

動物用医薬品評価書

ピルビン酸メチル及びピルビン酸メチルを有効成分とするフグ目魚類の外部寄生虫駆除剤（マリンディップ）

2013年9月

食品安全委員会

目次

| | 頁 |
|-------------------------------|----|
| ○審議の経緯 | 2 |
| ○食品安全委員会委員名簿 | 2 |
| ○食品安全委員会動物用医薬品専門調査会専門委員名簿 | 2 |
| ○要約 | 3 |
| | |
| I. 評価対象動物用医薬品の概要 | 4 |
| 1. 主剤 | 4 |
| 2. 効能・効果 | 4 |
| 3. 用法・用量 | 4 |
| 4. 添加剤等 | 4 |
| 5. 開発の経緯及び使用状況 | 4 |
| | |
| II. 安全性に係る知見の概要 | 5 |
| 1. 主剤の薬物動態及び残留について | 5 |
| (1) 分布・代謝試験（とらふぐ） | 5 |
| (2) 代謝試験（とらふぐ） | 6 |
| (3) 代謝試験（ <i>in vitro</i> 試験） | 6 |
| (4) 残留試験（とらふぐ）① | 7 |
| (5) 残留試験（とらふぐ）② | 8 |
| (6) 乳酸メチルの由来の検討について | 8 |
| 2. ヒトに対する安全性 | 12 |
| (1) 主剤 | 12 |
| (2) 添加剤等 | 13 |
| 3. フグ目魚類に対する安全性 | 13 |
| (1) とらふぐにおける安全性試験 | 13 |
| (2) とらふぐにおける臨床試験 | 13 |
| | |
| III. 食品健康影響評価 | 14 |
| 1. 薬物動態試験及び残留試験について | 14 |
| (1) ピルビン酸メチルについて | 14 |
| (2) 乳酸メチルについて | 14 |
| 2. 食品健康影響評価について | 15 |
| | |
| ・別紙：検査値等略称 | 16 |
| ・参照 | 16 |

〈審議の経緯〉

- 2009年 11月 24日 農林水産大臣から製造販売の承認に係る食品健康影響評価について要請(21消安第9092号)、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1120第4号)、関係資料の接受
- 2009年 11月 26日 第311回食品安全委員会(要請事項説明)
- 2010年 3月 11日 追加資料要求
- 2013年 5月 21日 追加資料の接受
- 2013年 6月 21日 第154回動物用医薬品専門調査会
- 2013年 8月 5日 第484回食品安全委員会(報告)
- 2013年 8月 6日から9月4日まで 国民からの意見・情報の募集
- 2013年 9月 5日 動物用医薬品専門調査会座長から食品安全委員会委員長へ報告
- 2013年 9月 9日 第488回食品安全委員会
(同日付で農林水産大臣及び厚生労働大臣に通知)

〈食品安全委員会委員名簿〉

| (2011年1月6日まで) | (2012年6月30日まで) | (2012年7月1日から) |
|---------------|----------------|---------------|
| 小泉 直子 (委員長) | 小泉 直子 (委員長) | 熊谷 進 (委員長) |
| 見上 彪 (委員長代理*) | 熊谷 進 (委員長代理*) | 佐藤 洋 (委員長代理) |
| 長尾 拓 | 長尾 拓 | 山添 康 (委員長代理) |
| 野村 一正 | 野村 一正 | 三森 国敏 (委員長代理) |
| 畑江 敬子 | 畑江 敬子 | 石井 克枝 |
| 廣瀬 雅雄 | 廣瀬 雅雄 | 上安平 冽子 |
| 村田 容常 | 村田 容常 | 村田 容常 |

*: 2009年7月9日から

*: 2011年1月13日から

〈食品安全委員会動物用医薬品専門調査会専門委員名簿〉

| (2012年7月1日から) | | |
|----------------|-------|---------|
| 山手 丈至 (座長*) | 天間 恭介 | 松尾 三郎 |
| 小川 久美子 (座長代理*) | 頭金 正博 | 山口 成夫 |
| 石川 さと子 | 能美 健彦 | 山崎 浩史 |
| 石川 整 | 福所 秋雄 | 吉田 敏則** |
| 寺本 昭二 | 舞田 正志 | 渡邊 敏明 |

*: 2012年8月22日から

** : 2012年10月1日から

要 約

ピルビン酸メチル (CAS No. 600-22-6) 及びピルビン酸メチルを有効成分とするフグ目魚類の外部寄生虫駆除剤 (マリンディップ) について、動物用医薬品製造販売承認申請書等を用いて食品健康影響評価を実施した。

本製剤の主剤であるピルビン酸メチルは、日本において、食品添加物のうち指定添加物に区分され、香料の用途として使用が認められている。薬物動態試験及び残留試験の結果から、主剤であるピルビン酸メチルは薬浴中の海水中で経時的にピルビン酸に分解されており、各組織中のピルビン酸メチル濃度は薬浴直後でも検出限界未満であることから、とらふぐの体内に吸収されたピルビン酸メチルの量は少なく、体内で速やかに代謝・分解されていると考えられた。これらのことから、食品安全委員会は、ピルビン酸メチルの ADI を設定する必要はないと判断した。

ピルビン酸メチルの代謝物である乳酸メチルは、日本において食品添加物としてピルビン酸メチルと同じ用途としての使用が認められている。また、乳酸メチルは、生イワシ等の食品中にも含まれる物質である。薬物動態試験及び残留試験において検出された乳酸メチルは、飼料由来又はとらふぐ体内で生成される内因性のものである可能性が示唆された。用法及び用量の 2 倍量 (600 ppm で 15 分間) のピルビン酸メチルの薬浴終了 1 日後以降に検出された乳酸メチル濃度は天然とらふぐと同程度であった。これらのことから、食品安全委員会は、乳酸メチルについても ADI を設定する必要はないと判断した。

本製剤に添加剤等は使用されていない。

以上のことから、本製剤が適切に使用される限りにおいては、食品を通じてヒトの健康に影響を与える可能性は無視できると考えられる。

I. 評価対象動物用医薬品の概要

1. 主剤

主剤は、ピルビン酸メチルである。本製剤 1 mL 中にピルビン酸メチルが 1 mL 含まれている。(参照 1)

主剤の一般名、化学名、分子式、分子量及び構造式は、表 1 のとおりである。

表 1 主剤の概要

| | |
|-----|--|
| 一般名 | 和名：ピルビン酸メチル 英名：Methyl pyruvate |
| 化学名 | IUPAC 和名：2-オキソプロパン酸メチル 英名：2-oxo-propanoic acid methyl ester CAS (No.600-22-6) 英名：Methyl pyruvate |
| 分子式 | C ₄ H ₆ O ₃ |
| 分子量 | 102.09 |
| 構造式 | $\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_3\text{C}-\text{C}-\text{C}-\text{O}-\text{CH}_3 \\ \parallel \\ \text{O} \end{array}$ |

2. 効能・効果

効能・効果は、フグ目魚類の外部寄生虫（シュードカリグス・フグ）の駆除である。(参照 1)

3. 用法・用量

海水 1 m³ に対し、本剤 300 mL の割合で添加、混合した薬液に魚体を入れ、15 分間薬浴する。薬浴する魚は、薬液 1 m³ 当たり魚体総重量 40 kg 以下とする。(参照 1)

4. 添加剤等

本製剤に添加剤等は使用されていない。(参照 1)

5. 開発の経緯及び使用状況

カリグス症は、甲殻類のシュードカリグス・フグがフグ目魚類の体表面に寄生する外部寄生虫症である。少数の寄生であれば特に問題はないが、多数の寄生では、魚は摂餌不良に陥り、体表がすれる場合があるため、処置が必要になる。本症が直接死亡原因になることは少なく、本虫の寄生によってできた体表のすれた部分から細菌が二次的に侵入し、他の疾病を併発して魚を死亡させる例が多い。また、本虫の寄生は周年でみられ、特に水温が高い時期に寄生数が増える。

¹ 魚類の体表に擦過傷が生じることをいう。

ピルビン酸メチルは、ピルビン酸エステル類の一つである。2001年にピルビン酸メチルが本虫に対して駆虫効果があることが発見された。また、ピルビン酸メチルは他の本症治療薬とは異なり、高水温での使用が可能であることから、2006年7月に本製剤の製造販売の承認が申請された。本製剤のシュードカリグス・フグに対する作用機序は不明である。

ピルビン酸メチルを有効成分とする動物用医薬品及びヒト用医薬品は、国内外を問わず使用されていない。日本においては、ピルビン酸メチルは指定添加物に区分され、香料として用いる場合に限り使用が認められている。また、欧州連合 (EU) 諸国においては食品添加物 (flavouring agent) としての使用が認められている。(参照 2、3)

II. 安全性に係る知見の概要

1. 主剤の薬物動態及び残留について

(1) 分布・代謝試験 (とらふぐ)

とらふぐ (25尾) をピルビン酸メチルに30分間薬浴 (薬液濃度 400 ppm) し、清浄海水に収容して、薬浴終了直後、30分、1、2及び4時間後の血液 (血清)、皮膚、筋肉、腎臓、肝臓中のピルビン酸メチル及び乳酸メチル濃度をガスクロマトグラフィー質量分析法 (GC/MS) により測定した。血液 (血清) 及び腎臓については、5尾をプールして試料とした (ピルビン酸メチル: 定量限界 1 µg/g、検出限界 0.05 µg/g、乳酸メチル: 定量限界不明、検出限界 0.1 µg/g)。

肝臓を除く各組織中のピルビン酸メチル濃度は、薬浴終了直後を含めていずれの時点でも検出限界未満であった。肝臓中のピルビン酸メチル濃度は、ピルビン酸メチルが抽出操作中に分解することが判明したため、分析できなかった。

ピルビン酸メチルの代謝物として検出された物質は、乳酸メチルのみであったことから、乳酸メチルがピルビン酸メチルの主要な代謝物であると考えられた。乳酸メチルは、薬浴終了4時間後でも血液 (血清)、皮膚、筋肉内及び腎臓から検出され、半減期は、血清19分、皮膚22分、筋肉48分及び腎臓28分であった。肝臓については、ピルビン酸メチルと同様に、乳酸メチルが抽出操作中に分解することが判明したため、分析できなかった。乳酸メチルの構造式を図1に示した。

本試験の予備試験において、無投与対照群 (1尾) の筋肉中においても乳酸メチルのピークが検出されたことが報告されている。(参照 2~4)

表 2 とらふぐにおけるピルビン酸メチルの薬浴 (400 ppm、30分間) 終了後の各組織中の乳酸メチル濃度 (µg/g)

| 組織 | 乳酸メチル濃度 (µg/g) | | | | |
|-----|----------------|-----------|-------|-------|-------|
| | 直後 | 0.5 時間後 | 1 時間後 | 2 時間後 | 4 時間後 |
| 血清* | 8.36 | 1.75 | 1.39 | 0.68 | 0.38 |
| 腎臓* | 0.82 | 0.38 | 0.22 | 0.16 | <0.1 |
| 筋肉 | 14.22±7.16 | 9.52±5.66 | 5.32 | 2.04 | 0.24 |
| 皮膚 | 6.23±1.27 | 2.05±0.33 | 1.85 | 0.76 | 0.18 |

*: 5尾をプールして試料に用いた。

n=5

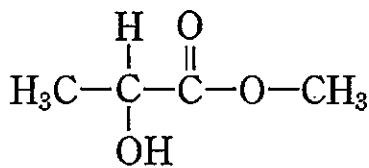


図 1 乳酸メチルの構造式

(2) 代謝試験 (とらふぐ)

分布・代謝試験 [II.1.(1)] では、乳酸メチルの定量限界が求められておらず、乳酸メチルの最終的な消長が確認できなかったことから、以下の試験が行われた。

とらふぐ (20尾) をピルビン酸メチルに 15 分間薬浴 (薬液濃度 300 ppm) した後、清浄海水に收容して、薬浴終了直後、1 及び 3 日後の血液 (血清)、皮膚、筋肉及び腎臓中の乳酸メチル濃度を GC/MS により測定した。血液 (血清) 及び腎臓は、5 尾をプールして試料に用いた (定量限界 0.1 µg/g、検出限界 0.05 µg/g)。

乳酸メチルは、薬浴終了直後に血液 (血清)、皮膚、筋肉及び腎臓からそれぞれ検出されたが、薬浴終了 1 日後には検出限界未満となった。(参照 2、5)

表 3 とらふぐにおけるピルビン酸メチルの薬浴 (300 ppm、15 分間) 終了後の各組織中の乳酸メチル濃度 (µg/g)

| 組織 | 乳酸メチル濃度 (µg/g) | | |
|-----|----------------|-------|-------|
| | 直後 | 1 日後 | 4 日後 |
| 血清* | 0.1 | <0.05 | <0.05 |
| 腎臓* | 0.1 | <0.05 | <0.05 |
| 筋肉 | 3.72±1.57 | <0.05 | <0.05 |
| 皮膚 | 0.32±0.08 | <0.05 | <0.05 |

*: 5 尾をプールして試料に用いた。

n=5

(3) 代謝試験 (in vitro 試験)

養殖とらふぐ (活魚) から筋肉及び肝臓を採取し、同量の水を加えてホモジナイズした。ホモジネートにピルビン酸メチル (純度 98.4%、乳酸メチル: 0.61%含有) を薬浴濃度相当 (約 300 ppm) となるよう添加し、さらに 1 分間ホモジナイズした。この試料について、添加直後、30 分後及び 2 時間後の試料中の乳酸メチル濃度が GC/MS により測定された。一方、ホモジナイズしない筋肉及び肝臓に直接ピルビン酸メチルを添加し、これらについても乳酸メチルの濃度が測定された (定量限界 0.05 µg/g、検出限界 0.015 µg/g)。本試験に用いたピルビン酸メチルには乳酸メチルが 0.61%含有されており、各試験に用いたピルビン酸メチルには計算上、1.6~2.0 µg/g の乳酸メチルが含まれていることになる。

結果を表 4 に示した。ホモジナイズ処理をした肝臓の乳酸メチル濃度は、添加直後に 7.52 µg/g を示し、添加 30 分後では 3.79 µg/g と低下した。また、ホモジナイズ処理をした筋肉並びにホモジナイズ処理を行っていない筋肉及び肝臓では、添加直後においては、ピルビン酸メチルに混入している乳酸メチルに由来する程度の乳酸メチル濃度が検出されたのみであったが、時間の経過とともに乳酸メチルが増加し、特にホモジナイズ

処理をしていない肝臓においては、添加 30 分後には 6.73 $\mu\text{g/g}$ となった。

以上のことから、ピルビン酸メチルは肝臓において乳酸メチルに代謝されるものと考えられた。(参照 6)

表 4 *in vitro* 試験における乳酸メチル濃度 ($\mu\text{g/g}$)

| ホモジナイズ 処理 | 組織・臓器 | 乳酸メチル濃度 ($\mu\text{g/g}$) | | | |
|--------------|-------|-----------------------------|------|----------|----------|
| | | 添加前 | 添加直後 | 添加 30 分後 | 添加 2 時間後 |
| あり | 肝臓 | <0.05 | 7.52 | 3.79 | — |
| | 筋肉 | <0.05 | 1.78 | 2.67 | 3.33 |
| なし | 肝臓 | — | 1.23 | 6.73 | — |
| | 筋肉 | — | 1.69 | 4.04 | — |

—: 実施せず。

ウサギの筋肉を由来とする乳酸脱水素酵素 (LDH) を用いて、ピルビン酸メチルの乳酸メチルへの変換を調べた試験では、ピルビン酸メチルは LDH により触媒される反応の基質となることが報告されている。また、ピルビン酸メチルはピルビン酸と同様の基質親和性を示したが、ピルビン酸メチルの反応の最大速度はピルビン酸よりも小さかったことが報告されている。(参照 6)

とらふぐは LDH をコードする遺伝子を有していることが報告されている。(参照 7)

これらのことから、とらふぐを用いた分布・代謝試験 [II. 1. (1) 及び (2)] でみられた乳酸メチルはピルビン酸メチルの代謝物であると考えられた。

(4) 残留試験 (とらふぐ) ①

とらふぐ (20 尾) をピルビン酸メチルに 15 分間薬浴 (薬液濃度 600 ppm : 2 倍量) した後、清浄海水に収容して、薬浴終了 1、2、3 及び 5 日後の筋肉及び皮膚中のピルビン酸メチル及び乳酸メチル濃度を GC/MS により測定した (ピルビン酸メチル: 定量限界 0.05 $\mu\text{g/g}$ 、検出限界 0.01 $\mu\text{g/g}$ 、乳酸メチル: 定量限界 0.15 $\mu\text{g/g}$ 、検出限界 0.03 $\mu\text{g/g}$)。試験期間中、試料に供するまで 1 日 1 回ひらめ用配合飼料が給餌された。ピルビン酸メチルの薬浴を行わない対照群についても、同様に筋肉及び皮膚中のピルビン酸メチル及び乳酸メチル濃度を測定した。

筋肉及び皮膚中のピルビン酸メチル濃度は、薬浴終了直後において、定量限界未満であった。一方、薬浴終了 2 日後の筋肉試料 (5/5 例)、5 日後の筋肉試料 (2/5 例) 及び皮膚試料 (1/5 例) において定量限界を超える乳酸メチル (0.15~0.21 $\mu\text{g/g}$) が検出された。これは薬浴終了後の時間経過に関係なくみられた (表 5)。これらの試料について再度、2 回分析した結果、いずれも定量限界未満となった。対照群の筋肉及び皮膚からも、検出限界以上定量限界未満の乳酸メチルが検出された。(参照 2、8)

表 5 とらふぐにおけるピルビン酸メチルの薬浴 (600 ppm、15 分間) 終了後の各組織中の乳酸メチル濃度 (µg/g) ①

| 組織 | 乳酸メチル濃度 (µg/g) | | | |
|----|----------------|------------------------------|-----------------|-------------------------|
| | 1 日後 | 2 日後 | 3 日後 | 5 日後 |
| 筋肉 | <0.15 (5) | 0.15、0.17、0.18、 0.19、0.21 | <0.15 (4)、<0.03 | 0.16、0.19、 <0.15 (3) |
| 皮膚 | <0.15 (5) | <0.15 (5) | <0.15 (5) | 0.18、<0.15 (4) |

() は例数を示した。

n=5.

(5) 残留試験 (とらふぐ) ②

とらふぐ (20 尾) をピルビン酸メチルに 15 分間薬浴 (薬液濃度 600 ppm : 2 倍量) した後、清浄海水に収容して、薬浴終了 1、2、3 及び 5 日後の筋肉及び皮膚中のピルビン酸メチル及び乳酸メチル濃度を GC/MS により測定した (ピルビン酸メチル: 定量限界 0.05 µg/g、検出限界 0.01 µg/g、乳酸メチル: 定量限界 0.15 µg/g、検出限界 0.03 µg/g)。試験期間中、試料に供するまで 1 日 1 回とらふぐ用飼料が給餌された。ピルビン酸メチルの薬浴を行わない対照群についても、同様に筋肉及び皮膚中のピルビン酸メチル及び乳酸メチル濃度を測定した。

筋肉及び皮膚中のピルビン酸メチル濃度は、薬浴終了直後において、検出限界未満であった。一方、筋肉試料において、薬浴終了 1 日後 (1/5 例)、2 日後 (5/5 例)、3 日後 (1/5 例) 及び 5 日後 (2/5 例) において定量限界を超える乳酸メチル (0.15~0.23 µg/g) が検出された。これは薬浴終了後の時間経過に関係なくみられた (表 6)。

乳酸メチルが定量限界を超えた試料について再度、2 回分析した結果、いずれも定量限界未満となった。対照群の筋肉及び皮膚からも、検出限界以上定量限界未満の乳酸メチルが検出された。(参照 2、9)

表 6 とらふぐにおけるピルビン酸メチルの薬浴 (600 ppm、15 分間) 終了後の各組織中の乳酸メチル濃度 (µg/g) ②

| 組織 | 乳酸メチル濃度 (µg/g) | | | |
|----|----------------|-----------------------------|----------------|------------------------|
| | 1 日後 | 2 日後 | 3 日後 | 5 日後 |
| 筋肉 | 0.15、<0.15(4) | 0.15、0.17 (2)、 0.20、0.23 | 0.15、<0.15 (4) | 0.17 (2)、 <0.15 (3) |
| 皮膚 | <0.15 (5) | <0.15 (5) | <0.15 (5) | <0.15 (5) |

() は例数を示した。

n=5

(6) 乳酸メチルの由来の検討について

残留試験 [II.1. (4) 及び (5)] において、ピルビン酸メチルの薬浴をしていない対照群に、ピルビン酸メチルの代謝物である乳酸メチルが検出限界以上定量限界未満の濃度で検出された。また、ピルビン酸メチルの薬浴後の投与群においても、投与後の時間経過に関係なく定量限界を超える乳酸メチル濃度が検出された。そのため、ピルビン酸メチルの代謝により産生される乳酸メチル以外に、とらふぐが乳酸メチルに暴露する可能

性又は乳酸メチルを産生する可能性を確認するため、以下のとおり乳酸メチルの由来を検討した。

① 海水中におけるピルビン酸メチルの分解生成物

a. 人工海水中

ピルビン酸メチルを添加した人工海水 1 L (濃度 10 及び 300 µg/mL) を用いて、経時的にピルビン酸メチル及びピルビン酸の濃度を測定し、ピルビン酸メチルの人工海水中における安定性を調査した。

結果を表 7 に示した。10 µg/mL の濃度では、ピルビン酸メチルは添加 15 分後に 1 µg/mL 未満となり、ピルビン酸はピルビン酸メチルのほぼ全量が分解したときのピルビン酸相当量となる 8.6 µg/mL が検出された。300 µg/mL の濃度では、ピルビン酸メチルは 15 分後に調整直後の約 70% まで低下した。(参照 2、10)

表 7 ピルビン酸メチルを添加した人工海水 (10 及び 300 µg/mL) 中のピルビン酸メチル及びピルビン酸の濃度 (µg/mL)

| 濃度 (µg/mL) | 測定対象 | 経過時間 (分) | | | | | | |
|------------|----------|----------|-------|-------|-------|-------|--------|--------|
| | | 直後 | 15 分後 | 30 分後 | 45 分後 | 60 分後 | 180 分後 | 300 分後 |
| 10 | ピルビン酸メチル | 10 | <1 | <1 | — | — | — | — |
| | ピルビン酸 | — | 8.6 | 8.7 | — | — | — | — |
| 300 | ピルビン酸メチル | 300 | 218 | 199 | 180 | 169 | 120 | 94 |
| | ピルビン酸 | — | 97 | 112 | 121 | 135 | 170 | 188 |

—: 検出されず又は測定せず。

b. 天然海水中

ピルビン酸メチルを添加した天然海水 100 mL (濃度 300 µg/mL) を用いて、経時的にピルビン酸メチル、乳酸メチル及びピルビン酸の濃度を測定し、ピルビン酸メチルの天然海水中における安定性を調査した。

結果を表 8 に示した。ピルビン酸メチル及びピルビン酸の濃度は、添加前ではいずれも定量限界未満であったが、15 分後にはピルビン酸メチルが 280 µg/mL、ピルビン酸が 49 µg/mL、60 分後にはピルビン酸メチルが 220 µg/mL、ピルビン酸が 77 µg/mL となり、ピルビン酸メチルは経時的に減少し、ピルビン酸は経時的に増加した。乳酸メチルは、添加前では定量限界未満であったが、添加直後に 0.31 µg/mL、15 及び 60 分後には 0.32 µg/mL と添加後に変化はみられなかった。ピルビン酸メチル原液中には乳酸メチルが約 0.1% の割合で含まれており、天然海水にピルビン酸メチルを添加後に検出された乳酸メチルは、ピルビン酸メチル原液に由来すると考えられた。

したがって、ピルビン酸メチルは天然海水中では乳酸メチルに分解されることはないと考えられた。(参照 6)

表 8 ピルビン酸メチルを添加した天然海水 (300 µg/mL) 中のピルビン酸メチル、
乳酸メチル及びピルビン酸の濃度 (µg/mL) の経過

| 測定対象 | 経過時間 (分) | | | |
|----------|----------|------|-------|-------|
| | 添加前 | 直後 | 15 分後 | 60 分後 |
| ピルビン酸メチル | <0.03 | 300 | 280 | 220 |
| 乳酸メチル | <0.03 | 0.31 | 0.32 | 0.32 |
| ピルビン酸 | <5 | 17 | 49 | 77 |

② 飼料中の乳酸メチル濃度の測定

a. とらふぐ用飼料中の乳酸メチルの濃度

とらふぐを用いた残留試験 [II. 1. (4) 及び (5)] において、投与群の筋肉及び皮膚から薬浴終了後の時間の経過に関係なく定量限界を超える乳酸メチルが検出され、対照群の筋肉及び皮膚から検出限界以上定量限界未満の乳酸メチルが検出された。一方、代謝試験 [II. 1. (2)] の投与群の薬浴終了 1 日後以降の試料では、乳酸メチルは検出限界未満であった。これらの試験系の違いを検討したところ、薬浴に用いた薬液濃度以外に、代謝試験 [II. 1. (2)] では薬浴後とらふぐへの給餌が行われていなかったが、残留試験 [II. 2. (4) 及び (5)] では試験期間中、試料に供するまでの間、給餌が行われていた。

残留試験において、対照群から検出された定量限界未満の乳酸メチルは、飼料由来であることが示唆されたため、とらふぐ用飼料として使用される市販飼料について、乳酸メチル含量を GC/MS により測定した (定量限界 1 µg/g、検出限界 0.04 µg/g)。

結果を表 9 に示した。残留試験 [II. 1. (5)] で用いられた飼料を含む、いずれの市販飼料からも乳酸メチルが検出された。(参照 2、11)

表 9 とらふぐ用飼料の乳酸メチル含量 (µg/g)

| 飼料名 | 乳酸メチル含量 (µg/g) | 備考 |
|-----------|----------------|-----------------------|
| とらふぐ用配合飼料 | 4.7 | |
| とらふぐ稚魚用飼料 | 3.0 | 残留試験 [II. 1. (5)] で使用 |
| とらふぐ育成用飼料 | 5.8 | |

b. 魚粉中の乳酸メチル濃度

とらふぐ用飼料として使用される魚粉中の乳酸メチルについて、乳酸メチル含量を GC/MS により測定した (定量限界 1 µg/g、検出限界 0.05 µg/g)。

結果を表 10 に示した。いずれの魚粉からも乳酸メチルが検出された。(参照 6)

表 10 魚粉中の乳酸メチル含量 (µg/g)

| 供試魚粉 | 乳酸メチル含量 (µg/g) | 備考 |
|------|----------------|------------------|
| 魚粉① | 5.7 | 原材料：カタクチイワシ 100% |
| 魚粉② | 11 | |
| 魚粉③ | 12 | 原材料：イワシ 100% |

とらふぐ用配合飼料に乳酸メチルが飼料添加物として使用されていないこと、魚粉中

の乳酸メチル含量はとらふぐ用飼料よりも多い傾向を示したこと、飼料中に配合されている原料で最も多いのが魚粉であることから、飼料中の乳酸メチルは、魚粉由来である可能性が大きいと考えられた。

これらのことから、ピルビン酸メチルの薬浴後に検出されたとらふぐ筋肉及び皮膚中の乳酸メチルは、飼料由来である可能性が示唆された。

③ とらふぐに含まれる乳酸メチルの給餌による影響について

とらふぐを生簀に導入後、休餌を6日間、その後給餌を6日間行った。休餌2、4及び6日後並びに給餌再開2、4及び7日後の筋肉中の乳酸メチル濃度をGC/MSにより測定した(定量限界0.05 µg/g、検出限界0.015 µg/g)。

結果を表11に示した。筋肉中の乳酸メチル濃度は休餌を開始してから減少する傾向にあり、給餌再開後は増加する傾向がみられたものの、統計的に有意ではなかった。(参照6)

表11 休餌及び給餌時のとらふぐの筋肉中の乳酸メチル濃度(µg/g)

| 導入後 | 0 | 2 | 4 | 6 | 9 | 11 | 14 |
|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 休餌/給餌 | 休餌0日 | 休餌2日 | 休餌4日 | 休餌6日 | 給餌2日 | 給餌4日 | 給餌7日 |
| 筋肉 | 0.140 | 0.154 | 0.068 | 0.085 | 0.070 | 0.097 | 0.104 |

n=3

本試験から、とらふぐの筋肉中の乳酸メチルは、飼料由来である可能性が考えられたが、一方で、再給餌による乳酸メチルの増加は有意ではなかった。休餌による絶食は魚類にとって負荷が大きく、代謝の低下を招いていることが考えられ、とらふぐの筋肉中の乳酸メチル濃度の低下は体内の代謝の低下に伴う乳酸メチルの生成量の低下である可能性も示唆された。

しかし、薬物動態試験[Ⅱ. 1. (1)]において、筋肉中の乳酸メチルの半減期は48分であることが報告されており、休餌2日の乳酸メチル濃度が休餌0日と比べて減少していないことに鑑みると、本試験から結論を導くことは出来ないと考えられた。

④ 天然とらふぐ中の乳酸メチル

天然とらふぐの筋肉中に乳酸メチルが存在するかを調べるため、天然とらふぐ(6尾)を採取し、その筋肉中の乳酸メチル濃度がGC/MSにより測定された(定量限界0.05 µg/g、検出限界0.015 µg/g)。

筋肉中の乳酸メチル濃度は、1例では定量限界未満であったが検出限界以上のピークはみられており、残り5例では0.10~0.16 µg/gの範囲であった。天然とらふぐの筋肉中には乳酸メチルが存在することが確認された。(参照6)

天然とらふぐの餌は、エビ・カニ類、魚類等(参照12)であり、養殖とらふぐと異なることに鑑みると、筋肉中の乳酸メチルは、とらふぐ体内において生成される内因性のものである可能性が示唆された。

⑤ 食品中の乳酸メチル

乳酸メチルは、イワシ、大豆濃口醤油に含まれていることが報告されている。(参照 6)

また、一般的に流通している食品中にも乳酸メチルが含有されている可能性があるとして、市販されている生マイワシ（筋肉）及びカタクチイワシ丸干しの乳酸メチル含有量を GC/MS により測定（定量限界 0.05 µg/g、検出限界 0.015 µg/g）したところ、生マイワシの筋肉中の乳酸メチル含有量は 0.997 µg/g、カタクチイワシ丸干しでは 0.074 µg/g であった。(参照 6)

2. ヒトに対する安全性

(1) 主剤

① ピルビン酸メチル

主剤であるピルビン酸メチルは、ヒト用医薬品及び動物用医薬品として承認されていない。日本においては、食品添加物のうち指定添加物（エステル類）に区分され、香料の用途として使用が認められているが、一日摂取許容量（ADI）及び最大残留基準値（MRL）の設定はない。(参照 13) EU においては、食品添加物として使用されている。(参照 14) ピルビン酸メチルは、欧州医薬品庁（EMA）、FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議（JECFA）及び米国食品医薬品庁（FDA）において ADI は設定されていない。

本製剤の代謝試験及び残留試験の結果から、主剤であるピルビン酸メチルは薬浴中の海水中で経時的にピルビン酸に分解されており、薬物動態試験及び残留試験における各組織中のピルビン酸メチル濃度は薬浴直後でも検出限界未満であることから、とらふぐの体内にピルビン酸メチルとして吸収された量は少なく、吸収されたものについては体内で速やかに代謝・分解されていると考えられた。

これらのことから、食品安全委員会は、ピルビン酸メチルの ADI を設定する必要はないと判断した。

② 乳酸メチル

代謝物である乳酸メチルも、ヒト用医薬品及び動物用医薬品として承認されていない。日本においては、食品添加物のうち指定添加物（エステル類）に区分され、香料の用途として使用が認められているが、ADI 及び MRL の設定はない。(参照 13) EU においては、食品添加物として使用されている。(参照 14) 乳酸メチルは、EMA、JECFA 及び FDA において ADI は設定されていない。

乳酸メチルの毒性等に関する知見を以下に示した。

a. 遺伝毒性

乳酸メチルの遺伝毒性に関する 1 試験 (*in vitro*) の結果を表 12 に示した。(参照 15)

表 12 乳酸メチルの遺伝毒性試験 (*in vitro*) 結果

| 試験 | 対照 | 用量 | 結果 |
|----------|--|--|----|
| 復帰突然変異試験 | <i>Salmonella typhimurium</i> TA98、TA100、TA102、 TA1535、TA1537 <i>Escherichia coli</i> WP2 <i>uvrA</i> | 1.2、4.9、20、78、313、1,250、 5,000 µg/plate (±S9) | 陰性 |

b. 急性毒性

ラット (SD 系、5~8 週齢、雌雄各 5 匹) を用いた乳酸メチルの経口投与 (5,000 mg/kg 体重) による急性毒性試験が実施された。

投与 1 日後まで全例に円背位及び立毛がみられたが、その後回復した。投与 2 日後に雄 1 例が死亡した。死亡した雄 1 例の剖検では、肺出血、肝臓及び腎臓の暗色化、非腺胃上皮の脱落、小腸及び大腸の出血が観察された。生存ラットにおける剖検では、異常はみられなかった。半数致死量 (LD₅₀) は、5,000 mg/kg 体重以上であった。(参照 2、16)

(2) 添加剤等

本製剤に添加剤等は使用されていない。

3. フグ目魚類に対する安全性

(1) とらふぐにおける安全性試験

とらふぐ (当歳魚、50 尾/群) に本製剤を薬浴 (0、常用量群 (300 ppm、15 分間浸漬)、4 倍量群 (600 ppm、30 分間浸漬) し、本製剤の安全性が検討された。

一般症状について、薬浴中では、常用量群の約 10% 及び 4 倍量群の 90% 以上に遊泳緩慢、体色黒化及び横臥体位が、常用量群の 50% 以上及び 4 倍量群の 90% 以上に逃避的遊泳が観察された。また、常用量群の約 10% 及び 4 倍量群の 70~80% に一過性に腹部膨張²が観察された。4 倍量群でみられた遊泳緩慢、体色黒化及び横臥体位は、薬浴終了 15 分後でもみられたが、その後消失し、それ以外の症状は、薬浴終了 15 分後には消失した。その後の試験期間中に供試魚の死亡例はなく、体色、遊泳状況及び摂餌状況にも異常は認められなかった。

体重、血液学的検査結果及び臓器重量では各群間に差は認められなかった。

外観及び剖検による内臓諸器官の観察では、全個体で異常は認められなかった。

剖検及び血液学的検査にも異常が認められなかったことから、病理組織学的検査は行わなかった。(参照 2、17)

(2) とらふぐにおける臨床試験

国内 2 施設において、シュードカリグス・フグの寄生が明らかとならふぐに、本製剤を表 13 の方法で薬浴し、臨床試験が実施された。薬浴後 2 週間の臨床観察 (死亡魚の発生、一般状態、体重測定及び給餌量) 及び有害事象について検討した。対照薬には、

² フグ目魚類でみられる興奮又は威嚇時の反応

主剤が過酸化水素の薬浴剤を用いたが、施設 A では、海水温が 25.0 °C を超えたため、対照薬を使用しなかった。

臨床観察では、被験薬群において、薬浴中及び薬浴終了後に横転・転覆の症状が観察されたが、症状は薬浴終了 15 分後までに回復し、その後は、試験終了後まで遊泳及び摂餌状態に異常は認められなかった。試験期間中に死亡魚は認められなかった。

いずれの施設においても体重測定及び給餌量に各群で差は認められなかった。

いずれの施設においても被験薬群では、薬浴終了 1 時間後を経過しても遊泳状態の緩慢な個体は観察されたが、薬浴終了 1 日後には他の群と同様の遊泳及び摂餌状態を示しており、試験終了後までにおいて、被験薬群と無投薬群又は対照薬群で死亡魚数、一般状態、体重、摂餌量等に差異がないことから、薬浴中及び薬浴終了後に観察された横転・転覆の症状は一過性の事象であると考えられた。(参照 2、18)

表 13 とらふぐに対する臨床試験の実施方法

| 治験実施施設 | 治験群 | 供試尾数 (尾/群) | 薬浴濃度・時間・回数 |
|--------|------|------------|---------------------|
| 施設 A | 無投薬群 | 500 | — |
| | 被験薬群 | | 300 ppm・15 分間・1 回 |
| 施設 B | 無投薬群 | 400 | — |
| | 対照薬群 | | 1,000 ppm・20 分間・1 回 |
| | 被験薬群 | | 300 ppm・15 分間・1 回 |

III. 食品健康影響評価

1. 薬物動態試験及び残留試験について

(1) ピルビン酸メチルについて

とらふぐを用いてピルビン酸の薬浴を行った薬物動態試験 [II. 1. (1) 及び (2)] 及び残留試験 [II. 1. (4) 及び (5)] では、各組織中のピルビン酸メチル濃度は薬浴直後でも検出又は定量限界未満となった。海水中におけるピルビン酸メチルの分解性を調べた試験 [II. 1. (6) ①] から、ピルビン酸メチルは海水中で経時的にピルビン酸に分解されており、薬物動態試験及び残留試験における各組織中のピルビン酸メチル濃度に鑑みると、とらふぐ体内にピルビン酸メチルとして吸収された量は少なく、吸収されたものについては体内で速やかに代謝・分解されていると考えられた。

(2) 乳酸メチルについて

とらふぐを用いた薬物動態試験では乳酸メチルのみが検出されていること、ウサギのデータではあるがピルビン酸メチルは LDH により触媒される反応の基質となり乳酸メチルに変換されること、とらふぐは LDH をコードする遺伝子を有していること並びにピルビン酸メチルととらふぐの肝臓及び筋肉ホモジネートをインキュベートした *in vitro* 試験 [II. 1. (3)] で乳酸メチルの産生が増加したことから、乳酸メチルがピルビン酸メチルの代謝物であると考えられた。

とらふぐを用いてピルビン酸メチルの薬浴 (2 倍量 (600 ppm) で 15 分間) を行った残留試験では、薬浴をしていない対照群の筋肉及び皮膚から検出限界以上定量限界未満

の乳酸メチルが検出され、投与群からも時間の経過に関係なく、定量限界を超える乳酸メチルが検出された。

そのため、ピルビン酸メチルの代謝により産生される乳酸メチル以外に、とらふぐが乳酸メチルに暴露する可能性又は乳酸メチルを産生する可能性があることが考えられた。海水中におけるピルビン酸メチルの分解性 [Ⅱ.1.(6)①]、飼料中の乳酸メチル含量 [Ⅱ.1.(6)②] 及び天然とらふぐ中の乳酸メチル含量 [Ⅱ.1.(6)④] を調べた結果から、海水中においてピルビン酸メチルは乳酸メチルに分解されることはなく、とらふぐ用飼料及び飼料中最も多く配合されている魚粉並びに天然とらふぐから乳酸メチルが検出された。これらの結果から、とらふぐの筋肉及び皮膚中の乳酸メチルは、飼料由来又はとらふぐ体内において生成される内因性のものである可能性が示唆された。

また、天然とらふぐ中の乳酸メチル含量を調べた試験 [Ⅱ.1.(6)④] の結果から、2倍量のピルビン酸メチルの薬浴終了1日後以降に検出された乳酸メチル濃度は、天然とらふぐと同程度であった。

2. 食品健康影響評価について

本製剤の主剤であるピルビン酸メチルは、日本において、食品添加物のうち指定添加物に区分され、香料の用途として使用が認められている。薬物動態試験及び残留試験の結果から、主剤であるピルビン酸メチルは薬浴中の海水中で経時的にピルビン酸に分解されており、各組織中のピルビン酸メチル濃度は薬浴直後でも検出限界未満であることから、とらふぐの体内にピルビン酸メチルとして吸収された量は少なく、吸収されたものについては体内で速やかに代謝・分解されていると考えられた。これらのことから、食品安全委員会は、ピルビン酸メチルのADIを設定する必要はないと判断した。

ピルビン酸メチルの代謝物である乳酸メチルは、日本において食品添加物としてピルビン酸メチルと同じ用途としての使用が認められている。また、乳酸メチルは、生イワシ等の食品にも含まれる物質である。薬物動態試験及び残留試験において検出された乳酸メチルは、飼料由来又はとらふぐ体内で生成される内因性のものである可能性が示唆された。用法及び用量の2倍量(600 ppmで15分間)のピルビン酸メチルの薬浴終了1日後以降に検出された乳酸メチル濃度は天然とらふぐと同程度であった。これらのことから、食品安全委員会は、乳酸メチルについてもADIを設定する必要はないと判断した。

本製剤に添加剤等は使用されていない。

以上のことから、本製剤が適切に使用される限りにおいては、食品を通じてヒトの健康に影響を与える可能性は無視できると考えられる。

〈別紙：検査値等略称〉

| 略称 | 名称 |
|------------------|----------------------|
| ADI | 一日摂取許容量 |
| EMA | 欧州医薬品庁 |
| FDA | 米国食品医薬品庁 |
| GC/MS | ガスクロマトグラフィー質量分析法 |
| JECFA | FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議 |
| LD ₅₀ | 半数致死量 |
| LDH | 乳酸脱水素酵素 |
| MRL | 最大残留基準値 |

〈参照〉

1. 株式会社インターベット. 動物用医薬品製造販売承認申請書マリンディップ (非公開)
2. 株式会社インターベット. 動物用医薬品製造販売承認申請書マリンディップ 添付資料概要 (非公開)
3. 株式会社インターベット. 動物用医薬品製造販売承認申請書マリンディップ ヒアリング資料 (非公開)
4. 株式会社インターベット. 動物用医薬品製造販売承認申請書マリンディップ 添付資料 20 : DS1000 を投与した養殖トラフグにおけるピルビン酸メチルの吸収及び組織内分布 (非公開)
5. 株式会社インターベット. 動物用医薬品製造販売承認申請書マリンディップ 添付資料 20 (追補 1) : DS1000 を投与した養殖トラフグにおける乳酸メチルの組織内濃度 (非公開)
6. 株式会社インターベット. 動物用医薬品製造販売承認申請書マリンディップ 追加資料 (非公開)
7. Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) ホームページ
8. 株式会社インターベット. 動物用医薬品製造販売承認申請書マリンディップ 添付資料 22 : DS1000 のトラフグにおける残留性試験 (非公開)
9. 株式会社インターベット. 動物用医薬品製造販売承認申請書マリンディップ 添付資料 23 : DS1000 のトラフグにおける残留性試験 (Ⅱ) (非公開)
10. 株式会社インターベット. 動物用医薬品製造販売承認申請書マリンディップ 添付資料 6 (追補 1) : 海水中におけるピルビン酸メチルの安定性について (追) (非公開)
11. 株式会社インターベット. 動物用医薬品製造販売承認申請書マリンディップ 添付資料 23 (追補 2) : トラフグ用飼料の乳酸メチルの定量分析 (非公開)
12. 現代おさかな辞典 漁場から食卓まで, 阿部宗明, 本間昭郎監修, 株式会社エヌ・ティー・エス, 1997年, p.569~572
13. 財団法人日本食品化学研究振興財団. 食品に残留する農薬、動物用医薬品及び飼料添加物の限度一覧表. <http://m5.ws001.squarestart.ne.jp/zaidan/search.html>

14. EFSA: Database of flavouring substances European Commission, DG Health and Consumers.

http://ec.europa.eu/food/food/chemicalsafety/flavouring/database/dsp_search.cfm

15. 株式会社インターベット. 動物用医薬品製造販売承認申請書マリンディップ 添付資料 3 (追補 2): 乳酸メチルの細菌を用いる復帰突然変異試験 (非公開)
16. 株式会社インターベット. 動物用医薬品製造販売承認申請書マリンディップ 添付資料 3 (追補 1): 乳酸メチルのラットにおける急性経口毒性試験 (非公開)
17. 株式会社インターベット. 動物用医薬品製造販売承認申請書マリンディップ 添付資料 16: DS1000 のトラフグにおける安全性試験 (非公開)
18. 株式会社インターベット. 動物用医薬品製造販売承認申請書マリンディップ 添付資料 21: DS1000 の養殖トラフグにおける臨床試験 (非公開)