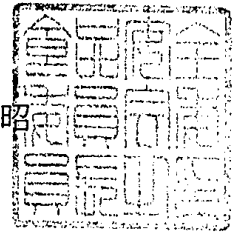




府食第 257号
平成17年 3月10日

厚生労働大臣
尾辻 秀久 殿

食品安全委員会
委員長 寺田 雅昭



食品健康影響評価の結果の通知について

平成16年12月3日付 厚生労働省発食安第1203002号をもって貴省より当委員会に対し意見を求められたピルリマイ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

ピルリマイシンの1日摂取許容量を0.008mg/kg体重/日と設定する

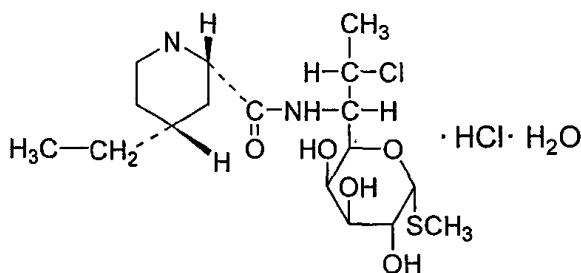
(別添)

ピルリマイシンの食品健康影響評価について

1. 薬剤の概要

(1)物質名⁽¹⁾

ピルリマイシン塩酸塩水和物(pirlimycin hydrochloride hydrate)



分子式 : $C_{17}H_{31}ClN_2O_5S \cdot HCl \cdot H_2O$

分子量 : 465.43

常温における性状 : 白色の結晶性粉末

融点 : 210.5~212.5°C

溶解度 : 70 g/L (pH 4.5)、3 g/L (pH 13)

蒸気圧 : nonvolatile

(2) 効能・効果⁽²⁾

ピルリマイシンは、リンコサミド^aを含むMLS抗生物質^bの一群で、同系統の薬物としてはリンコマイシン、クリンダマイシン等がある。主としてグラム陽性菌に対して有効であり、作用機序は細菌細胞の70Sリボソームの50Sサブユニットに結合してペプチドトランスフェラーゼを阻害することにより、蛋白質合成を阻害するものと考えられている。一般的な乳房炎^cの病原菌である *Staphylococcus* 属 (*S. aureus*) および *Streptococcus* 属 (*S. agalactiae*, *S. uberis*, *S. dysgalactiae*) 等のグラム陽性菌に対して有効であることから、動物用医薬品としては、乳房炎の治療に用いられている。

(3) その他⁽²⁾

本剤は、国内における承認はないが、米国、ニュージーランド等では泌乳期の乳牛の潜在性^dおよび臨床型乳房炎の治療、EU(英国、ドイツ、フランス等)では、泌乳期の乳牛の潜在性乳房炎の治療を目的として使用されている。米国・ニュージーランドにおける用法・用量は、乳牛の1分房当たりピルリマイシンとして50 mgの用量を24時間間隔、2回の乳房内注入投与で、休薬期間は米国では牛:9日、牛乳:36時間、ニュージーランドでは牛:10日、牛乳:60時間である。EUにおける用法・用量は、乳牛の1分房当たりピルリマイシンとして50 mgの用量を24時間間隔、8回の乳房内注入投与で、休薬期間は牛:23日、牛

^a リンコサミン(6-amino-6,8-dideoxyoctose)を含む抗生物質の一群。

^b Macrolide, Lincosamide and Streptogramin の略。これらは構造的に異なるが、すべて70Sリボソームの50Sサブユニットに作用する。

^c 乳腺の炎症。ほとんどは細菌の感染による。臨床徴候としては、乳腺の疼痛、発熱、腫脹、乳の異常が含まれる。⁽³⁾

^d 乳汁中の細胞数異常、臨床病理学的数値の異常によってのみ認められる乳房炎。⁽³⁾

乳：5日である。なお、FDA(1993年)、EMEA(1998年)、JECFA(2004年)においてすでに評価されており、それぞれ10、6、8 µg/kg 体重/日(2004年)のADIが設定されている。

2. 毒性試験の概要

2-1. 吸収・分布・代謝・排泄

(1) 吸収・排泄

【ラットにおける経口投与試験】⁽⁴⁾

Sprague-Dawley系ラット(雌雄各6匹)に¹⁴C標識ピルリマイシンを経口投与(29mg/kg体重、5日間)し、尿中、糞中への回収率を測定した。

総投与量に対する回収量の比率は、尿中が約5%(雄4.5%、雌6.4%)、糞中が約60%(雄62.8%、雌58.8%)であった。

【ヒトボランティアにおける経口投与試験】

5名の健康ボランティア男性における経口投与(50, 125, 250, 500mg/ヒト)において、50mgの投与では血漿中からピルリマイシンは検出できなかったが、その他の用量における T_{max} は投与量にかかわらず4時間、 C_{max} はそれぞれ、0.1, 0.2, 0.6 µg/mLであった。投与後24時間までの尿中から2.8~6.9%が、72時間までの糞中から29~34%が回収された。⁽⁵⁾

健康男性におけるカプセルあるいは溶液を用いた経口投与(125mg/ヒト；各5名)において、 C_{max} はカプセルで0.11 µg/mL、溶液で0.18 µg/mLであった。48時間までの尿中回収率はカプセルで4.4%、溶液で7.3%であった。⁽⁶⁾

【泌乳牛における乳房内投与試験】

泌乳牛(12頭)を用いた¹⁴C標識ピルリマイシンの乳房内投与(1分房当たり200 mg×4分房、24時間間隔2回)における C_{max} 、 T_{max} 、 $T_{1/2}$ 、AUCは次の通りであった。血液試料は第1回投与後96時間(第2回投与後72時間)まで17時点で採取された。

乳房内に投与されたピルリマイシンは大部分が投与後12時間以内に排泄され、これらは血中に移行せずに排泄されたものと考えられたが、一部は血液/乳房を介して全身の組織循環に入り、2相性の薬物動態が認められた。 T_{max} は第1回投与時が9~12時間、第2回投与時が6~12時間、 C_{max} は第1回投与時が平均0.083 µg/mL、第2回投与時が平均0.131 µg/mLであった。第2回投与時は第1回投与時の影響があり、約1.5倍であった。 $T_{1/2}(\alpha相)$ は平均2.89時間、 $T_{1/2}(\beta相)$ は37.6時間であった。血中薬物濃度-時間曲線下面積(AUC₀₋₁₂₀)は2.269~7.114 µg·hr/mLであった。

最終投与後4, 6, 14及び28日休薬し、その間それぞれ3頭について乳汁を12時間間隔、糞尿を24時間間隔で採取し、乳汁中、尿中及び糞中への回収率が測定された。

総回収率には休薬による明確な差は認められず、平均総回収率は乳汁に約50%、尿中に約10%、糞中に約24%であった。⁽⁷⁾

泌乳牛(23頭)に¹⁴C標識ピルリマイシンを乳房内投与(1分房当たり50 mg、24時間間隔2回)し、最終投与後6, 10, 14, 18日までそれぞれ5頭(14日のみ8頭)について乳汁を12時間間隔、糞尿を24時間間隔で採取し、乳汁中、尿中及び糞中への回収率が測定された。

総投与量に対する回収量の比率は、乳汁中が50.7%、尿中が12.7%、糞中が27.6%であった。⁽⁸⁾

【泌乳牛における静脈投与試験】⁽⁹⁾

泌乳牛(3頭)を用いた¹⁴C標識ピルリマイシンの単回静脈内投与(800 mg/頭)における $T_{1/2}$ (α 相)は0.16~0.27時間、 $T_{1/2}$ (β 相)は10.8~23.1時間であった。

総投与量に対する回収量の比率は、乳汁中が4.3%、尿中が26.5%、糞中が47.0%であった。

(2) 代謝

【ラットにおける体内分布】⁽⁴⁾

Sprague-Dawley系ラット(雌雄各6匹)を用いた¹⁴C標識ピルリマイシンの経口投与(29mg/kg体重、5日間)において、投与終了時(投与終了後2-4時間)の組織中濃度は肝臓で最も高く、ついで腎臓、筋肉、脂肪であった。肝臓中の放射活性に対する化合物の割合は、ピルリマイシンが(雄57%、雌76%)、ピルリマイシンスルホキッドが(雄42%、雌21%)で代謝物の割合は雄でより高かった。

【泌乳牛における体内分布】

¹⁴C標識ピルリマイシン(1分房当たり200 mg×4分房)を24時間間隔で2回、泌乳牛(12頭)に乳房内投与し、第2回投与後4、6、14、28日に各3頭を用いた肝臓、腎臓、筋肉、脂肪中の残留量が総放射活性により測定されている。組織中濃度は調査されたいずれの時点においても肝臓で最も高く、ついで腎臓、脂肪、筋肉の順であったが経時的に減少した。⁽⁷⁾

¹⁴C標識ピルリマイシン(1分房当たり50 mg×4分房)を24時間間隔で2回、泌乳牛(23頭)に乳房内投与し、第2回投与後6、10、14、18日に5頭(14日のみ8頭)を用いて肝臓、腎臓、筋肉、脂肪中の残留量が総放射活性により測定されている。組織中濃度は肝臓で最も高く、ついで腎臓であった。最終投与後18日の時点の筋肉、脂肪中の濃度は0.005 μ g-eq/gであった。⁽⁸⁾

【泌乳牛における乳汁、肝臓、尿、糞中の代謝物】

¹⁴C標識ピルリマイシン(1分房当たり200 mg×4分房)を24時間間隔で2回、泌乳牛(12頭)に乳房内投与し、第2回投与後4、6、14、28日に各3頭を用いて組織を採取した。また、それまでの間乳汁を12時間間隔、糞尿を24時間間隔で採取した。採取された総サンプルの尿、糞、乳汁、肝臓中それぞれの代謝物の平均存在比は次のとおりであった。

尿中では、ピルリマイシン未変化体が80.6%、ピルリマイシンスルホキッドが8.0%、未同定の極性物質1が3.8%、2が6.7%、その他0.4%であった。糞中ではピルリマイシン未変化体が44.6%、ピルリマイシンスルホキッドが1.5%、未同定の極性物質1が32.2%、2が17.8%、その他2.6%であった。肝臓中ではピルリマイシン未変化体が21.9%、ピルリマイシンスルホキッドが76.5%であった。乳汁ではピルリマイシン未変化体が90.0%以上を占めていた。⁽¹⁰⁾

未同定の極性物質について、MS及びNMRを用いて同定が試みられ、これらはピルリマイシン又はピルリマイシンスルホキッドのリボヌクレオチド付加体であると結論されている。著者は、これら極性物質は主として糞中から検出されていることから、消化管中の微生物による代謝によって生成され、尿中からの検出については採取時に混入したものと推測している。⁽¹¹⁾

2-2. 毒性試験

(1) 急性毒性試験^{(12),(13)}

Sprague-Dawley 系ラット(雌; 各 3 匹)を用いた試験において、経口投与では 2000 mg/kg 体重までの 2 回の塩酸ピルリマイシンの投与で死亡は認められなかった。腹腔内投与では 300 mg/kg 体重では 2 回の投与で死亡は認められなかったが、2000 mg/kg 体重では全例が死亡した。これらより、概略の LD₅₀ 値は経口投与で 5000 mg/kg 体重、腹腔内投与で 500 mg/kg 体重と推定された。

(2) 亜急性毒性試験

【ラットを用いた 30 日間亜急性毒性試験】⁽¹⁴⁾

5~6 週齢の Sprague-Dawley 系ラット(雌雄各 10 匹/群)を用いた胃挿管による強制経口(0、50、160、500 mg/kg 体重/日)投与における 30 日間の亜急性毒性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。

一般的な臨床症状観察では、特に投与に起因した異常は認められなかった。また、160 mg 投与群の雌雄各 1 例が死亡したが、この他投与に起因した死亡例は認められなかった。

体重変化は対照群と概ね同様であったが、雌の 50mg 投与群の 14 日以降、500mg 投与群の 21 日以降では軽度増加していた。摂餌量も対照群と概ね同様であったが、全ての投与群で雄の 21-28 日、雌の 7-21 日の間、軽度な増加がみられた。

血液学的検査では、雄の全ての投与群で用量依存性はなかったが白血球数の減少が認められた。500mg 投与群の雄で MCH、雌で単球の増加が認められた。

血液生化学的検査では、雄の全ての投与群で BUN の増加、雌の全ての投与群で ALT の上昇が認められた。雄の 160mg 以上の投与群で無機リン酸の増加、雄の 500mg 投与群で AST、ALT 及びアドレナリンの上昇が認められた。

臓器重量では、500 mg 投与群の雄で副腎重量の軽度な増加が認められた。

剖検及び病理組織学的検査は、500mg 投与群と対照群について実施されたが、500mg で明確な病変が認められた胃については 160mg 投与群についても実施されている。500mg 投与群では雌雄で表層及び深部の粘膜層に限局性の炎症病変が認められた。非腺胃部の病変は、通常腺胃部の近傍で認められ、角質層の境界面に限局した多形核貪食細胞の集合や、時折初期膿疱の形成が認められた。上皮は肥厚し、まれにびらんが認められ、病変部位の境界縁^eは伸長していた。真皮には単球及び好酸球の浸潤が認められた。腺胃部では主として単球と好酸球の粘膜下織への浸潤であった。また、肝臓の電子顕微鏡検査(各群雌雄 3 例ずつ実施)では、500mg 投与群で肝細胞のミエリン小体^fの存在およびリソゾームの増加が認められた。

本試験における NOAEL は求められなかった。

【ラットを用いた 3 ヶ月間亜急性毒性試験】⁽¹⁵⁾

約 5 週齢の Sprague-Dawley 系ラット(雌雄各 20 匹/群)を用いた胃挿管による強制経口(10、30、100、300 mg/kg 体重/日)投与における 91 日間の亜急性毒性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。

一般的な臨床症状観察、体重変化では、特に異常は認められなかった。また、100 mg 投与群の雄 1 例及

^e 前胃と腺胃の境界。境界縁は前胃粘膜の隆起であるが、これにより前胃と腺胃は明瞭に区分できる。

^f リソゾーム内に脂質が蓄積したもの。

び 300 mg 投与群の雄 2 例が失技のため死亡したが、この他投与に起因した死亡例は認められなかった。また、雄として群分けされていた 30 mg 投与群の 1 例が、投与 1 週に雌であることが判明したため、試験から除かれた。

体重変化では、300mg 投与群の雌で一時的な体重の増加が認められたが、この間の増体重に変化は無く、最終体重にも変化は認められなかった。

摂餌量では、300 mg 投与群の雌において対照群と比べて試験期間を通じて、100 mg 投与群の雌においてほとんどの期間で有意な増加が認められたが、体重変化との間に明確な相関関係はなかった。雄の全ての投与群と 30 mg 投与群の雌においても散発的な摂餌量の増加が認められた。

眼検査には投与に起因した異常は認められなかった。

血液学的検査では、30mg 以上投与群の雄で MCH の増加、100mg 以上投与群では MCV の増加が認められた。

血液生化学的検査では、30 mg 以上の投与群の雄で総蛋白質、グロブリンの低下が認められた。アルブミンについては 30 及び 300mg 投与群の雄で低下が認められ、100mg 投与群の雄でも低下が認められたが、統計学的には有意でなかった。総蛋白質量の低下は 100 mg 投与群の雌でも認められた。100mg 以上投与群の雄及び 300mg 投与群の雌で BUN の増加が認められた。ALT の上昇は雄の 300mg 投与群のみで認められ、AST に変化は認められなかった。また、300mg 投与群の雄でカルシウムの減少が認められた。

尿検査では 300mg 投与群の雄で尿量の増加、雌で pH の低下が認められた。

臓器重量では、100 mg 以上の投与群の雄で肝臓の絶対重量の減少、30 mg 以上投与群の雄で肝臓の相対重量の減少が認められた。雌では 300mg 投与群で腎臓の絶対重量の増加が認められた。

剖検および病理組織学的検査では、100mg 投与群の雌 1 匹で乳房腺がんが認められたが、用量相関性はなく、投与に起因するものではないと考えられた。他に異常は認められなかった。

本試験における NOAEL は 10 mg/kg 体重/日であった。

【イヌを用いた 30 日間亜急性毒性試験】⁽¹⁶⁾

13~17カ月齢のビーグル犬(雌雄各2匹/群)を用いた強制経口投与(30、100、300 mg/kg 体重/日;半量ずつ1日2回投与)による30日間の亜急性毒性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。なお、投与はゼラチンカプセルを用いて行い、対照群には乳糖(300 mg/kg 体重)入りのカプセルを同様に投与した。

一般的な臨床症状観察では、300 mg 投与群の雌で嘔吐、流涎が認められたが、同用量投与群の雄やその他の群では認められなかった。また、嘔吐、流涎が認められた雌の1頭は状態が悪化したため、投与17日に試験が打ち切られた。

体重変化では、嘔吐、流涎が認められた 300 mg 投与群の雌で体重減少が認められた。

血液学的検査では、300mg 投与群の雄の1頭で Ht の低下が認められた。また、雌の投与群の多くで対照群と比較して異染性好中球の分葉核球存在比の低下が認められたが、個々の動物について投与開始前の値と 28 日後の値を比較したところ有意差は認められなかった。

血液生化学的検査では、300 mg 投与群の雌雄で AST の上昇が認められ、雄では ALT の上昇も認められた。17 日目に試験を打ち切った 300 mg 投与群の雌 1 例 においては AP の上昇も認められた。

尿検査には特に異常は認められなかった。

臓器重量では、特に投与に起因した異常は認められなかった。

剖検及び病理組織学的検査では、次の所見が報告された。

肝臓の染色切片の観察で300mg投与群の肝細胞に小葉中心性水腫性変性が、電子顕微鏡検査で100mg以上投与群の肝細胞にミエリン小体が認められた。肝細胞の小葉中心性水腫性変性は100mg投与群でも認められたがその程度はわずかであった。300mg投与群の雌雄各1頭で、胆嚢の粘膜細胞の空胞化が認められた。17日目に試験を打ち切った雌1の例では、胃粘膜にうっ血および微細出血が確認された。30mg投与群では著変は認められなかった。

本試験におけるNOAELは30mg/kg体重/日であった。

【イヌを用いた3ヶ月間亜急性毒性試験】⁽¹⁷⁾

4~6ヵ月齢のビーグル犬(雌雄各5頭/群)を用いた強制経口投与(4、16、40、160mg/kg体重/日)による3ヶ月間の亜急性毒性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。なお、投与はゼラチンカプセルを用いて行い、対照群には空のカプセルを同様に投与した。

試験期間中、死亡例は認められなかった。

一般的な臨床症状観察では、40mg以上投与群の雌雄で流涎、嘔吐が認められた。症状の程度は高用量でより顕著であった。16mgの雄でも1週目にのみ嘔吐(2/5)が認められたがそれ以降は同様の症状は認められず、偶発的なものと考えられた。160mg投与群の雄では元気消失が認められた。

体重変化、飼料摂取量、眼検査、血液学的検査、尿検査では、投与に起因した異常は認められなかった。

血液生化学的検査では、160mg投与群の雌雄でAST、ALTの上昇が認められた。

臓器重量では投与に起因した異常は認められなかった。

剖検では40mg投与群(1/5)及び160mg投与群(3/5)の雄で小型の前立腺が認められた。

病理組織学的検査では、発生頻度に有意差はなかったが40mg以上投与群の雌における胃粘膜の慢性炎症およびリンパ組織過形成の病変の度合いは対照群に比べて重度であった。なお、腫瘍の発生は認められなかった。また、肝細胞及び前立腺の障害を示唆する所見は認められなかった。

本試験におけるNOAELは16mg/kg体重/日であった。

(3)慢性毒性試験

慢性毒性試験は実施されていない。

(4)繁殖毒性試験及び催奇形性試験

【ラットを用いた2世代繁殖試験】⁽¹⁸⁾

Sprague-Dawley系ラットを用いた胃挿管による強制経口(100、200、400mg/kg体重/日)投与による2世代繁殖試験が実施されている。被験物質の投与及び交配は次の要領で実施された。

F₀世代では、ピルリマイシン水溶液を雄(30匹)には交配開始前60日から交配終了まで、雌(30匹)には交配14日前から分娩後21日まで投与した。分娩後、各腹雌雄4匹ずつを無作為に選抜し、21日までほ育させた。分娩後21日に各同腹児から雌雄各1匹のF₁動物を交配のため選抜した。F₁動物には各濃度のピルリマイシン水溶液を離乳時から雄には交配終了まで、雌には分娩後21日まで投与した。雌は分娩後21日までF₂児動物をほ育させた。

一般的な臨床症状観察では、鼻分泌物がF₀世代及びF₁世代の400mg投与群の雌雄に、泌尿/生殖器周囲の汚れがF₀世代の200mg投与群の雌と400mg投与群の雌雄及びF₁世代の400mg投与群の雌で認められた。そのほかに流涎がF₀世代の全投与群の雌雄とF₁世代の400mg投与群の雌雄にみられたが、毒性学的影響というより被験物質投与液の味覚刺激によるものであった。また、体重増加抑制がF₀およびF₁世

代の 400 mg 投与群の雄で認められた。剖検および病理組織学的検査では、投与に起因する異常は認められなかった。

発情周期に投与の影響は認められなかった。妊娠期間の軽度な延長が F₀ 世代の 400 mg 投与群で認められたが、F₁ 世代では対照群とほぼ同じであった。着床数は F₀ 母動物の 400 mg 投与群では対照群と比較して減少が認められたが、F₁ 母動物では対照群とほぼ同じであった。

F₁ 及び F₂ 新生児の雌雄比、死産児数、着床後死亡数、出生後 0 日の出生児体重については、投与群と対照群の間に差はみられなかった。

F₁ 及び F₂ 出生児の分娩後 1~21 日の生存率 (生存児数)、体重に異常は認められなかった。F₁ または F₂ の出生時の肉眼的検査で外表に異常は認められず、出生後 0 から 4 日に死亡した出生児について実施した骨格検査においても、投与に起因した異常は認められなかった。

本試験における NOAEL は 100 mg/kg 体重/日であった。

【ラットを用いた催奇形性試験】⁽¹⁹⁾

Sprague-Dawley 系ラット(24 匹/群)を用いた胃挿管による強制経口 (200、400、800mg/kg 体重/日)投与による催奇形性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。被験物質の投与は、妊娠 6 日から 15 日の間行った。

母動物に死亡例は認められなかった。一般的な臨床症状観察では、400 mg 以上の投与群で軟便、泌尿生殖器周囲の汚れ、投与後の流涎が観察された。体重増加抑制が 800mg 投与群で認められた。また、16-20 日の体重増加が 400mg 以上の投与群で抑制された。

着床数のわずかな低値が 400mg 以上の投与群に、生存胎児数のわずかな低値が 800mg 投与群にみられたが、これらは統計学的に有意ではなく、当該試験実施施設での背景データの範囲内であった。また、吸収胚数の増加が 800mg 投与群で見られたが、偶発的に見られた早期全胚吸収の 1 例を計算から除外すると、対照群と差は認められなくなった。この他、黄体数、死亡胎児数、胎児体重および性比に投与の影響は認められなかった。また、胎児の外表、内臓および骨格観察においても奇形や変異の発現率に影響は認められなかった。

以上の結果から、本試験の母動物に対する NOAEL は 200mg/kg 体重/日であり、胎児に対する NOAEL は 800 mg/kg 体重/日以上であった。

【マウスを用いた催奇形性試験】⁽²⁰⁾

ICR 系マウス(44 匹/群)を用いた胃挿管による強制経口 (100、400、1600 mg/kg 体重/日)投与による催奇形性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。被験物質の投与は、妊娠 6 日から 15 日の間行った。

1600 mg 投与群では下痢あるいは軟便が認められ、試験期間中に 1600mg 投与群の 2 例が死亡し、1 例が瀕死となったため安楽死処分された。これらの例では、剖検で腸管内に液体の充満が認められた。体重変化にはいずれの投与群にも投与の影響は認められなかった。

生存胎児体重の減少が 1600 mg 投与群で認められた他には黄体数、着床数、生存胎児数、死亡胎児数、早期または後期吸収胚数、性比に投与の影響は認められなかった。また、胎児の外表、内臓および骨格観察においても奇形や変異の発現率に影響は認められなかった。

⁸ 当初 24 匹/群で開始されたが、受胎率が低く十分な数の胎児が得られなかったため、20 匹が追加された。

以上の結果から、本試験の母動物及び胎児動物に対するNOAELは400mg/kg体重/日であった。

【ウサギを用いた催奇形性試験】⁽²¹⁾

ニュージーランドホワイト種のウサギ(20匹/群)を用いた胃挿管による強制経口(0.1、1.0、5.0 mg/kg体重/日)投与による催奇形性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。被験物質の投与は、妊娠6日から20日の間行った。

5mg投与群で高頻度に流産が発生した(13/19)。1mg以上投与群で糞便量減少、橙色尿、被毛粗剛が、5mg投与群ではさらに赤色排泄物、無糞便、淡褐色便、粘液便、軟便あるいは液状便、乾燥便、限局性脱毛、るい瘦、脱水症、流涙、膈周囲の赤色物が認められた。1mg投与群では体重増加抑制が認められ、5mg投与群では体重の減少が認められた。摂餌量は1mg以上の投与群で減少した。

剖検では投与に関連した影響は認められなかった。

5mg投与群では総吸収胚数及び後期吸収胚数の増加、腹あたり胚吸収率の増加、同腹児数及び生存胎児数の減少が認められた。雌雄を合わせた平均胎児重量及び雌胎児重量は統計学的に有意ではないが、背景データと比較して低値を示していた。この他、黄体数、着床数、雄胎児生存率に投与による影響は認められなかった。

骨格変異及び化骨遅延の発現率の上昇が5mg投与群でのみ認められた。観察された変化は、胸椎数増加および腰椎数減少を伴う肋骨数過剰の発現率の増加、前肢指節骨骨化数の減少であった。

以上の結果から、本試験における母動物に対するNOAELは0.1mg/kg体重/日、胎児に対するNOAELは1mg/kg体重/日であった。

(5)遺伝毒性試験

変異原性に関する各種の*in vitro*及び*in vivo*試験の結果を次表にまとめた。

【変異原性に関する各種試験の結果一覧】

in vitro 試験

試験	対象	投与量	結果
Ames 試験	<i>S. typhimurium</i> TA1535, TA1537, TA1538, TA98, TA100	250~2000 µg/plate(±S9)	陰性 ⁽²²⁾
	<i>S. typhimurium</i> TA97, TA98, TA100, TA102, TA1535	625~5000 µg/plate(±S9)	陰性 ⁽²³⁾
	<i>S. typhimurium</i> TA1537, <i>E. coli</i> WP2 <i>uvrA</i>	156~5000 µg/plate(±S9) ¹	陰性 ⁽²⁴⁾
前進突然変異試験	CHL(V79/Hprt) ⁽²⁵⁾	0.25, 0.50, 1.00 mg/mL ² (-S9; 2h)	陰性
		0.40, 0.80, 1.60 mg/mL ³ (+S9; 2hr)	陰性
	CHO(K1-BH4/Hprt) ⁽²⁶⁾	50, 100, 250, 500, 750, 1000, 1250, 1500 µg/mL ⁴ (-S9; 5+19hr)	陰性
		50, 100, 250, 500, 1000, 1500, 2000, 2500 µg/mL ⁵ (+S9; 5+19hr)	陰性

	CHO(AS52/Xprt) ⁽²⁶⁾	50, 100, 250, 500, 750, 1000, 1250, 1500 µg/mL ⁶ (-S9 ; 5+19hr)	陰性
		50, 100, 250, 500, 1000, 1500, 2000, 2500 µg/mL ⁷ (+S9 ; 5+19hr)	陰性

- 1 5000µg/plate で菌の生育阻害が認められた。
- 2 細胞毒性試験において2.0g/mL で 24h 以内に90%の細胞死が確認されている。
- 3 1.5mg/mL で 50%の細胞の消失が確認されている。
- 4 1250µg/mL 以上では著しい細胞毒性が認められた。
- 5 2000µg/mL 以上では著しい細胞毒性が認められた。
- 6 1000µg/mL 以上では著しい細胞毒性が認められた。
- 7 1500µg/mL 以上では著しい細胞毒性が認められた。

上記のように、*in vitro* の試験においては Ames 試験、ほ乳類培養細胞を用いた前進突然変異試験のいずれも代謝活性化の有無にかかわらず陰性を示した。

in vivo 試験

試験系	試験対象	投与量	結果
小核試験	マウス骨髄	175, 250, 375mg/kg 体重, 単回腹腔内 ¹	陰性 ⁽²⁷⁾
	ラット骨髄	50, 100, 200mg/kg 体重/日, 腹腔内 2 日間 ²	陰性 ⁽²⁸⁾

¹ 陽性対照としてトリメチレンメラミンを使用。

² 陽性対照としてシクロフォスファミドを使用。

上記の通り、げっ歯類を用いた *in vivo* の小核試験でも陰性であった。

以上のように、*in vitro*, *in vivo* の複数の試験でいずれも陰性であることから、ピルリマイシンは遺伝毒性を有さないものと考えられる。

(6) 微生物学的影響に関する特殊試験

①ヒトの腸内細菌に対する最小発育阻止濃度 (MIC)⁽²⁹⁾

ヒトの腸内細菌叢の構成する細菌種のうち、*Bacteroides* spp. (7 種 15 株)、*Bifidobacterium* spp. (5 種 13 株)、*Clostridium* spp. (7 種 8 株)、*Coprococcus comes* (1 株)、*Enterococcus* spp. (2 種 10 株)、*Escherichia coli* (13 株)、*Eubacterium* spp. (6 種 10 株)、*Fusobacterium prausnitzii* (6 株)、*Lactobacillus* spp. (6 種 11 株)、*Peptostreptococcus / Peptococcus* spp. (5 種 16 株)、*Veillonella parvula* (1 株)について測定されたピルリマイシンに対する MIC は次の通りであった。

MIC の要約

		標準接種濃度 (10 ⁵ CFU/spot)		高接種濃度 (10 ⁷ CFU/spot)	
		MIC ₅₀	範囲	MIC ₅₀	範囲
<i>Bacteroides</i> spp.	15	0.25	0.03-4	0.25	0.12-4
<i>Bifidobacterium</i> spp.	13	0.03	≤0.016-0.25	0.12	≤0.016-0.25
<i>Clostridium</i> spp.	8	1	0.12-8	2	0.25-8
<i>Enterococcus</i> spp.	10	8	0.5->128	16	2->128
<i>Escherichia coli</i>	13	>128	>128	>128	>128
<i>Eubacterium</i> spp.	10	0.25	≤0.016-0.5	0.5	≤0.016-4
<i>Fusobacterium prausnitzii</i>	6	0.06	0.03-0.25	0.5	≤0.016-4
<i>Lactobacillus</i> spp.	11	0.50	0.06-2	2	0.12-64
<i>Peptococcus / Peptostreptococcus</i> spp.	16	0.06	≤0.016-1	0.12	≤0.016-2
<i>Coprococcus comes</i>	1		1		2
<i>Veillonella parvula</i>	1		0.06		0.06

調査された範囲では *Bifidobacterium* spp. が最も感受性が高い細菌種であり、その 10⁷ CFU/spot における MIC₅₀ 値は 0.12 µg/mL であった。

②ヒトの腸内細菌に対する最小発育阻止濃度 (MIC) ⁽³⁰⁾

ピルリマイシンおよびピルリマイシンの主要な代謝物であるピルリマイシンスルホキシドについて、ヒトの腸内細菌である *Bifidobacterium* spp. (4 種 15 株)、*Eubacterium* spp. (6 種 13 株) および *Bacteroides fragilis* (2 株) について測定された MIC は次の通りであった。

MIC の要約

菌種	株数	ピルリマイシン			ピルリマイシンスルホキシド		
		MIC ₅₀	MIC ₉₀	範囲	MIC ₅₀	MIC ₉₀	範囲
<i>Bifidobacterium</i> spp.	15	≤0.06	0.13	≤0.06-0.25	4.0	8.0	1.0-16.0
<i>Eubacterium</i> spp.	13	≤0.06	2.0	≤0.06-2.0	2.0	>128.0	1.0->128.0
<i>Bacteroides fragilis</i>	2	0.13	0.25	0.13-0.25	4.0	32.0	4.0~32.0

ピルリマイシンスルホキシドの 10⁵ CFU/spot における MIC₅₀ 値は *Bifidobacterium* spp. では 4.0 µg/mL、*Eubacterium* spp. では 2.0 µg/mL であり、ピルリマイシンに比べて抗菌活性は低かった。

③ウシの乳房炎由来野外分離菌に対する最小発育阻止濃度 (MIC) ⁽³¹⁾

2002 年に米国およびカナダの 11 カ所の大学病院において乳房炎の牛から分離された菌について測定されたピルリマイシンに対する MIC は次の通りであった。

菌名	株数	最小発育阻止濃度 (µg/mL)		
		MIC ₅₀	MIC ₉₀	範囲
グラム陽性細菌				
<i>Staphylococcus aureus</i>	190	0.12	0.25	≤0.06~>64.0
<i>Staphylococcus</i> spp.	162	0.12	2.0	0.12~>64.0

菌名	株数	最小発育阻止濃度 (μg/mL)		
		MIC ₅₀	MIC ₉₀	範囲
<i>Streptococcus agalactiae</i>	51	≤0.06	0.12	≤0.06~2.0
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	139	≤0.06	2.0	≤0.06~>64.0
<i>Streptococcus uberis</i>	129	0.12	32.0	≤0.06~>64.0
<i>Streptococcus</i> spp.	66	0.12	32.0	≤0.06~>64.0
<i>Enterococcus</i> spp.	56	2.0	32.0	0.12~>64.0
その他のグラム陽性病原菌	19	0.25	8.0	≤0.06~>64.0
グラム陰性細菌				
<i>Escherichia coli</i>	184	>64.0	>64.0	64.0~>64.0
<i>Klebsiella</i> spp.	55	>64.0	>64.0	>64.0
<i>Pseudomonas</i> spp.	10	>64.0	>64.0	>64.0
その他のグラム陰性病原菌	18	>64.0	>64.0	>64.0

ピルリマイシンはグラム陰性菌に対してはほとんど抗菌活性を示さなかった。

④環境中にみられる真菌および細菌に対する最小発育阻止濃度 (MIC) ⁽³²⁾

ピルリマイシンおよびピルリマイシンの主要な代謝物であるピルリマイシンスルホキッドについて、環境中にみられる真菌 (計5株) および細菌 (計9株) について測定された10⁴ CFU/spot におけるMICは次の通りであった。

	最小発育阻止濃度 (μg/mL)	
	ピルリマイシン	ピルリマイシンスルホキッド
真菌		
<i>Aspergillus carbonarius</i>	>1000	>1000
<i>Chaetomium cochliodes</i>	>1000	>1000
<i>Fusarium roseum</i>	>1000	>1000
<i>Penicillium notatum</i>	>1000	>1000
<i>Trichoderma viride</i>	>1000	>1000
細菌		
<i>Streptomyces albus</i>	>100	>1000
<i>Arthrobacter globiformis</i>	1	64
<i>Azotobacter vinelandii</i>	4	>1024
<i>Bacillus cereus</i>	1	256
<i>Bacillus subtilis</i>	0.25	32
<i>Celluomonas</i> sp.	4	>1024
<i>Cytophaga johnsonae</i>	1	512
<i>Flavobacterium heparinum</i>	0.13	32
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	>1024	>1024