

与 53 週後にと殺して中間検査を行った。臨床症状、体重、摂餌量、眼科検査、血液学的検査、血清生化学的検査、尿検査、剖検及び病理組織学的検査の各項目について検査した。

1.0 %投与群の雌で投与 52 週後において対照群と比べ約 10 %、投与 105 週後において約 20 %の有意な体重増加抑制がみられた。

0.33 %及び 1.0 %投与群の雌で投与 105 週後において慢性腎炎の発生増加がみられた。

その他の検査項目には、投与に起因する影響は認められなかった。

以上より、本試験における NOAEL は、雄では本試験の最高用量である 1.0 % (450 mg(力価)/kg 体重/日)、雌では 0.1 % (55 mg(力価)/kg 体重/日) と考えられた。

また、投与に起因する腫瘍の発生増加はみられず、発がん性は認められなかった。

(2) 94 週間発がん性試験 (マウス) (参照 3)

マウス (ICR 系、雌雄各 50 匹/群) を用いたエフロトマイシンの 94 週間混餌投与 (0、0.1、0.33 及び 1.0 %) 試験を実施した。

臨床症状、体重、飼料摂取量、剖検及び病理組織学的検査の各項目について検査した。

1.0 %投与群の雄で投与開始約 50 週後から試験期間を通じて、死亡率のわずかな増加がみられた。

1.0 %投与群の雌雄で慢性腎炎の発生増加がみられた。

投与に起因する腫瘍の発生増加はみられず、発がん性は認められなかった。

5. 生殖発生毒性試験

(1) 繁殖毒性試験 (ラット) (参照 2)

ラット (CRCD 系、雌 12 匹/群) を用いたエフロトマイシンの強制経口投与 (0、20、200 及び 2,000 mg(力価)/kg 体重/日) による繁殖毒性試験を実施した。被験物質の投与は、交配 14 日前より妊娠・授乳期間を通じて分娩 21 日後まで実施した。

母動物の一般症状、体重、交配率、生殖状況及び妊娠期間並びに胎児の着床後生存率、発育、体重、外表、内臓及び骨格異常について検査した。

2,000 mg(力価)/kg 体重/日投与群で、妊娠 15 日から試験終了日まで流産が発生した。

2,000 mg(力価)/kg 体重/日投与群で、妊娠期間の有意な延長がみられ、これに起因したと考えられる児動物平均体重の有意な増加が認められた。

児動物の外表検査では 2,000 mg(力価)/kg 体重/日投与群 1 例で短躯がみられた。内臓検査では、同一児に多発性奇形 (馬蹄形腎、短縮尿管、精巢位置異常及び右副腎欠損) がみられた。また、死亡した児では、対照群 2 例に腰椎及び仙椎の欠損、対照群 1 例に脊椎骨間過剰化骨部位、2,000 mg(力価)/kg 体重/日投与群 1 例に頸椎の融合及び不整列がみられた。これらの変化は偶発的なものと考えられた。

(2) 2 世代繁殖毒性試験 (ラット) (参照 2)

ラット (CRCD 系、雌雄各 30 匹/群) を用いたエフロトマイシンの混餌投与 (0、0.1、0.33 及び 1.0 %) による 2 世代繁殖毒性試験を実施した。1 世代につき 2 回分娩させた。

F₀ 及び F₁ 親動物については、臨床症状、体重、飼料摂取量、雌の繁殖状況等について検査し、F_{1a}、F_{1b}、F_{2a} 及び F_{2b} 児動物については、臨床症状、体重、摂餌量のほか、生存率、性比、性成熟等を調べた。

2 世代の繁殖を通じ、いずれの投与群においても繁殖、受胎、妊娠期間、新生児生存率、児動物の性比及び成長に何ら影響は認められなかった。また、剖検においても、生殖器、腎臓、膀胱に投与に起因する肉眼的及び病理組織学的変化は認められなかった。

(3) 催奇形性試験 (マウス) (参照 2)

マウス (CF₁S 系) の妊娠 6 から 15 日に、エフロトマイシンを強制経口投与 (0、20、200 及び 2,000 mg(力価)/kg 体重/日) し、母動物の生存率、一般症状、体重及び生殖状況並びに胎児の外表、内臓及び骨格異常について検査した。

2,000 mg(力価)/kg 体重/日投与群で、母動物の体重増加抑制傾向及び平均胎児体重の有意な減少がみられ、左眼の網膜皺 (胎児 2 例) が認められた。対照群を含む各群に外表、骨格又は内臓の異常が散見されたが、発現頻度に用量反応関係は認められず、対照群と投与群の間に有意差もみられなかった。

上記試験でみられた胎児の体重減少及び網膜皺が、被験物質投与により再現されるかを検討するために、マウス (CF₁S 系) の妊娠 6 から 15 日に、エフロトマイシンを強制経口投与 (0、20、200、1,000 及び 2,000 mg(力価)/kg 体重/日) し、母動物の生存率、一般症状、体重及び生殖状況並びに胎児の外表、内臓及び骨格異常について検査した。

母動物については、1,000 mg(力価)/kg 体重/日投与群の 1 例に死亡、対照群の 1 例に流産がみられた。母動物の体重増加抑制作用にも用量反応関係は認められず、その他の毒性症状も認められなかった。胎児についても投与の影響はみられなかった。

全投与群において、投与に起因する発生毒性/催奇形性は認められなかった。上記の試験結果は再現されなかった。

以上より、エフロトマイシンの最高 2,000 mg(力価)/kg 体重/日までの妊娠マウスへの投与において、催奇形性は認められなかった。

(4) 催奇形性試験 (ラット) (参照 2)

ラット (CRCD 系、雌 20 匹/群) の妊娠 6 から 15 日に、エフロトマイシンを強

制経口投与 (0, 20, 200 及び 2,000 mg(力価)/kg 体重/日) し、母動物の生存率、一般症状、体重及び生殖状況並びに胎児の外表、内臓及び骨格異常について検査した。

2,000 mg(力価)/kg 体重/日投与群の1例で妊娠16日に強制制経口投与による事故死が発生した。また、同群の平均胎児体重に有意な減少がみられた。全投与群で投与に起因する催奇形性は認められなかった。

(5) 繁殖試験 (豚) (参照2)

豚 (ヨークシャー交雑種、11週齢未経産雌、16頭/群) を用いたエフロトマイシンの112日間 (子豚期～仕上期) 混餌投与 (0 及び 16 ppm) 試験を実施した。投与2ヶ月後に雄豚と交配させて、分娩21日後に試験を終了した。

雌親豚の臨床症状、体重、妊娠率、分娩率、出生児の生存数、体重、一般症状等について検査を実施した。投与に起因する臨床症状、不妊及び流産はみられず、妊娠率及び分娩率にも有意差は認められなかった。

また、子豚の生存数及び体重にも何ら副作用はみられなかった。

以上のことから、未経産雌豚に対する子豚期から仕上期におけるエフロトマイシンの16 ppmの濃度での混餌投与は、生殖能及び出生児に影響を与えないと考えられた。

6. 遺伝毒性試験 (参照2)

エフロトマイシンの遺伝毒性試験の結果を表2及び3に示した。*in vitro* 及び *in vivo* のいずれの試験についても陰性であった。

したがって、エフロトマイシンは生体にとって問題となる遺伝毒性を示さないものと考えられた。

表2 遺伝毒性試験 *in vitro* 試験

試験	対象	用量	結果
Ames 試験	<i>Salmonella typhimurium</i> TA92, TA98, TA100, TA1535, TA1536, TA1537, TA1538	エフロトマイシン (0.25~100 µg/プレート) ±S9	陰性
不定期 DNA 合成試験	ラット肝培養細胞	エフロトマイシン (25, 50, 100, 150 µg/mL)	陰性
遺伝子突然変異試験	V-79 チャイニーズハムスター 肺細胞	エフロトマイシン (0.003~3.0 mM) ±S9	陰性

表3 遺伝毒性試験 *in vivo* 試験

試験	対象	用量	結果
小核試験	マウス (CF ₁ S系)	エフロトマイシン (0, 60, 180, 540 mg/kg 体重/回, 2回経口投与)	陰性

7. 飼養試験 (豚) (参照2)

子豚 (LW ハイブリッド種、1ヶ月齢、6頭/群) を用いたエフロトマイシンの14週間混餌経口投与 (0, 16, 80 及び 160 ppm) 試験を実施した。

160 ppm 投与群の2例で、軟便又は下痢、脱肛部外傷による出血、16 ppm 投与群の1例で、軽度の体重増加抑制を伴う発咳、発熱等が散見されたが、いずれもエフロトマイシン投与に起因する所見ではないと考えられた。

80 ppm 投与群では、対照群と比べて、体重の減少傾向がみられ、摂餌量の低下傾向によるものと考えられた。

尿検査、血液学的及び血液生化学的検査では、投与に起因する影響はみられなかった。

剖検では、対照群を含むすべての群の1例ずつに腎臓の嚢胞形成に伴う陥凹がみられ、また対照群1例で腎臓の軽度萎縮がみられた。

臓器重量では投与に起因すると考えられる影響は認められなかった。

エフロトマイシンの16, 80 及び 160 ppmの濃度での混餌投与は、子豚に対する安全性に問題はみられなかった。

子豚 (ジャーマン・ランドレース種、8週齢、雄雌各3頭/群) を用いたエフロトマイシンの28日間混餌投与 (0, 60, 80, 160 及び 320 ppm) 試験を実施した。

いずれの豚にも副作用、異常な反応は認められなかった。

16 ppmの20倍の濃度のエフロトマイシンを混餌投与しても安全性に問題はみられなかった。

子豚 (ヨークシャー種、9~10週齢、雌雄各3頭/群) を用いたエフロトマイシンの21日間混餌投与 (0, 16 及び 400 ppm) 試験を実施した。

400 ppm 投与群では、17日間にわたり、半固形便、下痢、血便様の下痢及び肛門周囲紅斑がみられた。16 ppm 投与群では、臨床上的影響はみられなかった。

体温、摂餌量、体重増加及び剖検では、投与に起因する変化は認められなかった。

子豚に対して、21日間、予定最高用量の16 ppmの25倍量 (400 ppm) のエフロトマイシンを混餌投与しても安全性に問題はみられなかった。

子豚 (ヨークシャー種、11週齢、雌雄各3頭/群) を用いた、エフロトマイシ

ンの90日間混餌投与(0、16、48及び80 ppm)試験を実施した。

48 ppm 投与群の1例及び80 ppm 投与群の3例に9日間軟便及び肛門周囲紅斑がみられた。

AST(雄)及び総ビリルビン(雌)において投与及び日数の間に有意な相関がみられ、RBC、Ht、単球、好酸球、好塩基球、ALP 及び総タンパクにおいて投与との有意な相関がみられたが、これらは、いずれも投与に起因するものではないと考えられた。

子豚に対して80 ppmの濃度でエフロトマイシンを90日間混餌投与しても安全性に問題はみられなかった。

8. その他の知見

(1) 急性眼刺激性試験(ウサギ)(参照2)

ウサギ(ニュージーランドホワイト種)を用いて、眼結膜嚢にエフロトマイシン・アルギン酸マグネシウム(20%製剤)を100 mg入れ、60秒間暴露した後、無洗浄とする場合及び20秒間暴露した後、温水道水で洗浄する場合の眼反応を検査した。

無洗浄の場合では、15分後に軽度の強膜充血及び液状分泌物がみられたが、2時間後に軽快又は消失し、24時間後には正常となった。洗浄した場合では、15分後に軽度の強膜充血を示し、2時間後には1例を除き正常となり、24時間後には全眼正常となった。

以上より、20%製剤の眼刺激性はわずかであると結論された。

(2) 急性皮膚刺激性試験(ウサギ)(参照2)

ウサギ(ニュージーランドホワイト種)を用いて、エフロトマイシン・アルギン酸マグネシウム(20%製剤)を500 mg 皮膚擦過部位及び健常被験部位に暴露し、皮膚刺激性を調べた。

その結果、皮膚刺激症状及び全身の毒性症状は全く認められなかった。

9. 薬理学的試験(参照2)

マウスの一般症状の観察では、エフロトマイシン500及び1,000 mg/kg 体重の腹腔内投与で活動低下、元気消失等の症状が観察された。100及び200 mg/kg 体重の腹腔内投与ではほとんど投与の影響は認められなかった。

エフロトマイシン20 mg/kg 体重を静脈内投与したウサギは、投与直後に死亡した。ウサギの体温及び瞳孔では、エフロトマイシン10 mg/kg 体重の静脈内投与では大きな変動はみられなかったが、250 mg/kg 体重の腹腔内投与では体温の低下が認められた。ウサギの呼吸数及び心拍数は、10 mg/kg 体重の静脈内投与及び250 mg/kg 体重の腹腔内投与で大きな変動はみられなかった。

10. 微生物学的影響に関する試験

(1) 臨床分離菌に対する最小発育阻止濃度(MIC)(参照4)

平成18年度食品安全確保総合調査;動物用抗菌性物質の微生物学的影響調査(平成18年9月~平成19年3月実施)において、ヒト臨床分離株等に対するエフロトマイシンの約 5×10^6 CFU/spotにおけるMICが調べられている(表4)。

表4 エフロトマイシンのMIC₅₀

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

調査された菌種のうち、最も低いMIC₅₀が報告されているのは*Eubacterium sp.*及び*Peptococcus sp./Peptostreptococcus sp.*の≤0.06 μg/mLであり、MICcalc²は0.000482 mg/mLであった。

III. 食品健康影響評価

1. 毒性学的ADIについて

エフロトマイシンは、遺伝毒性試験においていずれも陰性の結果が得られており、生体にとって問題となる遺伝毒性を示さないと考えられること、また、発がん性試験において発がん性は認められていないことから、ADIを設定することが可能であると判断された。

毒性試験において、最も低い用量で投与の影響が認められたと考えられる指標は、

² 試験薬に活性のある最も関連のある属の平均MIC₅₀の90%信頼限界の下限値

イヌを用いた 14 週間亜急性毒性試験において 20 mg(力価)/kg 体重/日投与群の雄にみられた ALP の増加で、NOAEL は、10 mg(力価)/kg 体重/日であった。

イヌの 14 週間亜急性毒性試験では、高用量投与群において腎臓への影響が認められており、ラットを用いた 14 週間亜急性毒性試験及び 105 週間慢性毒性/発がん性試験においても腎臓への影響がみられているが、このラットの 105 週間慢性毒性/発がん性試験では、NOAEL 55 mg(力価)/kg 体重/日が得られている。したがって、イヌの 14 週間亜急性毒性試験の NOAEL 10 mg(力価)/kg 体重/日は、長期投与による腎臓への影響についても十分担保しているものと考えられるため、ADI の設定に当たっては、追加の安全係数を適用する必要はないと判断された。

以上のことから、毒性学的 ADI は、イヌの 14 週間亜急性毒性試験の NOAEL 10 mg(力価)/kg 体重/日に、安全係数 100 (種差 10、個体差 10) を適用し、0.1 mg/kg 体重/日と設定された。

2. 微生物学的 ADI について

VICH ガイドラインに基づく新たな試算を行うに足る詳細な知見が、平成 18 年度食品安全確保総合調査(動物用抗菌性物質の微生物学的影響調査)で得られており、この結果から国際的コンセンサス³が得られている手法により微生物学的 ADI を算出することができる。

エフロトマイシンの MIC_{calc} に 0.000482 mg/mL、結腸内容物 220 g/日、細菌が暴露される分画に 1.0、ヒト体重に 60 kg を適用し、VICH の算出式に基づいて微生物学的 ADI を算出した場合、下記のとおりとなる。

$$\text{ADI} = \frac{0.000482^{*1} \times 220^{*2}}{1.0^{*3} \times 60} = 0.00177$$
$$= 0.0018 \text{ (mg/kg 体重/日)}$$

*1: 試験薬に活性のある最も関連のある属の平均 MIC₅₀ の 90% 信頼限界の下限值

*2: 結腸内容物の量

*3: 動物に対する投与試験の結果から、エフロトマイシンの大部分が糞中より排泄されることから、腸内細菌叢が暴露される分画としての係数を 1.0 とする

3. ADI の設定について

微生物学的 ADI (0.0018 mg/kg 体重/日) は、毒性学的 ADI (0.1 mg/kg 体重/日) よりも小さく、毒性学的な安全性を担保していると考えられることから、エフロトマイシンの ADI は、0.0018 mg/kg 体重/日と設定することが適当と判断された。

³ 国内の動物用医薬品の承認申請についても、2006年3月より VICH ガイドラインが採用されている。

4. 食品健康影響評価

以上より、エフロトマイ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られる。

エフロトマイシン 0.0018 mg/kg 体重/日

暴露量については、当評価結果を踏まえ暫定基準値の見直しを行う際に確認することとする。

表5 FDAにおける無毒性量等

動物種	試験	投与量 (mg(力価)/kg 体重/日)	無毒性量 (mg(力価)/kg 体重/日)
マウス	14 週間亜急性 毒性試験	雄: 860、1,720、3,400、 9,370 雌: 1,040、2,000、 4,320、10,640 (混餌経口投与)	雄: 1,720 雌: 2,000 (糸球体腎炎、尿細管細胞上皮再生の発 生増加)
	発がん性試験	150、500、1,500 (混餌経口投与)	500 (有意な死亡増加、慢性腎炎の発生増 加)
	催奇形性試験	20、200、2,000 (強制経口投与)	母体毒性: 2,000 (影響なし) 胎児毒性: 200 (胎児重量減少、左目網 膜皺)
	催奇形性試験	20、200、1,000、2,000 (強制経口投与)	— (影響なし)
ラット	14 週間亜急性 毒性試験	雄: 360、710、1,440、 3,790 雌: 400、810、1,645、 4,300 (混餌経口投与)	雄: 710 雌: 810 (糸球体腎炎、尿細管細胞上皮再生の発 生増加)
	慢性毒性試験	雄: 43、146、450 雌: 55、178、570 (混餌経口投与)	雄: 43 雌: 55 (体重増加抑制)
	発がん性試験	雄: 43、146、450 雌: 55、178、570 (混餌経口投与)	— (腫瘍の発生増加なし)
	催奇形性試験	20、200、2,000 (強制経口投与)	母体毒性: 2,000 (影響なし) 胎児毒性: 200 (体重減少)
イヌ	14 週間亜急性 毒性試験	20、200、2,000 (強制経口投与)	設定できず。 ALP の増加
	14 週間亜急性 毒性試験 (追加試験)	2、5、10、20 (1、2.5、 5、10mg(力価)/kg 体重 × 2 回/日/強制経口投 与)	20 (10 mg(力価)/kg 体重×2 回 / 日) 影響は認められなかった。

ADI	0.01 mg/kg 体重/日 SF : 1,000
ADI 設定根拠資料	NOAEL : 10 イヌ 14 週間亜急性毒性試験(追加試験 含む)

〈別紙1 検査値等略称〉

略称	名称
ADI	一日摂取許容量
ALP	アルカリホスファターゼ
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))
FDA	米国食品医薬品庁
Hb	ヘモグロビン (血色素量)
HPLC	高速液体クロマトグラフィー
Ht	ヘマトクリット値
NOAEL	無毒性量
RBC	赤血球数
VICH	動物用医薬品の承認審査資料の調和に関する国際協力会議

〈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日付、平成17年厚生労働省告示第499号）
2. 旭化成ファーマ株式会社，エフロトマイシン（MK-621）についての試験成績等の抄録（未公表）
3. FDA、Freedom of Information Summary NADA140-818、1992
4. 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