサロシド Na を 21 日間混餌投与した鶏の血中総放射活性濃度 (µg eq/mL)

投与開始後日数	血中濃度 <sup>a</sup>	最終投与後日数	血中濃度 <sup>a</sup>
1	2.83	0	4.35
2	3.67	1	0.27
3	4.19	2	0.14
4	6.14	3	0.12
5	5.22	4	0.10
7	4.46	5	0.07
14	4.46	—	—
21	4.35	—	—

a : ラサロシド Na 相当 (検出限界: 0.013 µg eq/mL)

表 14 鶏における  $^{14}\text{C}$  標識ラサロシド Na 21 日間混餌投与後の組織中総放射活性濃度 ( $\mu\text{g eq/g}$ )

組織	最終投与後日数					
	0	1	2	3	4	5
肝臓	11.93	2.63	1.72	1.59	1.37	1.15
腎臓	2.48	0.36	0.23	0.17	0.19	0.13
筋肉 (胸)	0.61	0.06	0.03	0.03	0.03	0.02
筋肉 (脚/翼)	0.72	0.08	0.04	0.03	0.03	0.02
皮膚/脂肪	1.59	0.22	0.13	0.11	0.09	0.07
脂肪 (筋胃部分)	0.86	0.14	0.06	0.06	0.05	0.04

検出限界 ( $\mu\text{g eq/g}$ ) : 肝臓 0.0037、腎臓 0.0031、筋肉 (胸、脚/翼) 0.0018、皮膚/脂肪 0.0054、脂肪 (筋胃部分) 0.0023

### (6) 残留試験 (鶏) ③

鶏 (肉用種、雌、投与群 12 羽、対照群 4 羽) に非標識ラサロシドを 16 日間混餌投与 (75 ppm) した後、 $^{14}\text{C}$  標識ラサロシド<sup>5</sup>を 3 日間混餌投与 (75 ppm、5 mg/カプセル/羽/日) し、残留試験が実施された。組織中の残留分析結果を表 15 に示した。

組織中最高濃度 (ラサロシド相当) は、いずれの組織においても最終投与 2 時間後にみられ、最高値は肝臓の 10.28  $\mu\text{g eq/g}$  であった。最終投与 48 時間後の組織中濃度は、肝臓 (0.4  $\mu\text{g eq/g}$ ) を除きいずれも 0.1  $\mu\text{g eq/g}$  未満であった。本資料では、この結果は、過去に実施された非標識ラサロシドを用いた残留試験におけるバイオオートグラフィー (感度: 0.05  $\mu\text{g/g}$ ) の結果 (最終投与 48 時間後では、肝臓を含む全ての組織でラサロシド及びその他の抗菌活性物質は検出されなかった。) と合致するとされた。

肝臓中濃度は、最終投与 120 時間後に 0.19  $\mu\text{g eq/g}$  に低下し、エタノール不溶性の肝臓画分から 0.15  $\mu\text{g eq/g}$  が検出された。ラジオクロマトスキャンニングによる解析から、これらの残留放射活性は生体構成物質に取り込まれたものと考えられた。(参照 2、17)

表 15 鶏における  $^{14}\text{C}$  標識ラサロシド 3 日間混餌投与後の組織中総放射活性濃度 (ラサロシド相当、 $\mu\text{g eq/g}$ )

組織	最終投与後時間 (時間)					
	2	24	48	72	96	120
肝臓	10.28	0.992	0.397	0.235	0.200	0.188
腎臓	3.042	0.130	0.056	0.041	0.030	0.007 <sup>a</sup>
筋肉	0.760	0.169	0.011	0.003 <sup>a</sup>	0.002 <sup>a</sup>	0.002 <sup>a</sup>
皮膚	1.503	0.090	0.024	0.013	0.007 <sup>a</sup>	0.010 <sup>a</sup>
脂肪	1.354	0.169	0.060	0.023	0.019	0.012 <sup>a</sup>

a : 検出限界 (肝臓 0.013、腎臓 0.015、筋肉 0.008、皮膚 0.012、脂肪 0.014  $\mu\text{g eq/g}$ ) 未満

<sup>5</sup>  $^{14}\text{C}$  標識酪酸基質を用いる発酵法で調製



#### (7) 残留試験 (鶏) ④

鶏 (肉用種、1 日齢、雌雄各 12 羽/時点) にラサロシド Na を 8 週間混餌投与 (75 ppm) し、バイオオートグラフィー (定量限界 50 ng/g、検出限界 20 ng/g) により組織中残留濃度が測定された。結果を表 16 に示した。

肝臓、腎臓及び筋肉では、最終投与 24 時間後に検出限界未満となり、皮膚/脂肪では最終投与 48 時間後に検出限界未満となった。(参照 2、24)

表 16 鶏におけるラサロシド Na 8 週間混餌投与後の組織中ラサロシド A 濃度 (ng/g)

組織	最終投与後時間 (時間)			
	0	24	48	72
肝臓	110	<LOD	<LOD	<LOD
腎臓	120	<LOD	<LOD	<LOD
筋肉	20 <sup>a</sup>	<LOD	<LOD	<LOD
皮膚/脂肪	360	23 <sup>a</sup>	<LOD	<LOD

a : 定量限界 (50 ng/g) 未満 <LOD: 検出限界 (20 ng/g) 未満

#### (8) 残留試験 (鶏、マーカ―残留) ①

鶏 (肉用種、1 日齢、雌雄各 3 羽/時点) にラサロシド Na を 42 日間混餌投与 (125 ppm) し、LC/MS/MS (定量限界 1 ng/g) により筋肉及び皮膚/脂肪中のラサロシド A 濃度が測定された。結果を表 17 に示した。

筋肉及び皮膚/脂肪の両組織ともに最終投与後 3~24 時間の間でラサロシド A 濃度が急速に低下した。その後、残留消失速度が低下し、両組織ともに最終投与 240 時間後においても残留がみられた。(参照 2、25)

表 17 鶏におけるラサロシド Na 42 日間混餌投与後の筋肉及び皮膚/脂肪中ラサロシド A 濃度 (ng/g)

組織	最終投与後時間 (時間)						
	3	24	48	72	120	168	240
筋肉	262	11.4	10.3	6.55	8.55	9.04	5.99
皮膚/脂肪	1,014	56.0	57.5	51.9	26.2	33.3	37.4

#### (9) 残留試験 (鶏、マーカ―残留) ②

鶏 (肉用種、1 日齢、雌雄各 3 羽/時点) にラサロシド Na を 42 日間混餌投与 (125 ppm) し、HPLC/FLD により肝臓、腎臓、筋肉及び皮膚/脂肪中のラサロシド A 濃度を測定した。結果を表 18 に示した。

肝臓中濃度は、最終投与 168 時間後まで定量限界以上の濃度で検出された。筋肉中濃度は最終投与 24 時間後に定量限界未満となり、腎臓及び皮膚/脂肪中の濃度は最終投与 120 時間後に定量限界未満となった。(参照 2、26)

表 18 鶏におけるラサロシド Na 42 日間混餌投与後の組織中ラサロシド A 濃度 (ng/g)

組織	最終投与後時間 (時間)				
	0	24	72	120	168
肝臓	1,301	57	76	<25	<31
腎臓	734	<25	<28	<LOQ	<LOQ
筋肉	201	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
皮膚/脂肪	446	<22	<21	<LOQ	<LOQ

<LOQ: 定量限界 (20 ng/g) 未満

#### (10) 残留試験 (鶏卵) ①

鶏 (卵用種、卵白/卵黄解析群: 12羽、全卵解析群: 12羽) に  $^{14}\text{C}$  標識ラサロシド Na を 12 日間経口投与 (125 ppm(1 日平均摂餌量から算出された食餌中濃度)、ゼラチンカプセル、3 回/日) し、卵中の残留試験が実施された。初回投与前、投与開始後 12 日間及び最終投与後 14 日間の毎日、卵を採取し、全卵解析群については、さらに最終投与 17 及び 21 日後に採取した。結果を表 19 に示した。

全卵中の総放射活性濃度 (ラサロシド Na 相当) の最高値は、投与開始 11 日後にみられ、 $12.5 \mu\text{g eq/g}$  (個体別の範囲:  $9.10 \sim 15.8 \mu\text{g eq/g}$ ) であった。全卵中濃度は投与開始 7 日後から定常状態 ( $11 \sim 12 \mu\text{g eq/g}$ ) に達し、投与終了後から徐々に低下し最終投与 10 及び 21 日後では、それぞれ  $0.207$  及び  $0.008 \mu\text{g eq/g}$  となった。

卵白及び卵黄中の最高濃度は、それぞれ  $0.291$  (投与開始 9 日後、個体別の範囲:  $0.087 \sim 0.644$ ) 及び  $33.5$  (投与開始 12 日後、個体別の範囲:  $21.2 \sim 38.9$ )  $\mu\text{g eq/g}$  で、大部分の残留が卵黄に認められた。卵黄中濃度は、最終投与 14 日後に  $0.145 \mu\text{g eq/g}$  に低下した。

HPLC/LSC では、全卵中の主要残留成分は、ラサロシド Na 標準品のピークに相当し、この画分のピーク面積の割合は、最終投与 2 及び 8 日後でそれぞれ 59.5 及び 64.4% であった。

LC/MS/MS では、ラサロシド A 以外に 3 種類の代謝物が確認され、未同定の 1 種類を除き水酸化及び酸化による代謝物であった。

最終投与 0、8、9 及び 10 日後の全卵中ラサロシド A 濃度は、それぞれ 6.21、0.460、0.128 及び  $0.061 \mu\text{g eq/kg}$  で、TRR 濃度に対する比率は、それぞれ 49.8、48.3、35.7 及び 26.2% であった。(参照 2、27)

表 19 鶏における  $^{14}\text{C}$  標識ラサロシド Na 12 日間経口投与後の全卵中総放射活性濃度及びラサロシド A 濃度並びに総放射活性に対するラサロシド A の比率

投与開始後日数 <sup>a</sup>	総放射活性濃度 <sup>b</sup> ( $\mu\text{g eq/g}$ )	ラサロシド A <sup>c</sup> ( $\mu\text{g/g}$ )	比率 <sup>d</sup> (%)
2	0.765	—	—
7	11.1	—	—
8	10.9	—	—
9	11.8	—	—
10	11.7	—	—
11 (0)	12.5	6.21	49.8
13 (2)	11.7	—	—
19 (8)	0.912	0.460	48.3
20 (9)	0.383	0.128	35.7
21 (10)	0.207	0.061	26.2
28 (17)	0.019	—	—
32 (21)	0.008	—	—

a: ( ) 内数値は最終投与後日数 b、c、d: それぞれ 8~12、8~10 及び 8~10 羽の平均値

—: 未測定

#### (1 1) 残留試験 (鶏卵) ②

鶏 (卵用種、18 羽/群) にラサロシド Na を 14 日間混餌投与 (125 ppm 混餌飼料の 2.5、5 及び 10%) し、投与開始から最終投与 17 日後まで毎日卵を採取した。全卵は各時点 10 個、残りは卵白と卵黄に分け、LC/MS/MS により全卵、卵白及び卵黄中のラサロシド A 濃度を測定した (定量限界: 2 ng/g)。卵白及び卵黄中濃度は、10%投与群の投与開始 5~13 日後までのサンプルについて測定した。

全卵中濃度は、2.5 及び 5%投与群で投与開始 7 日後に、10%投与群では投与開始 9 日後に定常状態に達し (但し、5 及び 10%投与群では明確な定常状態には達していない)、それぞれ約 300、600 及び 1,200 ng/g であった。その後、2.5%投与群では最終投与 13 日後に、5 及び 10%投与群では最終投与 17 日後に定量限界未満となった。

残留濃度は、卵黄で最も高く、次いで全卵であり、卵白では低かった。卵黄中濃度は、全卵及び卵白中濃度のそれぞれ約 3 及び 200 倍であった。(参照 2、28)

#### (1 2) 残留試験 (七面鳥)

七面鳥 (T9 系、1 日齢、雌雄各 3 羽/時点) にラサロシド Na を 112 日間混餌投与 (130 ppm) し、組織中のラサロシド A 濃度を HPLC 及び LC/MS/MS により測定した。結果を表 20 に示した。

最終投与後 0 時間では、肝臓及び皮膚/脂肪中で濃度が最も高く、次いで腎臓であった。筋肉中の濃度が最も低かった。最終投与 72 時間後では、いずれの組織においても定量限界未満となった。(参照 2、29)

表 20 七面鳥におけるラサロシド Na 112 日間混餌投与後の組織中ラサロシド A 濃度 (ng/g)

組織	最終投与後時間 (時間)				
	0	72	120	168	240
肝臓	155	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
腎臓	108	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
筋肉	25.3 <sup>a</sup>	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
皮膚/脂肪	159	<LOQ	<LOQ <sup>b</sup>	<LOQ	<LOQ

<LOD: 検出限界 (肝臓 4.68、腎臓 0.450、筋肉 0.811 及び 皮膚/脂肪 6.14 ng/g) 未満

<LOQ: 定量限界 (肝臓 50、腎臓 25、筋肉 10 及び 皮膚/脂肪 50 ng/g) 未満

a: <LOQ (1 例)、15.0~52.2 (5 例) ng/g

b: <LOQ (4 例)、106 (1 例) 及び 59 (1 例) ng/g

### (13) 残留試験 (きじ)

きじ (1 日齢、雌雄各 3 羽/時点) にラサロシド Na を 12 週間混餌投与 (132 ppm) し、最終投与 24、120 及び 168 時間後の組織 (肝臓、腎臓、筋肉及び皮膚/脂肪) 中のラサロシド A 濃度を HPLC/FLD により測定した。

最終投与 24 時間後の濃度は、いずれの組織においても 6 例中 5 例で定量限界未満であり (定量限界: 肝臓、腎臓、筋肉及び 皮膚/脂肪でそれぞれ、100、50、20 及び 100 ng/g)、最終投与 120 時間後では、全ての組織の全例で定量限界未満であった。最終投与 168 時間後では、皮膚/脂肪の 1 例で定量限界を上回った (413 ng/g) が、異常値と考えられた。(参照 2、30)

### (14) 残留試験 (うずら)

うずら (ひな、雌雄各 1 羽/時点) にラサロシド Na を 27 日間混餌投与 (ラサロシドとして 90 ppm) し、最終投与 0、3、6 及び 9 日後の筋肉及び皮膚中のラサロシド濃度を HPLC により測定した。結果を表 21 に示した。

最終投与後 0 日の皮膚で最高値がみられ、298 ng/g であった。筋肉では 39.5 ng/g であった。最終投与 3 日後の筋肉では、定量限界 (20 ng/g) 未満となった。皮膚中濃度は、筋肉中濃度の約 10 倍であった。(参照 2、31)

表 21 うずらにおけるラサロシド Na 27 日間混餌投与後の筋肉及び皮膚中ラサロシド濃度 (ng/g)

組織	最終投与後日数			
	0	3	6	9
筋肉	39.5	8.5 <sup>a</sup>	3.7 <sup>a</sup>	4.7 <sup>a</sup>
皮膚	298.3	55.0	30.8	33.7

a : 定量限界 (20 ng/g) 未満

### (15) 残留マーカ―について

ラサロシド A が鶏の組織中残留マーカ―として確立された。総残留に対する残留マーカ―の割合は、最終投与後 0 時間の肝臓、腎臓、筋肉及び皮膚/脂肪でそれぞれ、22、41、55 及び 52%であった。ラサロシド A は、きじ及びうずらの組織においても確認された。(参照 4)

ラサロシド A は、鶏卵における残留マーカ―として同定され、最終投与 9 日後の卵中総残留の 37.5%を占めた。(参照 5、6)

牛の組織についても、総放射性残留物と代謝プロファイルの結果から、ラサロシド A が残留マーカ―として用いられた。総残留に対する残留マーカ―の比率は、肝臓、腎臓、筋肉及び脂肪でそれぞれ 13.1、33.1、100 及び 25.3%であった。(参照 7)

## 3. 遺伝毒性試験

ラサロシド Na の *in vitro* 遺伝毒性に関する試験結果を表 22 に示した。(参照 2、4、32、33、34、35、36)

EMEA では、ラサロシド Na は変異原性物質ではないと結論されている。(参照 4)

表 22 ラサロシドの遺伝毒性試験

試験	対象	用量	結果
DNA 修復試験 (Rec-assay)	<i>Bacillus subtilis</i> H17、M45	ラサロシド Na 1、10、100 µg/disk	陰性
復帰突然変異試験	<i>Salmonella typhimurium</i> TA98、TA100、TA1535、 TA1537、TA1538 <i>Escherichia coli</i> WP2、WP2 <i>uvrA</i>	ラサロシド Na 100、200、500、1,000、 2,000 µg/plate <sup>a</sup> (±S9) <sup>b</sup>	陰性
遺伝子突然変異試験	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> D7 ( <i>trp 5</i> 、 <i>ilv 1-92</i> 、 <i>ade 2</i> 座位)	ラサロシド Na 0.05、0.2、0.5、2.0、5.0 mg/mL (±S9)	陰性
前進突然変異試験	チャイニーズハムスター肺由来 V79 細胞 ( <i>HGPRT</i> 遺伝子座)	ラサロシド Na 1、5、10、15、20 µg/mL (-S9) <sup>c</sup> 1、10、20、40、60 µg/mL (+S9) <sup>d</sup>	陰性
不定期 DNA 合成 試験	ラット肝初代培養細胞 (雄)	ラサロシド Na 0.5、1.0、2.5、5.0、10.0、 12.5 µg/mL (試験 1) <sup>e</sup> 0.5、1.0、2.0、3.0、4.0、 5.0 µg/mL (試験 2) <sup>f</sup>	陰性
染色体異常試験	ヒト末梢血リンパ球	ラサロシド Na 2、4、5、6、7、8 µg/mL (-S9) <sup>g</sup> 2、4、6、8、10 µg/mL (+S9) <sup>h</sup> いずれも 2 時間処理	陰性

a :  $\geq 500$  µg/plate で細菌の生育阻害がみられた。

b : WP2 株: -S9 のみ。

c :  $\geq 15$  µg/mL で細胞毒性がみられた。

d :  $\geq 40$  µg/mL で細胞毒性がみられた。

e :  $\geq 5.0$  µg/mL では細胞毒性のため評価不能又は生細胞なし。 $\leq 2.5$  µg/mL で評価された。

f :  $\geq 4.0$  µg/mL では細胞毒性のため生細胞なし。 $\leq 3.0$  µg/mL で評価された。

g :  $\geq 6$  µg/mL では細胞毒性のため評価できなかった。

h : 10 µg/mL では細胞毒性のため評価できなかった。

*in vivo* 遺伝毒性に関する試験結果の報告は認められなかったが、異なるエンドポイント

トを利用した複数の *in vitro* 遺伝毒性試験の結果はいずれも陰性であることから、ラサロシド Na は、DNA と直接反応して遺伝毒性を示す可能性は低く、閾値の設定は可能であると考えられた。

#### 4. 急性毒性試験

各種動物におけるラサロシド Na の急性毒性試験の結果を表 23 に示した。(参照 2、4、37、54)

表 23 ラサロシド Na の急性毒性試験結果

動物種	投与経路	LD <sub>50</sub> ±S.E. (mg/kg 体重)	臨床所見
マウス	経口	146±8	—
	腹腔内	68±4	振戦
	皮下	140±14	—
ラット	経口	122±7	チアノーゼ、呼吸抑制
	腹腔内	26.5±3.5	チアノーゼ、運動量低下、呼吸抑制
幼若ラット	経口	33±2	—
ウサギ	経口	40±6.7	—
	経皮	1,400	運動量低下、うずくまり、流涙
鶏	経口	59、84	活動性低下、衰弱、脱水症状
	経口	84、112	体重減少

—: 所見なし

馬及び若齢子牛（7日齢まで）では、ラサロシドの強い毒性が認められた。

馬における経口 LD<sub>50</sub> は 21.5 mg/kg 体重であった。臨床症状として沈うつ (depression)、運動失調 (ataxia)、不全麻痺 (paresis)、麻痺 (paralysis)、食欲低下 (anorexia) 及び横臥 (recumbency) がみられた。心筋への影響は大きかった。

若齢子牛（7日齢まで）では、5～8 mg/kg 体重の単回又は複数回投与（投与経路不明）で致死がみられた。(参照 4)

#### 5. 亜急性毒性試験

##### (1) 13週間亜急性毒性試験（ラット、混餌投与）

ラット (SD系、雌雄各8匹/群) を用いたラサロシド Na の13週間混餌投与 (0、2、5又は20 mg/kg 体重/日) による亜急性毒性試験が実施された。

試験期間中に、いずれの投与群においても死亡例はみられなかった。

一般状態では、投与に起因する影響はみられなかった。

20 mg/kg 体重/日投与群の雌では、明らかな体重の低下がみられ、13週間後の平均体重は対照群の62.3%であった。5 mg/kg 体重/日投与群の雌では、体重の軽度低下がみられた。20 mg/kg 体重/日投与群の雌では、摂餌量の減少がみられた。

血液学的検査では、20 mg/kg 体重/日投与群の雌雄で、赤血球の大きさ及び形態に軽度の変化がみられ、多染性及び有棘赤血球並びに標的赤血球がみられた。これらの変化は、雄よりも雌で大きかった。全投与群の雌で、低張生理食塩水中における赤血球の溶血性が低下し、赤血球膜の安定性の上昇がみられた。本試験とは別の無処理群ラットに静脈内単回投与（5 mg/kg 体重）した場合においても、投与4時間後の赤血球で、雌雄ともに同様の低張液抵抗性がみられたことから、機序は不明であるものの、これらの変化は有害作用によるものではないと考えられている。

血液生化学的検査では、20 mg/kg 体重/日投与群の雌で、投与開始13週間後にALP、ALT及びASTの上昇がみられた。

尿検査では、対照群と投与群の間で差はみられなかった。

剖検では、5 mg/kg 体重/日投与群の雌（1例）で、子宮肥大がみられた。

臓器重量では、20 mg/kg 体重/日投与群の雌の多くの臓器で絶対重量の減少（肺、肝臓、腎臓、卵巣、子宮、副腎及び下垂体）及び相対重量の増加（心臓、肝臓、腎臓、脾臓、脳、甲状腺及び副腎）が認められた。同投与群の雄の臓器重量は、対照群と同様であった。5 mg/kg 体重/日投与群の雌では、肝臓の相対重量で僅かに増加がみられたが、絶対重量は対照群と同様であった。これらの変化は、いずれも摂餌量の減少による体重増加抑制と関連していた。

病理組織学的検査では、20 mg/kg 体重/日投与群の雌雄の肝臓及び腎臓でヘモジデリン沈着の増加がみられ、心筋細胞に空胞がみられた。これらの変化の発生頻度は、雄に比較して雌で高かった（肝臓、腎臓及び心筋でそれぞれ、雌：8、8及び7例、雄：4、2及び3例）。さらに、同投与群の雌では、下垂体前葉（6例）及び骨格筋（5例）の細胞に空胞がみられた。5 mg/kg 体重/日投与群の雌（1例）の肝臓では、ヘモジデリン沈着の僅かな増加が認められた。（参照2、38）

本試験における無毒性量（NOAEL）は2 mg/kg 体重/日と考えられた。

## （2）13週間亜急性毒性試験（ラット、離乳児、混餌投与）

離乳ラット（SD系、雌雄各40匹/群）を用いたラサロシドNaの13週間混餌投与（0、1、2、3又は10 mg/kg 体重/日）による亜急性毒性試験が実施された。

一般状態、神経系学的検査（歩行、体位、筋緊張状態、四肢の可動及び反射）、眼検査及び尿検査では、投与による影響はみられなかった。

10 mg/kg 体重/日投与群の雌雄で体重増加抑制がみられ、雌では統計的に有意な摂餌量の減少がみられた。

血液学的検査では、2 mg/kg 体重/日以上投与群の雌でHt低下及び好中球増加症（neutrophilic leukocytosis）がみられ、3 mg/kg 体重/日以上投与群の雌ではHbの低下がみられた。雄では、3 mg/kg 体重/日以上投与群でHt及びHbの低下がみられ、10 mg/kg 体重/日投与群で好中球増加症がみられた。また、3 mg/kg 体重/日以上投与群の雌雄で少数の標的赤血球がみられ、10 mg/kg 体重/日投与群の数例では、低張生理食塩水中における赤血球の溶血性の低下が認められた。

血液生化学的検査では、10 mg/kg 体重/日投与群の雌でALP及びASTの上昇がみられ、10 mg/kg 体重/日投与群の雌雄では、血清電解質の変化（K及びCaの上昇、Clの



低下) が認められた。

剖検では、投与による影響はみられなかった。

臓器重量では、3 mg/kg 体重/日以上投与群の雄で心臓の絶対及び相対重量の低下、10 mg/kg 体重/日投与群の雌雄で肺の絶対及び相対重量の低下並びに 10 mg/kg 体重/日投与群の雌で腎臓の相対重量の増加がみられた。

病理組織学的検査では、3 mg/kg 体重/日以上投与群の雌で腎臓及び肝臓にヘモジデリン沈着の増加がみられ、10 mg/kg 体重/日投与群の雄で肝臓にヘモジデリン沈着の増加がみられた。10 mg/kg 体重/日投与群の雌では心筋細胞に空胞が認められた。(参照 2、39)

2 mg/kg 体重/日投与群の雌で血液学的影響 (Ht 低下及び好中球増加症) がみられたことから、本試験における NOAEL は 1 mg/kg 体重/日と考えられた。

### (3) 13 週間亜急性毒性試験 (ラット、投与した親動物由来の離乳児、混餌投与)

ラット (SD 系) に、ラサロシド Na を交配前 3 週間及び交配期間中 (2 週間まで) に混餌投与 (0、1、2、3 又は 10 mg/kg 体重/日) し、母動物には引き続き妊娠及び授乳期間 (約 6 週間) を通じて混餌投与した。産児 (雌雄各 60 匹/群) を用いて離乳後直ちに混餌投与 (親動物と同用量) による 13 週間亜急性毒性試験が実施された。

一般状態、眼検査及び尿検査では、投与による影響はみられなかった。

10 mg/kg 体重/日投与群の離乳児で体重増加抑制及び摂餌量減少がみられた。

血液学的検査では、10 mg/kg 体重/日投与群で Hb 及び Ht の低下、赤血球の形態変化、白血球及びリンパ球の増加並びに溶血性上昇がみられた。

血液生化学的検査では、10 mg/kg 体重/日投与群で ALP 及び AST の上昇がみられた。

剖検では、投与による影響はみられなかった。

臓器重量では、10 mg/kg 体重/日投与群の雌で腎臓及び脾臓の相対重量の増加がみられた。

病理組織学的検査では、3 mg/kg 体重/日投与群で肝臓にヘモジデリン沈着の増加 (雄 1/20 例、雌 5/20 例) がみられ、10 mg/kg 体重/日投与群では主に雌で肝臓及び腎臓にヘモジデリン沈着の増加がみられ、心筋細胞には空胞が認められた。(参照 2、40)

3 mg/kg 体重/日投与群で肝臓組織への影響 (ヘモジデリン沈着の増加) がみられたことから、本試験における NOAEL は 2 mg/kg 体重/日と考えられた。

### (4) 13 週間亜急性毒性試験 (イヌ、経口投与)

イヌ (ビーグル種、雌雄各 3 匹/群) を用いたラサロシド Na の 13 週間強制経口投与 (0、2、5 又は 10 mg/kg 体重/日、カプセル) による亜急性毒性試験が実施された。

試験期間中に死亡例はみられなかった。

一般状態では、10 mg/kg 体重/日投与群の 4 例に一過性の神経学的変化 (後肢の筋肉衰弱 (muscular weakness) 及び振戦、歩行異常 (awkward gait)) がみられた。1 例では、食欲減退、体重低下並びに ALP、ALT 及び AST の上昇を伴い、種々のパターンの症状が 10 日間継続した。これらの変化は回復し、試験終了時点では神経学的所見は認められなかった。

体重、眼検査、心電図検査、尿検査及び血液学的検査では、投与による影響はみられなかった。

血液生化学的検査では、5 mg/kg 体重/日以上投与群で血清中 Cl の低下がみられた。

剖検及び臓器重量では、投与による影響はみられなかった。

病理組織学的検査では、肝細胞の空胞化が対照群を含む雌の全ての群でみられ（10 mg/kg 体重/日投与群: 3 例、他の群: 各 1 例）、高用量群でより強く認められたが、細胞変性あるいは炎症性変化に関連する所見はなかった。（参照 2、41）

5 mg/kg 体重/日投与群で血液生化学的影響（血清中 Cl の低下）がみられたことから、本試験における NOAEL は 2 mg/kg 体重/日と考えられた。

## 6. 慢性毒性及び発がん性試験

### (1) 2 年間慢性毒性試験（イヌ、混餌投与）

イヌ（ビーグル種、雌雄各 10 匹/群）を用いたラサロシド Na の 2 年間混餌投与（0、10、35、180 ppm（0、0.25、1 又は 5 mg/kg 体重/日））による慢性毒性試験が実施された。

試験期間中に死亡例はみられなかった。

一般状態の観察及び神経学的検査では、180 ppm 投与群の 5 例で四肢の間欠性麻痺が認められた（投与開始 21 週間後の 1 日）が、24 時間以内に正常に回復し再発はみられなかった。10 ppm 投与群の雌 1 例では、中等度の振戦が 2 回（投与開始 54 週間後の 1 日及び 100 週間後）みられたが、それ以外にはみられなかった。

体重測定では、投与による影響は認められなかった。

摂餌量では、180 ppm 投与群の雄で投与開始から 3 か月までの間に僅かな減少が認められた。

眼検査では、180 ppm 投与群で網膜障害が認められたが（投与開始 3 及び 4 か月後）、その後の検査では病変が消失し、投与による影響とは考えられなかった。

心電図検査、尿検査及び血液学的検査では、投与による影響は認められなかった。

血液生化学的検査では、180 ppm 投与群の雌雄で投与開始 6 か月後から試験終了時まで ALP の上昇が認められた。

臓器重量では、雌雄ともに対照群に比べて差がみられる臓器があり、投与による関連性が示唆されたが（雄: 前立腺の絶対及び相対重量の低下(35 ppm 以上投与群)、並びに精巣の絶対及び相対重量の増加(180 ppm 投与群)、雌: 脾臓及び甲状腺の絶対及び相対重量の増加(全投与群))、いずれも統計学的に有意な差は認められなかった。

剖検及び病理組織学的検査では、投与による異常は認められず、上記の臓器重量の変化と関連する形態学的な変化は認められなかった。（参照 2、42）

180 ppm 投与群で摂餌量の減少及び血液生化学的影響（ALP 上昇）がみられたことから、本試験における NOAEL は 35 ppm（1 mg/kg 体重/日）と考えられた。

### (2) 2 年間発がん性試験（マウス、混餌投与）

マウス（CD-1 系、雌雄各 80 匹/群、対照群は 2 群）を用いたラサロシド Na の 2 年間混餌投与（0、10(20)、35(60)、120 ppm、()内は試験開始後 5 週間までの投与量）に

よる発がん性試験が実施された。

死亡率（約 40%）、一般状態、体重、摂餌量、眼検査、剖検及び病理組織学的検査では、投与による影響はみられなかった。

腫瘍発生頻度については、試験期間中に死亡又は安楽死処分した 10 及び 120 ppm 投与群の雌でリンパ肉腫の発生頻度の上昇がみられたが（それぞれ 9 及び 10 例、対照群では 3 及び 5 例）、最終剖検時まで生存した雌及び雄では、リンパ肉腫の発生頻度の上昇はみられなかった。また、試験期間中に死亡又は安楽死処分した 35 ppm 投与群の雌においても、発生頻度（4 例）は対照群と同様であった。従って、10 及び 120 ppm 投与群の雌の死亡例にみられたリンパ肉腫の発生頻度上昇は、投与による影響ではないと考えられ、ラサロシドは発がん性を示さないと考えられた。（参照 2、43）食品安全委員会においても発がん性はみられなかったと判断した。

### （3）130 週間慢性毒性/発がん性併合試験（ラット、混餌投与）

ラット（F344 系、雌雄各 40 匹/群、対照群は 2 群）に、ラサロシド Na を交配前 1 週間、交配期間 2 週間並びに妊娠及び授乳期間を通じて混餌投与（0、10、35 又は 120 ppm）し、出産後 21 日に離乳させ、離乳児（投与群：雌雄各 85 匹/群、対照群 1：雌雄各 85 匹、対照群 2：雌雄各 55 匹）を選択して、130 週間混餌投与（0、10、35 又は 120 ppm（雄：0、0.5、1.8 又は 6.2、雌：0、0.6、2.2 又は 8.1 mg/kg 体重/日）による慢性毒性/発がん性併合試験が実施された。

生存率は、130 週間の投与試験終了時には低かったが（雄：21.8～43.6%、雌：20.0～32.7%）、104 週間後では全ての群で 50%以上であった。

一般状態では、35 ppm 以上投与群の雌及び 120 ppm 投与群の雄で神経学的所見（緩慢な握りあるいは正向反射（slow grasping or righting reflexes））の発生数増加（31～49 週間後まで）が認められた。

体重、摂餌量、眼検査、尿検査及び血液学的検査では、投与による影響は認められなかった。

血液生化学的検査では、10 ppm 以上投与群で BUN の低下（26 及び 78 週間後）がみられたが、104 週間後以降では 120 ppm 投与群の雄を除いて認められなかった。35 ppm 以上投与群では Glu の上昇（26 週間後）がみられたが、78 週間後以降ではみられず、散発的であった。これらの変化の生物学的意味は不明であった。

臓器重量では、35 ppm 以上投与群の雌（26 及び 78 週間後）及び雄（130 週間後）で、副腎の絶対及び相対重量の増加がみられたが、雄では統計学的に有意な差は認められなかった。その他の臓器（120 ppm 以上投与群の雌雄の肝臓（26 週間後））においても統計学的に有意な差がみられたが、濃度依存性はみられず投与による影響ではないと考えられた。

剖検及び病理組織学的検査では、投与による影響はみられなかった。腫瘍発生頻度は、全ての群で同様であった。（参照 2、44）

35 ppm 投与群で Glu の上昇及び副腎重量の増加がみられたことから、本試験における NOAEL は 10 ppm（雄：0.5 mg/kg 体重/日及び雌：0.6 mg/kg 体重/日）と考えられた。発がん性はみられなかった。

## 7. 生殖発生毒性試験

### (1) 生殖毒性試験（ラット、混餌投与）

ラット (SD 系、雌雄各 24 匹/群) を用いたラサロシド Na の混餌投与 (0 (対照群 2 群)、1、2、3 又は 10 mg/kg 体重/日) による生殖毒性試験が実施された。雄には交配前 3 週間及び交配期間中 (2 週間) を通じて投与し、雌には交配前 3 週間から授乳期間 (21 日間) を通じて投与した。

試験期間中には、雌の対照群 1 例が交配前に死亡したが、それ以外に死亡動物は認められなかった。

10 mg/kg 体重/日投与群の雌の体重が、妊娠及び授乳期間を通じて対照群と比較して低値を示したが、摂餌量には差はみられなかった。

妊娠率、妊娠期間、出産児数、着床数、出生児数、死産児数、出生児の性比、出産率 (生存児出産動物数/妊娠動物数 (litters cast alive/pregnancies))、生後 4 日までの児の生存率 (生後 4 日生存児数/出生児数) 及び生後 4 日以降の哺育期間中の児の生存率 (生後 21 日生存児数/生後 4 日生存児数) には、投与による影響はみられなかった。

児動物の体重は、出生時には差はみられなかったが、哺育 4、7 及び 14 日には、10 mg/kg 体重/日投与群では対照群と比較して有意な低値を示した。しかし、哺育 21 日には有意な差はなかった。

児動物の外表観察の結果、1 mg/kg 体重/日投与群に腹壁破裂 1 例、3 mg/kg 体重/日投与群の四肢の屈曲異常 1 例並びに 10 mg/kg 体重/日投与群の両側性無眼球症 1 例及び多重障害 1 例が観察された。しかし、これらの異常は単発的で用量依存性はなく、投与による影響とは考えられなかった。(参照 2、45)

本試験において、10 mg/kg 体重/日群で母動物及び児動物の体重増加抑制がみられたことから、本試験における NOAEL は 3 mg/kg 体重/日と考えられた。繁殖能に対する影響は認められなかった。

### (2) 三世代生殖毒性試験（ラット、混餌投与）

ラット (SD 系、第一世代(P<sub>1</sub>): 雌雄各 35 匹/群、第二(P<sub>2</sub>)及び第三世代(P<sub>3</sub>): 雌雄各 20 匹/群) を用いたラサロシド Na の混餌投与 (0、10、35 又は 120 ppm) による三世代生殖毒性試験が実施された。第一及び第二世代の母動物をそれぞれ 2 回交配し、交配 2 回目の産児 (F<sub>1b</sub> 及び F<sub>2b</sub>) をそれぞれ次の世代の試験に用いた。P<sub>1</sub> の交配 1 回目の雌 10 例 (P<sub>1</sub>F<sub>1a</sub>) は、妊娠 13 日に帝王切開し母動物の試験に供された。第三世代の交配 3 回目の雌 (P<sub>3</sub>F<sub>3c</sub>) は、妊娠 19 日に帝王切開し、母動物及び胎児 (F<sub>3c</sub>) の試験に供された。投与は、交配前 9 週間 (成長期間) から P<sub>3</sub> 試験終了まで連続して実施された。

母動物では、投与に起因する死亡例及び一般状態の変化はみられなかった。体重では、各世代の 120 ppm 投与群の雌で育成期間に低値がみられ、P<sub>1</sub> の雌の投与開始 4 及び 9 週間後には有意差がみられた。妊娠期間中の体重については、有意差はなかったが 120 ppm 投与群の P<sub>1</sub> 及び P<sub>3</sub> 雌で低下がみられた。育成期間中の摂餌量には、各世代ともに投与による影響はみられなかったが、妊娠期間中の摂餌量は、120 ppm 投与群の P<sub>1</sub> 及び P<sub>3</sub> 雌で低下がみられ、P<sub>1</sub> 雌の妊娠 0~6 日では有意差がみられた。

妊娠率及び出産率は、各世代ともに 120 ppm 投与群で対照群より低く、P<sub>3</sub>F<sub>3b</sub> 世代では有意に低下した。黄体数及び着床数は、35 ppm 以上投与群の P<sub>1</sub>F<sub>1a</sub> 及び P<sub>3</sub>F<sub>3c</sub> 世代で減少し、120 ppm 投与群の P<sub>1</sub>F<sub>1a</sub> 世代では着床率の有意な低下がみられた。胎児生存率は、P<sub>1</sub>F<sub>1a</sub> 及び P<sub>3</sub>F<sub>3c</sub> 世代ともに投与群と対照群でほぼ同等であった。

生児出産率及び生児生存率は、全ての世代で対照群と同等であり、投与による影響はみられなかった。離乳率は、120 ppm 投与群の P<sub>3</sub>F<sub>3b</sub> 世代では 32.3% であり、対照群 (98.8%) に比べ有意に低く、哺育期間中生存率も P<sub>3</sub>F<sub>3b</sub> 世代の児動物 (54%) で有意に低かった (対照群: 100%)。

児動物の性比は、全ての世代で正常の範囲内であり、投与による影響はみられなかった。体重は、出生時 (生後 24 時間) には全ての世代で対照群と同様であったが、生後 21 日では 120 ppm 投与群で低下傾向がみられ、P<sub>3</sub>F<sub>3b</sub> 世代の児動物では有意な低下がみられた。一般状態では、投与による影響はみられなかった。児動物 (F<sub>3b</sub>) の剖検及び病理組織学的検査では、投与に起因する変化はみられなかった。

胎児の内臓及び骨格検査では、投与に起因する異常はみられなかったが、120 ppm 投与群で骨化遅延による変異の頻度の上昇がみられた。(参照 2、46)

本試験において、120 ppm 投与群において、母動物及び児動物の体重増加抑制、生存率の減少等がみられたことから母動物及び児動物に対する NOAEL は 35ppm 及び 35 ppm 投与群以上で黄体数及び着床数の減少がみられたことから、繁殖能に対する NOAEL は、10 ppm (0.6 mg/kg 体重/日) と考えられた。

### (3) 発生毒性試験 (ウサギ、強制経口投与) ①

用量設定試験として、ウサギ (NZW 種、雌、6 匹/群) を用いたラサロシド Na の強制経口投与 (0、1、2 又は 4 mg/kg 体重/日) による発生毒性試験が実施された。妊娠 6～28 日に投与し、妊娠 29 日に剖検した。

母動物では、投与開始時の数日間に全投与群で体重増加抑制及び摂餌量減少がみられた。4 mg/kg 体重/日投与群では、初期及び後期胚・胎児死亡数の増加による着床数の減少がみられた。

胎児では、全投与群で体重低下がみられたが、1 mg/kg 体重/日投与群は一腹当たりの胎児数が対照群に比べて多かった。一般的に、胎児体重は一腹当たりの胎児数に依存することから、同群の体重低下は、投与による影響か、一腹当たりの胎児数の増加による偶発的な影響かを結論付けることはできなかった。4 mg/kg 体重/日投与群では、皮膚のたるみ (small skin flap) を伴う短尾の胎児 (1 例) が認められた。(参照 2、47)

### (4) 発生毒性試験 (ウサギ、強制経口投与) ②

(3) の結果から、ウサギ (NZW 種、雌、24 匹/群) を用いたラサロシド Na の強制経口投与 (0、0.5、1 又は 2 mg/kg 体重/日) による発生毒性試験が実施された。妊娠 6～28 日に投与し、妊娠 29 日に剖検した。

母動物の一般状態では、全投与群で糞便減少がみられた (0.5、1 及び 2 mg/kg 体重/日投与群でそれぞれ 8/24、9/24 及び 20/24 例、対照群では 3/24 例)。0.5 及び 1 mg/kg 体重/日投与群では 2 mg/kg 体重/日投与群より軽度であった。体重低下及び体重増加抑

制が、投与期間の初期には全投与群でみられ、2 mg/kg 体重/日投与群では投与期間を通じてみられた。0.5 及び 1 mg/kg 体重/日投与群では、2 mg/kg 体重/日投与群より軽度であった。0.5 mg/kg 体重/日投与群の体重増加量は対照群に比べ僅かに少なかった。摂餌量では、全投与群で用量相関的な減少がみられた。

2 mg/kg 体重/日投与群で初期胚死亡数の増加がみられた。同投与群では対照群に比べ着床前胚損失率の増加がみられたが、同様の試験における背景値の範囲内であった。

胎児では、1 mg/kg 体重/日以上投与群で胎児体重低下がみられた。剖検の結果、2 mg/kg 体重/日投与群で角膜混濁の発現頻度、1 及び 2 mg/kg 体重/日投与群で脾臓の淡明化の発現頻度の増加がみられた。骨格検査では、2 mg/kg 体重/日投与群で、上顎と頬骨の癒合、第 13 過剰肋骨及び骨盤肢帯の位置異常の発現頻度が高かった。また、2 mg/kg 体重/日投与群で、頭蓋骨の骨化不全（又は及び泉門部拡大）並びに舌骨、歯状突起、恥骨、指骨、骨端及び距骨の骨化不全の発現頻度も高かった。（参照 2、48）

本試験においては、母動物の全投与群で糞便減少、体重増加抑制等がみられたが、0.5 mg/kg 体重/日投与群にみられた所見はその程度から毒性所見ではないと判断した。胎児では、1 mg/kg 体重/日投与群で体重低下がみられたことから、母動物及び胎児の NOAEL は 0.5 mg/kg 体重/日と考えられた。

#### （5）発生毒性試験（ウサギ、強制経口投与）③〈参考データ〉

ウサギ（NZW 種、雌、10 匹/群）を用いたラサロシド Na の強制経口投与（0、0.8、2.4 又は 7.2 mg/kg 体重/日、投与期間：妊娠 6～28 日）による発生毒性試験が実施された。

7.2 mg/kg 体重/日投与群では、母動物の体重増加抑制及び摂餌量減少がみられ、10 例中 3 例が未熟産で妊娠維持に影響がみられた。胎児に対する催奇形性は認められなかった。（参照 3）

### 8. 対象動物を用いた安全性試験

#### （1）牛

牛（アバディーンアンガス種、5 頭/群）にラサロシド Na を 182 日間混餌投与（0 又は 150 ppm）し、安全性試験が実施された。飼育成績、血液学的検査、血液生化学的検査及びと体評価において、試験期間中に異常は認められなかった。（参照 3）

牛（ヘレフォード種、雌雄各 8 頭/群）にラサロシド Na を 252 日間混餌投与（0、30、60 又は 150 ppm）し、安全性試験が実施された。投与開始 4 日後より、軽度の下痢が 3 日間観察され、試験期間中の飼料摂取量及び 1 日平均体重増加量が対照群に比べて低かった。他の臨床症状は認められなかった。（参照 3）

#### （2）鶏

鶏（肉用種ひな、38 羽/群）にラサロシド Na を 8 週間混餌投与（0、75、150、190 又は 300 ppm、それぞれ常用量下限濃度（75 ppm）の 0、1、2、2.5 又は 4 倍量に相当）し、安全性試験が実施された。150 ppm 投与群では、一般状態、体重増加量、飼料摂取

量、血液学的検査、血液生化学的検査、剖検及び病理組織学的検査において対照群との差はみられなかった。190 ppm 投与群では6週齢まで体重増加量の低下がみられたが、剖検及び病理組織学的検査では著変は認められなかった。300 ppm 投与群では、体重増加量及び飼料摂取量の低下並びに明らかな臨床症状がみられ、臓器重量（肝臓及び心臓）に差がみられたが、病理組織学的検査では著変は認められなかった。（参照 3）

鶏（肉用種ひな、80羽/群）にラサロシド Na を56日間混餌投与（0、75、100又は200 ppm）し、安全性試験が実施された。全投与群で発育成績、剖検所見及び臓器重量に異常は認められなかった。血液生化学的検査では、ALTの上昇がみられたが（投与量不明）、それ以外には変化は認められなかった。（参照 3）

鶏（卵用種(1日齢、雌200羽)及び肉用種(1日齢、雄20羽、雌160羽)）にラサロシド Na を112日間混餌投与（0、125、375又は625 ppm、それぞれ推奨用量上限の0、1、3又は5倍濃度に相当）し、安全性試験が実施された。

卵用種を用いた試験では、125 ppm 投与群で死亡率、飼料摂取量及び敷料水分率に有意な変化はみられなかった。375 ppm 以上投与群で死亡率が対照群より高く、375 ppm 投与群では一過性の発育遅延、飼料効率低下及び敷料水分率の増加がみられ、625 ppm 投与群では体重及び飼料摂取量の低下がみられた。鶏卵検査（卵重、卵殻厚等）では、375 ppm 投与群で投与による影響はみられなかった。

肉用種を用いた試験では、125 ppm 投与群で死亡率、体重、飼料効率及び敷料水分率に有意な変化はみられなかった。375 ppm 以上投与群では、死亡率が対照群より有意に高く、体重及び飼料効率は対照群より有意に低かった。625 ppm 投与群は死亡率が高いため、試験開始84日後に除外された。試験期間中に採取された鶏卵の受精率及び孵化率では、125及び375 ppm 投与群で投与による影響がみられず、これらの鶏卵から孵化したひなに毒性徴候は認められなかった。

卵用種及び肉用種ともに625 ppm 投与群では、病理組織学的検査において心室心筋炎及び骨格筋の横紋筋融解が認められた。375 ppm 投与群では、血液学的検査、骨髄及び主要臓器の病理組織学的検査において、投与による影響はみられなかった。（参照 51）

鶏（肉用種、96日齢、雌雄各12羽/群）にラサロシド Na を8週間混餌投与（0、75（推奨用量下限）、150、187.5又は225 ppm）し、安全性試験が実施された。

死亡率は、投与群と対照群の間で有意な差はみられなかった。体重、飼料効率及び血液学的検査の結果については、いずれの投与群も対照群と同様であり、混餌投与濃度225 ppm まで毒性影響は認められなかった。（参照 51）

鶏（肉用種、1日齢、雌雄各5羽/群）にラサロシド Na を13週間混餌投与（0、75、150、225又は375 ppm）し、安全性試験が実施された。

75及び150 ppm 投与群では、死亡率、発育、飼料効率、血液学的検査、剖検及び病理組織学的検査において、投与に起因する影響はみられなかった。

225 ppm 以上投与群では、死亡率の上昇、発育抑制及び飼料効率の低下がみられたが、

血液学的検査、剖検及び病理組織学的検査では変化はみられなかった。(参照 51)

### (3) 七面鳥

七面鳥 (71 日齢、雄 36 羽、雌 34 羽) にラサロシド Na を 16 週間混餌投与 (0、125、187.5、250 又は 375 ppm、それぞれ推奨用量上限の 0、1、1.5、2 又は 3 倍濃度に相当) し、安全性試験が実施された。血液学的検査及び血液生化学的検査は、各群 2 羽を用いて試験開始後 7、14、28、56 及び 112 日に実施され、剖検及び臓器重量の測定 (雌雄各 4 羽/群、但し 187.5 ppm 投与群では雄 5 羽、雌 3 羽) 並びに病理組織学的検査 (対照群及び 375 ppm 投与群) は試験終了時に実施された。

一般状態では、投与による臨床徴候はみられなかった。

死亡例は、187.5 及び 375 ppm 投与群でそれぞれ 1 例みられ、試験終了時の各群の個体数は、0、125、187.5、250 及び 375 ppm 投与群で、それぞれ 10、10、9、10 及び 9 羽であった。

体重は各群ともに試験期間中を通じて増加したが、125 mg/kg 群の体重増加量は有意に低かった。これは、主に 5~8 週における飼料摂取量の減少によるもので、他の投与群では用量依存的な影響が認められなかったことから、飼料調製に関わる要因が考えられた。飼料摂取量及び飼料効率については、累積データが無く、187.5 及び 375 ppm 投与群の第 2 週の体重変化に関するデータは欠落していた。

血液学的検査及び血液生化学的検査では、群間で有意な差はみられず、剖検及び病理組織学的検査では、異常な所見は認められなかった。(参照 52)

### (4) きじ

きじ (1 日齢、180 羽) に無投与飼料を 7 日間与えた後、ラサロシド Na を 35 日間混餌投与 (0、120 (少数種の推奨用量上限)、180 又は 240 ppm、42~48 羽/群) し、安全性試験が実施された。

死亡率は低く (180 例中死亡及び廃鳥各 1 例)、投与による影響はみられなかった。

試験終了時における体重 (平均 405 g) 及び累積体重増加量 (平均 360 g) には、群間で有意な差はみられなかった。しかし、240 ppm 投与群では体重増加量の低下傾向が認められた (対照群の 95%)。

累積飼料摂取量は用量依存的に減少し (120、180 及び 240 ppm 投与群でそれぞれ対照群の 89、77 及び 70%)、180 ppm 以上投与群で有意な差が認められた。

累積飼料効率は、180 ppm 以上投与群で有意に低く (180 及び 240 ppm 投与群でそれぞれ 2.7 及び 2.5、対照群は 3.5)、120 ppm 投与群 (3.1) では有意な差はみられなかった。(参照 53)

### (5) やまうずら

やまうずら (イワシャコ、1 日齢、25 羽/群) にラサロシド Na を 28 日間混餌投与 (0、125、175 又は 250 ppm) し、安全性試験が実施された。

死亡率は低く (2/100 例)、投与による影響はみられなかった。体重では群間で有意差がなく、剖検では異常がみられなかった。生データの不足により結論は限られるが、125



ppm 投与におけるやまうずらの安全性が示された。(参照 53)

## (6) ほろほろちょう

ほろほろちょう (1 日齢、180 羽) に無投与飼料を 7 日間与えた後、ラサロシド Na を 35 日間混餌投与 (0、120、180 又は 240 ppm、42~48 羽/群) し、安全性試験が実施された。

死亡率は低く (3/180 例)、投与による影響はみられなかった。

試験終了時における体重 (平均 1,156 g)、累積体重増加量 (平均 1,054 g) 及び飼料摂取量 (180 ppm 投与群の低値を除く) では、群間で有意な差はみられなかった。

累積飼料効率は、120 及び 180 ppm 投与群で対照群より低く (それぞれ 2.2 及び 2.1、対照群は 2.4)、有意差がみられたが、240 ppm 投与群では有意な差はみられなかった。(参照 53)

## 9. その他の試験

### (1) 眼刺激性試験 (ウサギ)

ウサギ (NZW 種、6 匹) を用いて、ラサロシド Na を片方の眼の結膜嚢に点眼 (0.1 mL (0.036 g)、粉末材料) し、5 分後に 3 匹の眼を水で洗浄し (①群)、残りの 3 匹の眼は 24 時間後に洗浄した (②群)。試験開始 1、24、48 及び 72 時間後並びに 7 日後に、角膜、虹彩及び結膜を観察し眼刺激性を評価した。

両群ともに試験開始 1 時間後から 7 日後まで軽度~中等度の結膜発赤がみられ、両群の一部の動物には一過性の結膜浮腫及び角膜混濁領域がみられた。7 日後に角膜混濁がみられた①群の動物 1 例については引き続き 14 日後に観察し、異常はみられなかった。ラサロシド Na は、軽度の眼刺激性を有することが示された。(参照 2、54)

### (2) 皮膚刺激性試験 (ウサギ)

ウサギ (NZW 種、3 匹) の背部皮膚を剪毛し、閉塞パッチを用いてラサロシド Na を損傷又は非損傷の露出皮膚に適用 (500 mg、水で湿らせた粉末材料) した。4 時間後にパッチを除去し、皮膚刺激性を評価した。その後、試験部位を洗浄し 24 及び 48 時間後に再度評価した。

いずれの試験部位においても、全ての時点で、紅斑、痂皮、浮腫等の刺激性変化は認められなかった。(参照 2、54)

### (3) 皮膚感作性試験 (モルモット)

モルモット (Hartley 系、雌、10 匹/群) を用いる Maximization test により、ラサロシド Na の皮膚感作性試験が実施された。1%ラサロシド Na 分散液を皮内注射 (0.1 mL) し、1 週間後に 25%ラサロシド Na 分散液を用いて当該注射部位に閉塞パッチ (0.5 mL) で 48 時間感作した。対照群には、ラサロシド Na を含まない媒体液が用いられた。

感作 2 週間後に、25%ラサロシド Na 分散液を用いて投与群及び対照群の全ての動物に感作時とは別の部位に閉塞パッチ (0.5 mL) で 24 時間再感作し、パッチ除去 24 及び 48 時間後に皮膚反応を観察し評価した。

投与群及び対照群のいずれの群においても紅斑がみられたが、両群で有意な差はなかった。浮腫は、いずれの群からも認められなかった。ラサロシド Na は、モルモットに対して皮膚感作性を有しないと考えられた。(参照 2、55)

#### (4) 神経毒性について

ラサロシドはイヌに対する神経毒の一つであり、神経系への影響として振戦、痙れん及び発作閾値の低下 (tremors, convulsions, reduced seizure thresholds) が示されている。ヒトにおける発症の報告もあるが、詳細なデータは示されていない。(参照 2、62)

ラサロシドは、陽イオンチャンネルに対する影響により神経毒として作用することが報告されている。ラサロシド中毒の事例が、鶏、牛、馬及びイヌで報告され、イヌ及び馬は、他の動物種よりイオノフォアに対して感受性が高いと考えられている。(参照 2、63、64、65)

イヌ (Spanish Bloodhounds 種、雄 2 匹、雌 1 匹) が、近隣の農場で死亡した肉用鶏を食した 1 日後に、急性の中毒症状 (鎮静(depression)、横臥等) を示した。発症までのイヌの状態、臨床症状及びラサロシドが肉用鶏飼料中に存在 (150 ppm) したことから、ラサロシド中毒と診断されたが、食した肉用鶏のサンプルは入手できず分析されなかった。(参照 2、64)

鶏 (肉用種、3 週齢、3 匹/群) を用いて、水分摂取抑制及び高温環境下でラサロシドを 3 週間混餌投与 (100、150 又は 200 ppm、それぞれ標準用量の 1、1.5 又は 2 倍) し、病理組織学的検査が実施された。全投与群で心筋及び末梢神経 (軸索肥大、ミエリン空胞化、軸索萎縮及び軸索消失) に病変がみられ、標準用量の投与においても飼養環境により毒性影響が発現することが示された。(参照 2、66)

公表されているデータでは、ラサロシドが鳥類の末梢神経に病理組織学変化を引き起こすことが示され、牛、馬及びイヌでは神経毒性を示す症状がみられた。イヌにおける急性、亜急性及び慢性毒性試験では、5 mg/kg 体重/日以上用量で神経筋への一過性の影響が示されたが、病理組織学的な所見はなかった。ラットにおける慢性毒性試験 (1 試験) では、2 及び 6 mg/kg 体重/日投与により、握り (grasping) 及び正向反射 (righting) に対する影響が、試験期間中の数時点で報告された。

EMEA は、神経系への毒性影響がヒトに重大なリスクをもたらすとは考えられないと判断している。(参照 4)

#### (5) 薬理作用

ラサロシド Na は二価と一価の陽イオンを結合するカルボン酸イオノフィアである。脂質膜を透過するイオン輸送の変化が、副腎クロム親和性細胞からのカテコールアミン分泌を引き起こす。

イヌを用いたラサロシドの静脈内投与 (1 mg/kg 体重) により、心筋収縮力を増大す

る陽性変力作用（positive inotropic effect）がみられ、心臓及び腎臓の血流増加も認められた。*in vitro* のデータでは、10 µg/mL（培養）では哺乳動物細胞の標本でゴルジ体における可逆的な影響がみられ、0.2 µmol/L で血小板からのセロトニン分泌の増加がみられた。これ以外に薬力学に関するデータは得られなかった。（参照 4）

## （6）ヒトに関する知見

ヒトでの具体的なデータはこれまで提供されていない。ラサロシドはヒトの医薬品には使用されていない。（参照 4）

## 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<sup>①</sup>

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、ヒト分離株等に対するラサロシド Na<sup>6</sup> の約  $5 \times 10^6$  CFU/spot における MIC が調べられている（表 24）。（参照 56）

表 24 ラサロシド Na のヒト腸内細菌に対する MIC<sub>50</sub>

菌名	株数	MIC (µg/mL)	
		MIC <sub>50</sub>	範囲
通性嫌気性菌			
<i>Escherichia coli</i>	30	>128	>128
<i>Enterococcus sp.</i>	30	0.5	0.5～2
嫌気性菌			
<i>Bacteroides sp.</i>	30	64	16～>128
<i>Fusobacterium sp.</i>	20	>128	>128
<i>Bifidobacterium sp.</i>	30	4	2～64
<i>Eubacterium sp.</i>	20	4	2～8
<i>Clostridium sp.</i>	30	2	2
<i>Peptococcus sp./Peptostreptococcus sp.</i>	30	≤0.06	≤0.06～1
<i>Prevotella sp.</i>	20	16	4～32
<i>Lactobacillus sp.</i>	30	2	2～8
<i>Propionibacterium sp.</i>	30	2	1～4

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 sp. /Peptostreptococcus sp.* の ≤0.06 µg/mL であった。本調査の結果から MIC<sub>calc</sub><sup>7</sup> は 0.865 µg/mL (0.000865 mg/mL) と算出された。

<sup>6</sup> 参照 56 ではラサロシドだが、ラサロシド Na をあることを確認した。

<sup>7</sup> 試験薬がその菌に対して活性を有する属の平均 MIC<sub>50</sub> の 90 %信頼限界の下限值

## (2) 臨床分離菌に対する MIC②

ヒト腸内細菌叢を代表する分離株に対するラサロシド Na の MIC の測定が行われた。

試験 1 では、寒天希釈法<sup>8</sup>で Wilkins-Chalgren 寒天培地等を用いて実施された。結果を表 25 に示した。(参照 2、57)

試験 2 では、30 菌株について寒天希釈法<sup>9</sup>でブルセラ血液寒天培地を用い接種菌数を変えて実施された。結果を表 26 に示した。(参照 2、58)

表 25 ラサロシド Na のヒト腸内細菌に対する MIC (試験 1)

菌名	株数	MIC (µg/mL)	
		Wilkins-Chalgren 寒天培地	Wilkins-Chalgren 寒天培地+血液
<i>Escherichia coli</i>	3	>128	—
<i>Enterococcus</i> sp.	9	0.125~1	16 <sup>a</sup>
<i>Bacteroides fragilis</i>	3	4	—
<i>Fusobacterium</i> sp.	4	—	8~>128
<i>Bifidobacterium</i> sp.	10	<0.063~0.5	0.25~4
<i>Eubacterium</i> sp.	10	0.063~0.5	0.25~8
<i>Clostridium</i> sp.	10	0.063~0.5 <sup>b</sup>	2~8
<i>Peptostreptococcus</i> sp.	10	<0.063~0.125	0.25~2
<i>Streptococcus</i> sp.	10	<0.063~0.25	1~8 <sup>c</sup>
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	2	0.125	0.5~4
<i>Proteus</i> sp.	3	128~>128	—
<i>Salmonella</i> sp.	6	>128	—

— : 試験せず、a : 1 株のデータ、b : 9 株のデータ、c : 7 株のデータ

表 26 ラサロシド Na のヒト腸内細菌に対する MIC (試験 2)

菌名	株数	MIC (µg/mL)			
		接種菌数高 <sup>a</sup>		接種菌数低 <sup>b</sup>	
		MIC <sub>50</sub>	範囲	MIC <sub>50</sub>	範囲
<i>Bacteroides</i> sp.	10	128	64~>128	32	16~64
<i>Fusobacterium</i> sp.	10	1	1~128	ND	ND
<i>Peptostreptococcus</i> sp.	10	4	1~8	2	0.5~4

a :  $5 \times 10^6$  CFU/spot、b :  $5 \times 10^2$  CFU/spot

EMEA は、上記試験 1 では Wilkins-Chalgren 培地の MIC<sub>50</sub> がラサロシド Na の MIC 評価に最も適していると記載している。試験 2 のデータが考慮され、微生物学的 ADI の決定には、感受性が認められないことから、*Fusobacterium* sp.、*Escherichia coli*、

<sup>8</sup> NCCLS Document M11-A3

<sup>9</sup> NCCLS Document M11-A6 (January 2004)

*Proteus* sp.及び *Salmonella* sp.の MIC データを除外し、2 つの試験から得られた *Bifidobacterium* sp., *Eubacterium* sp., *Clostridium* sp., *Peptostreptococcus* sp., *Lactobacillus acidophilus*, *Enterococcus* sp., *Streptococcus* sp.及び *Bacteroides fragilis* の値が全体の MIC<sub>50</sub> の決定に用いられた。MIC<sub>50</sub> 幾何平均の 90 %信頼限界の下限値は、0.134 µg/mL であった。(参照 4)

### (3) MICに関するその他の知見 (pH の影響)

ヒト腸内細菌叢を代表する分離株に対するラサロシド Na の MIC への pH の影響が調べられた。pH を 6.0、7.1 又は 8.5 に調整したブルセラ血液寒天培地を用い、寒天希釈法で実施された。結果を表 27 に示した。

試験に供した 15 株中 14 株では、いずれの 2 つの pH 条件から得られた MIC を比較しても、最大差は 2 倍段階希釈で 2 段階の差であった。*Fusobacterium* sp.の 1 株では、pH 8.5 での MIC が pH 7.1 で得られた MIC に対して 3 段階高かったが、pH 6.0 の MIC も pH 7.1 の MIC に対して 2 段階高く、寒天培地の pH による MIC の変化には、明確な傾向は認められなかった。(参照 2、59)

表 27 ラサロシド Na のヒト腸内細菌に対する MIC への pH の影響

菌名	株数	MIC (µg/mL)		
		pH6.0	pH7.1	pH8.5
<i>Bacteroides</i> sp.	5	16~64	32~64	64~128
<i>Fusobacterium</i> sp.	5	4~128	8~128	8~>128
<i>Peptostreptococcus</i> sp.	5	0.5~4	1~8	1~8

### (4) 糞便結合試験 (ヒト)

ラサロシド Na (0、1、2、5、10、20、50 又は 100 µg/mL) に 3 人の健常ヒト又はボランティアから採取したヒト糞便の滅菌希釈液 (0、10、25 又は 50 w/w%) を加え、糞便結合試験 (結合時間 : 0、0.5、1、2、6 又は 8 時間、温度 : 37±1°C) が実施された。ラサロシドの抗菌活性に対する糞便結合の影響は、各培養液の遠心上清にラサロシド感受性の *Enterococcus faecalis* を接種し、24 及び 48 時間培養後の細菌増殖の有無により判定された。

ラサロシド Na は、糞便を加えずに培養した場合、いずれの結合時間においても 1 µg/mL の濃度で *E. faecalis* の増殖を阻害した。10 %濃度の糞便を用いた場合、短い結合時間 (一連の結合条件の分注操作が終了し試験を開始した時点(結合時間 0 と設定された。)) でも、100 µg/mL で増殖がみられ、ラサロシドの初期濃度の 99 %以上が糞便に結合し、上清中濃度が減少したことを示唆した。全ての糞便濃度において、結合時間 8 時間までの全ての時点で同様の結果が得られ、ラサロシドと糞便の結合は不可逆的であると考えられた。(参照 2、4、60)

EMEA では、上記試験について、この種の試験には現在、認可及び検証されたプロト

コールがないこと、並びに分析法の検出限界、試験菌株数、上清中のラサロシドの存在、懸濁液中のラサロシドと糞便の結合に関する情報不足及びこの結合が不可逆的であるか不明であること、また陽性対照の欠落についても懸念があることから、微生物が利用可能な経口用量の割合を 0.1 と設定している。(参照 4)

### III. 食品健康影響評価

#### 1. 海外における評価について

##### (1) EMEA における評価

EMEA は、各種試験結果に基づきラサロシド Na の毒性学的及び微生物学的 ADI を算出している。

毒性学的一日摂取許容量 (ADI) は、ラットを用いた 130 週間慢性毒性/発がん性併合試験及びウサギを用いた発生毒性試験 (母動物毒性) から得られた無作用量 (NOEL) 0.5 mg/kg 体重/日に基づき、神経毒性に関するデータが限られた内容であることによる不確実係数 200 を適用し、2.5 µg/kg 体重/日 (0.0025 mg/kg 体重/日) と設定されている。

微生物学的 ADI については、ヒト腸内細菌に対する MIC<sub>50</sub> に関するデータから MIC<sub>50</sub> 幾何平均の 90% 信頼限界の下限值 (0.134 µg/mL) を算出し、微生物が利用可能な経口用量の分画を 0.1 と設定して、CVMP の標準計算式を用い次のとおり算定している。

$$\begin{aligned}
 \text{ADI} &= \frac{\frac{\text{最小 MIC}_{50} \times \text{CF2}^{*2}}{\text{CF1}^{*1}} \times \text{1 日の糞便量}}{\text{微生物が利用可能な経口分画} \times \text{ヒト体重}} \\
 &= \frac{\frac{0.134 \mu\text{g/mL} \times 1}{1} \times 220\text{g}}{0.1 \times 60 \text{ kg}} = 4.91 \mu\text{g/kg 体重/日}
 \end{aligned}$$

\*1: ラサロシド又は他のイオノフォア抗生物質は *in vitro* 又は *in vivo* の条件の下で薬剤耐性選択性を示されなかったため 1 とする。

\*2: より高い値とする根拠は認められなかったため 1 とする。

\*3: 投与により利用可能な分画は 10%であった。

EMEA は、毒性学的 ADI が微生物学的 ADI よりも小さいことから、消費者の安全性を評価する上で、ラサロシド Na の ADI を毒性学的 ADI の 0.0025 mg/kg 体重/日と設定している。(参照 4)

##### (2) EFSA における評価

EFSA は、ラットを用いた 130 週間慢性毒性/発がん性併合試験及びウサギを用いた発生毒性試験 (母動物毒性) から得られた NOAEL 0.5 mg/kg 体重/日に基づき、安全係数 100 を適用して、ラサロシド Na の ADI を 0.005 mg/kg 体重/日と設定している。(参照

52、53)

### (3) FDAにおける評価

FDAは、イヌを用いた2年間慢性毒性試験から得られたNOEL 1 mg/kg 体重/日に、安全係数100を適用して、ラサロシドのADIを0.01 mg/kg 体重/日と設定している。(参照8、9)

### (4) FSANZにおける評価

FSANZは、NOEL 2 mg/kg 体重/日に基づき、ラサロシドのADIを0.001 mg/kg 体重/日と設定している。(参照61)

## 2. 食品健康影響評価について

### (1) 毒性学的ADIについて

ラサロシドNaについては、*in vivo* 遺伝毒性に関する試験結果の報告は認められなかったが、異なるエンドポイントを利用した複数の*in vitro* 遺伝毒性試験の結果がいずれも陰性であることから、ラサロシドNaは、DNAと直接反応して遺伝毒性を示す可能性は低く、閾値の設定は可能であると考えられた。発がん性も認められなかったことから、ADIを設定することが可能であると判断した。

各種毒性試験のうち、何らかの毒性影響が認められた試験の最小のNOAELは、ラットを用いた130週間慢性毒性/発がん性併合試験及びウサギを用いた発生毒性試験における0.5 mg/kg 体重/日であった。毒性学的ADIの設定に当たっては、このNOAEL 0.5 mg/kg 体重/日に、安全係数として100(種差10及び個体差10)を適用し、0.005 mg/kg 体重/日と設定することが適当であると考えられる。

### (2) 微生物学的ADIについて

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についての調査」により、詳細な知見が得られており、この結果からVICHガイドラインに基づいて微生物学的ADIを算出することができる。

ラサロシドNaのMIC<sub>calc</sub>は0.000865 mg/mL、結腸内容物に220 g/日、微生物が利用可能な経口用量の分画(細菌が暴露される分画)に0.1、ヒト体重60 kgを適用し、VICHの算出式により、以下のとおり算定された。

$$ADI = \frac{0.000865^{*1} \times 220^{*2}}{0.1^{*3} \times 60^{*4}} = 0.0317 \text{ mg/kg 体重/日}$$

\*1: MIC<sub>calc</sub>: 試験薬がその菌に対して活性を有する属の平均MIC<sub>50</sub>の90%信頼限界の下限值 (mg/mL)

\*2: 結腸内容物 (g)

\*3: 微生物が利用可能な経口用量の分画: EMEAにおける糞便結合試験に基づく0.1を適用

\*4: ヒトの体重 (kg)

### (3) ADIの設定について

毒性学的 ADI が微生物学的 ADI よりも小さいことから、ラサロシド Na の ADI としては、0.005 mg/kg/日と設定することが適当であると判断された。

以上より、ラサロシド Na 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られる。

ラサロシドナトリウム 0.005 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。



表 28 海外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) 等		
			EMEA	EFSA	FDA
マウス	2 年間発がん性	0、10(20)、35(60)、120 ppm ( )内数値は試験開始後 5 週間までの投与量 (混餌投与)	— 試験中に死亡又は安楽死させた 10 及び 120 ppm 投与群の雌でリンパ肉腫の発生率上昇、投与群の雄及び試験終了まで生存した雌ではリンパ肉腫発生率の上昇なし		120 ppm 発がん性なし
ラット	13 週間亜急性毒性 (離乳ラット)	1、2、3、10 (混餌投与)	1 Ht 低下、好中球増加症 (neutrophilic leukocytosis)	1 Ht 低下、好中球増加症 (neutrophilic leukocytosis)	
	130 週間慢性毒性 / 発がん性併合	雄: 0、0.5、1.8、6.2 雌: 0、0.6、2.2、8.1 (0、10、35、120 ppm) (混餌投与)	雄 0.5、雌 0.6 Glu 上昇、BUN 低下、副腎重量増加	雄 0.5、雌 0.6 Glu 上昇、BUN 低下、肝臓及び副腎重量増加 発がん性なし	120 ppm 発がん性なし
	生殖発生毒性	1、2、3、10 (混餌投与)	3 体重増加抑制 (母動物)	3 体重増加抑制 (母動物、胎児)	
	三世代生殖毒性	0、10、35、120 ppm (混餌投与)	0.5 ~ 0.8 ( 10 ppm) 黄体数及び着床数減少	雄 0.6、雌 0.7 黄体数及び着床数減少	
イヌ	13 週間亜急性毒性	0、2、5、10 (経口投与)	2 血清 Cl 低下	2 血清 Cl 低下	

	2年間慢性毒性	0、0.25、1、5 (EFSA: 0.3、1、6 mg/kg 体重/日、0、10、35、180 ppm) (混餌投与)	1 (雌雄、35 ppm) 一時的摂餌量減少、ALP 上昇、前立腺重量低下	1 摂餌量減少 (試験開始後 12 週間まで)、ALP 上昇、前立腺重量低下	1 (35 ppm) ALP 上昇、前立腺重量低下
ウサギ	発生毒性	0、1、2、4 (強制経口投与) (予備試験)	— 全投与群で体重増加抑制、 胎児体重低下		
	発生毒性	0、0.5、1、2 (強制経口投与)	0.5 (母動物、胎児) 母動物: 摂餌量減少による全身的影響 胎児: 妊娠状態による影響、体重増加抑制	0.5 妊娠状態、胎児体重への影響	
毒性学的 ADI (mg/kg 体重/日)			0.0025 NOEL: 0.5 SF: 200 (神経毒性に関するデータが限定的であるため)	0.005 NOAEL: 0.5 SF: 100 (ラットと鶏の間の代謝プロフィールの同等性が確立されていないため、鶏組織中の残留評価については考慮が必要である。)	0.01 NOEL: 1 SF: 100
毒性学的 ADI の設定根拠			130 週間慢性毒性/発がん性併合試験 (ラット) 及び発生毒性試験 (ウサギ)	130 週間慢性毒性/発がん性併合試験 (ラット) 及び発生毒性試験 (ウサギ)	2 年間慢性毒性試験 (イヌ)
微生物学的 ADI (mg/kg 体重/日)			0.00491	記載なし	記載なし
微生物学的 ADI の設定根拠			MIC <sub>50</sub> の幾何学的平均値の 90%信頼限界値: 0.134 µg/mL		
ADI (mg/kg 体重/日)			0.0025	0.005	0.01

〈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
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)]
BUN	血中尿素窒素
CFU	コロニー形成単位
C <sub>max</sub>	最高濃度
CVMP	欧州医薬品審査庁動物用医薬品委員会
EFSA	欧州食品安全機関
ELISA	酵素結合免疫測定法
EM(E)A	欧州医薬品審査庁
Glu	グルコース (血糖)
FDA	米国食品医薬品庁
FSANZ	オーストラリア・ニュージーランド食品基準機関
HPLC	高速液体クロマトグラフィー
HPLC/FLD	高速液体クロマトグラフィー/蛍光検出器
Hb	ヘモグロビン (血色素) 量
Ht	ヘマトクリット値
LC/(MS)/MS	液体クロマトグラフィー/(タンデム)質量分析
LD <sub>50</sub>	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 <sub>50</sub>	50%最小発育阻止濃度
NCCLS	米国臨床検査標準委員会
NOAEL	無毒性量
NOEL	無作用量
T <sub>1/2</sub>	消失半減期
TAR	総投与放射活性
TLC	薄層クロマトグラフィー
TRR	総残留放射活性
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

## 〈参照〉

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（平成 17 年 11 月 29 日 厚生労働省告示第 499 号）
2. 国外で使用される農薬等に係る残留基準の改正の要請の資料概要（未公表）
3. 農林水産省：ラサロシドナトリウムについての試験成績等の抄録
4. EMEA: COMMITTEE FOR VETERINARY MEDICINAL PRODUCTS, LASALOCID SODIUM, SUMMARY REPORT, 2004
5. EMEA: COMMITTEE FOR MEDICINAL PRODUCTS FOR VETERINARY USE, LASALOCID SODIUM (extension to eggs) , SUMMARY REPORT, 2006
6. EMEA: COMMITTEE FOR MEDICINAL PRODUCTS FOR VETERINARY USE, LASALOCID SODIUM (Extension to eggs) , SUMMARY REPORT, 2007
7. EMA: European public MRL assessment report (EPMAR) , Lasalocid (bovine species) , 2012
8. FDA CFR Sec.556.347 / Lasalocid , 2012
9. US Freedom of Information Summary (NADA 96・298) , 2009
10. The Whole Blood Concentration and Tissue Distribution of Radioactivity after a Single Oral Administration of Lasalocid-<sup>14</sup>C to Adult Male Mice at a Dose of 1mg/kg, 1979（未公表）
11. The Whole Blood Concentration and Tissue Distribution of Radioactivity after a Repeated Oral Administration of Lasalocid-<sup>14</sup>C to Adult Male Mice at a Dose of 1mg/kg for One Week,1980（未公表）
12. Fecal and Urinary Excretion of Radioactivity after Oral Administration of Lasalocid-<sup>14</sup>C Sodium to Female and Male Mice at a Dose of 1mg/kg, 1978（未公表）
13. The Whole Blood Concentration and Tissue Distribution of Radioactivity after a Single Oral Administration of Lasalocid-<sup>14</sup>C to Adult Male Rats at a Dose of 1mg/kg, 1979（未公表）
14. Fecal and Urinary Excretion of Radioactivity after Oral Administration of Lasalocid-<sup>14</sup>C to Male and Female Rats at a Dose of 1mg/kg, 1978（未公表）
15. Biliary Excretion of Radioactivity After Oral Administration of Lasalocid-<sup>14</sup>C to Male Rats at a Dose of 1 mg/kg, 1978（未公表）
16. Comparison of Liver Radioactivity in Rats Fed Lasalocid-<sup>14</sup>C with Liver Radioactivity of Lasalocid-<sup>14</sup>C Fed Chickens（未公表）
17. The Uptake and Elimination of Lasalocid-<sup>14</sup>C in the Chicken, 1973（未公表）
18. Metabolism and Residue Depletion of [<sup>14</sup>C]-Lasalocid Sodium in Broiler Chickens, 2003（未公表）
19. The Metabolism of Lasalocid-<sup>14</sup>C in Chickens, 1987（未公表）
20. G.D.Kennedy, W.J.Blanchflower and B.C.O'Doman. Development of an ELISA for Lasalocid and Depletion Kinetics of Lasalocid Residues in Poultry. Food Addit. Contam., 1995; 12: 83-92

21. The Uptake, Distribution and Elimination of Lasalocid-<sup>14</sup>C in the Turkeys, 1986 (未公表)
22. The Metabolism of Lasalocid- [C<sup>14</sup>] in the Turkey, Swine, Mouse, Rat, Dog and Chicken, 1987 (未公表)
23. The Uptake and Elimination of Lasalocid-<sup>14</sup>C in Chickens Which Were Fed Lasalocid-<sup>14</sup>C at 0.0125% in the Feed for 21 Days, 1977 (未公表)
24. Elimination of Ro 2-2985 from Chicken Tissues, 1973 (未公表)
25. Residue Depletion Study In Muscle and Skin/Fat Obtained from Broiler Chickens Treated with Avatec (lasalocid) Medicated Feed at 113 g/ton for 42 Days Followed by Treatment with Non-Medicated Feed for up to 10 Days. (2011) , and LC/MS/MS Analysis of Lasalocid in Chicken Muscle and Skin/Fat (2012) , 2012 (未公表)
26. Residue Depletion of Lasalocid A in Broiler Chickens Following Administration of Avatec 150 G (15% Lasalocid Sodium) in the Diet for 42 Consecutive Days, 2006 (未公表)
27. The Magnitude and Nature of the Residues in Eggs from Laying Hens Following the Repeated Oral Administration of [<sup>14</sup>C] -Lasalocid Sodium, 2005 (未公表)
28. V.Vandenberge, E.Delezie, G.Huyghebaert, P.Delahaut, G.Pierret, P.De Backer. *et.al.* Transfer of the Coccidiostats Monensin and Lasalocid from Feed at Cross-contamination Levels to Whole Egg, Egg White and EggYolk. *Food Addit. Contam.* , 2012; Part A29. 12: 1881-1892
29. A Study to Investigate the Residue Depletion of Lasalocid Sodium in Growing Turkeys Following Administration of Avatec® 150G in the Diet for 112 Consecutive Days, 2008 (未公表)
30. Residue Depletion of Avatec® 150G (15% Lasalocid Sodium) in Pheasants, 2007 (未公表)
31. The Effect of Feeding Lasalocid Sodium (AVATEC 15% CC) on Edible Tissues Residues in Farmed Quail, 2000 (未公表)
32. Mutagenic Evaluation of Lasalocid Sodium in Bacterial Repair and Reverse Mutagenesis Tests, 1977 (未公表)
33. Mutagenicity Evaluation of Sodium Lasalocid (Ro 02-2985/001) , a Coccidostatic Antibioticum with *Saccharomyces cerevisiae* D7, 1988 (未公表)
34. Gene Mutation Assay in Cultured Mammalian Cells with the Feed Additive Ro 02-2985/001 Sodium Lasalocid (V79/HGPRT Test) , 1989 (未公表)
35. Unscheduled DNA Synthesis (UDS) Assay with the Feed Additive Ro 02-2985/001 (Sodium Lasalocid) Using Cultured of Rat Hepatocytes, 1989 (未公表)
36. Chromosome Analysis in Human Peripheral Lymphocytes Treated *In Vitro* with the Anticoccidial Antibiotic Ro 02-2985/001 in Absence and in Presence of a Metabolic Activation System, 1989 (未公表)
37. Acute Toxicity and Dog Tolerance Testing of Ro 2-2985/001 (Coccidiostat) , 1972 (未公表)

38. A Thirteen Week Oral Toxicity Study of Ro 2-2985/001 in Rats, 1973 (未公表)
39. A Thirteen Week Oral Toxicity Study of Ro 2-2985/001 in Weanling Rats, 1975 (未公表)
40. A Thirteen Week Oral Toxicity Study of Ro 2-2985/001 in Rats Obtained from Treated Parents, 1975 (未公表)
41. A Thirteen Week Oral Toxicity Study of Ro 2-2985/001 in Dogs, 1973 (未公表)
42. A Chronic Oral Toxicity Study of Ro 2-2985/001 in Beagle Dogs, 1980 (未公表)
43. Chronic Toxicity Study in Mice Ro 2-2985/001 (lasalocid) Avatec, 1980 (未公表)
44. Chronic Toxicity Study in Rats Ro 2-2985/001 (lasalocid) Avatec, 1981 (未公表)
45. Reproduction Studies of Ro 2-2985/001 in Rats. Study of Fertility and General Reproductive Performance, 1974 (未公表)
46. A Three Generaltion Reproductive and Teratology Study of Rats: Ro 2-2985/001, 1980 (未公表)
47. Lasalocid sodium: Dose Range Finding Study in Rabbits Preliminary to Developmental Toxicity Study (未公表)
48. Lasalocid sodium: Developmental Toxicity Study in Rabbits, 2003 (未公表)
49. The Metabolism of Lasalocid-<sup>14</sup>C in Mice, 1987 (未公表)
50. The Metabolism of Lasalocid-<sup>14</sup>C in Rats, 1987 (未公表)
51. EFSA: Update of an opinion of the Scientific Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed on the reevaluation of coccidiostat Avatec in accordance with article 9G of Council Directive 70/524/EEC. EFSA Journal 2004; 77:1-45
52. EFSA: Scientific Opinion on the safety and efficacy of Avatec® 150G (lasalocid A sodium) for turkeys. EFSA Panel on Additives and Products or Substances used in Animal feed (FEEDAP). EFSA Journal 2010; 8(4):1575
53. EFSA: Scientific Opinion on the safety and efficacy of Avatec® 150G (lasalocid A sodium) for pheasants, partridges, quails and guinea-fowl. EFSA Panel on Additives and Products or Substances used in Animal feed (FEEDAP). EFSA Journal 2011; 9(4):2116
54. Acute Dermal Toxicity and Irritation Testing of Ro 2-2985/001 in Rabbits, 1977 (未公表)
55. Guinea-Pig Sensitisation Testing of Ro 2-2985/001 Using the Maximisation Test, 1977 (未公表)
56. 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
57. Sodium Lasalocid: Determination of Minimum Inhibitory Concentration (MIC) Against Bacteria of Human Origin, 1998 (未公表)
58. Activity of Lasalocid Sodium Against Bacterial Strains Representing the Normal Human Intestinal Microbiota: Determination of Minimum Inhibitory Concentration (MIC) , 2004 (未公表)

59. Effect of pH on the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) of Lasalocid Sodium Against Selected Bacterial Strains Representing the Normal Intestinal Microbiota, 2004 (未公表)
60. Effect of Fecal Binding on Antibacterial Activity of Lasalocid Sodium, 2004 (未公表)
61. FSANZ: Final Assessment Report. Maximum Residue Limits-Lasalocid (Antibiotic), 2005
62. S. C. Gad, and S. E. Gad. A Functional Observational Battery for Use in Canine Toxicity Studies: Development and Validation. *Int J Toxicol* 2003; 22: 415-422
63. N. Safran, I. Aizenberg, and H. Bark. Paralytic Syndrome Attributed to Lasalocid Residues in a Commercial Ration Fed to Dogs: *JAVMA* 1993; 202: 1273-1275
64. M. Suarez, N. Mino, A. Goicoa, L. Fidalgo and G. Santamarina. Suspected Lasalocid Poisoning in Three Dogs. *Vet. Human Toxicol.* 2003; 45: 241-242
65. B. Perelman, M. Pirak and B. Smith. Effects of the Accidental Feeding of Lasalocid Sodium to Broiler Breeder Chickens. *Vet. Rec.* 1993; 132: 271-273
66. D. Gregory, S. Vanhooser and E. Stair. Light and Electron Microscopic Lesions in Peripheral Nerves of Broiler Chickens Due to Roxarsone and Lasalocid Toxicoses. *Avian Dis.* 1995; 39: 408-416