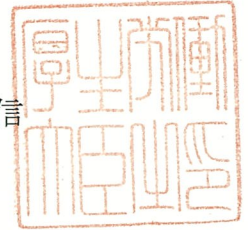


厚生労働省発生食 0803 第 3 号
令和 2 年 8 月 3 日

薬事・食品衛生審議会
会長 橋田 充 殿

厚生労働大臣 加藤 勝信



諮問書

食品衛生法（昭和 22 年法律第 233 号）第 13 条第 1 項の規定に基づき、下記の事項について、貴会の意見を求めます。

記

次に掲げる農薬等の食品中の残留基準設定について

動物用医薬品チルジピロシン
農薬オキサゾスルフィル
農薬ジエトフェンカルブ
農薬フェンヘキサミド
農薬プロヒドロジャスモン
農薬マイクロブタニル

以上

令和2年8月20日

薬事・食品衛生審議会
食品衛生分科会長 村田 勝敬 殿

薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会
農薬・動物用医薬品部会長 穂山 浩

薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会
農薬・動物用医薬品部会報告について

令和2年8月3日付け厚生労働省発生食0803第3号をもって諮問された、食品衛生法（昭和22年法律第233号）第13条第1項の規定に基づくチルジピロシンに係る食品中の動物用医薬品の残留基準の設定について、当部会で審議を行った結果を別添のとおり取りまとめたので、これを報告する。

チルジピロシン

今般の残留基準の検討については、関連企業から「国外で使用される農薬等に係る残留基準の設定及び改正に関する指針について」に基づく残留基準の設定要請がなされたことに伴い、食品安全委員会において食品健康影響評価がなされたことを踏まえ、農薬・動物用医薬品部会において審議を行い、以下の報告を取りまとめるものである。

1. 概要

(1) 品目名：チルジピロシン[Tildipirosin]

(2) 用途：抗生物質

半合成マクロライド系抗生物質である。細菌のリボソーム50Sサブユニットに結合してタンパク質合成を阻害することにより、細菌増殖抑制及び静菌作用を示すと考えられている。

国内では、動物用医薬品として、豚の細菌性肺炎に対する注射剤が承認審査中である。

海外では、米国、EU等において、牛又は豚を対象とした細菌性肺炎の治療薬が動物用医薬品として承認されている。

ヒト用医薬品としては承認されていない。

(3) 化学名及びCAS番号

PMT

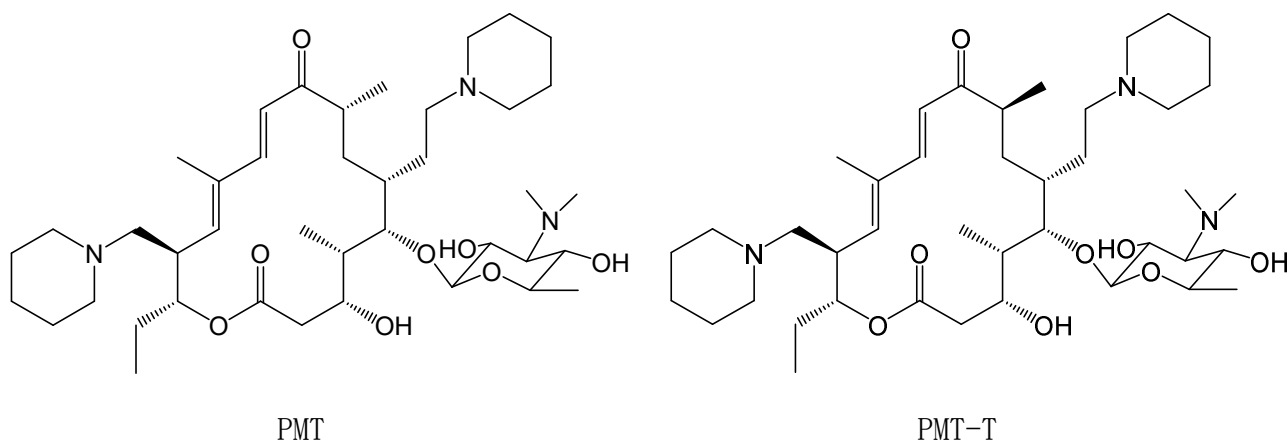
(4*R*, 5*S*, 6*S*, 7*R*, 9*R*, 11*E*, 13*E*, 15*R*, 16*R*)-6- {[(2*R*, 3*R*, 4*S*, 5*S*, 6*R*)-4-(Dimethylamino)-3, 5-dihydroxy-6-methyltetrahydro-2*H*-pyran-2-yl]oxy}-16-ethyl-4-hydroxy-5, 9, 13-trimethyl-7-[2-(piperidin-1-yl)ethyl]-15-(piperidin-1-ylmethyl)-1-oxacyclohexadeca-11, 13-diene-2, 10-dione (IUPAC)

Tylonolide, 20-deoxo-23-deoxy-5-*O*-[3, 6-dideoxy-3-(dimethylamino)- β -D-glucopyranosyl]-20, 23-di-1-piperidinyl- (CAS : No. 328898-40-4)

PMT-T

(4*R*, 5*S*, 6*S*, 7*R*, 9*S*, 11*E*, 13*E*, 15*R*, 16*R*)-6- {[(2*R*, 3*R*, 4*S*, 5*S*, 6*R*)-4-(Dimethylamino)-3, 5-dihydroxy-6-methyltetrahydro-2*H*-pyran-2-yl]oxy}-16-ethyl-4-hydroxy-5, 9, 13-trimethyl-7-[2-(piperidin-1-yl)ethyl]-15-(piperidin-1-ylmethyl)-1-oxacyclohexadeca-11, 13-diene-2, 10-dione (IUPAC)

(4) 構造式及び物性



分子式 $C_{41}H_{71}N_3O_8$
分子量 734.02

チルジピロシンは、PMTを約94%及びPMT-Tを約6%含有する混合物である。

2. 適用方法及び用量

本剤の適用の範囲及び使用法は以下のとおり。

牛及び豚に係る残留基準の設定についてインポートトレランス申請がされている。

(1) 国内での使用方法

動物用医薬品 ^{注)}	対象動物及び使用方法		休薬期間
チルジピロシンを有効成分とする注射剤	豚	1日量として体重1 kg当たり4 mg (力価)以下の量を筋肉内に注射する。	13日

注) 承認審査中。

(2) 海外での使用方法

動物用医薬品	対象動物及び使用方法		使用国	休薬期間
チルジピロシンを有効成分とする注射剤	牛	1日量として体重1 kg当たり4 mg (力価)以下の量を皮下に注射する。	EU	47日
	豚	1日量として体重1 kg当たり4 mg (力価)以下の量を筋肉内に注射する。		9日

3. 対象動物における分布、代謝

(1) 牛における分布、代謝

① 牛（交雑種、体重141.5～227 kg、雌雄各2頭/時点）に¹⁴C標識チルジピロシンを頸部に単回皮下投与（4 mg/kg 体重）し、投与3、7、21、35、49及び63日後に採取した筋肉、脂肪、肝臓及び腎臓における総放射性残留物（TRR, Total Radioactive Residue）濃度を液体シンチレーション計数法（LSC）で、チルジピロシン濃度を液体クロマトグラフ・タンデム型質量分析計（LC-MS/MS）で測定した（表1）。各時点におけるTRRに対するチルジピロシンの割合を算出した（表2）。（IT申請資料，2019）

表1. 牛に¹⁴C標識チルジピロシンを単回皮下投与した後の試料中のTRR濃度（mg eq/kg）^{注)}及びチルジピロシン濃度（mg/kg）

試料	分析対象	投与後日数		
		3	7	21
筋肉	TRR	1.177±0.154(4)	0.654±0.048(4)	0.277±0.034(4)
	チルジピロシン	0.737±0.114(4)	0.324±0.032(4)	0.131±0.015(4)
脂肪	TRR	0.789±0.186(4)	0.577±0.038(4)	0.435±0.139(4)
	チルジピロシン	0.815±0.288(4)	0.572±0.062(4)	0.409±0.087(4)
肝臓	TRR	23.706±2.379(4)	28.852±2.796(4)	18.215±1.393(4)
	チルジピロシン	12.323±1.487(4)	9.321±1.101(4)	3.834±0.455(4)
腎臓	TRR	21.614±1.272(4)	19.753±3.092(4)	7.689±0.711(4)
	チルジピロシン	16.193±1.517(4)	13.969±2.409(4)	4.774±0.304(4)

試料	分析対象	投与後日数		
		35	49	63
筋肉	TRR	0.169±0.013(4)	0.096±0.012(4)	0.076±0.014(4)
	チルジピロシン	<0.050(4)	<0.050(4)	<0.050(4)
脂肪	TRR	0.269±0.192(4)	0.144±0.047(4)	0.124±0.098(4)
	チルジピロシン	0.228±0.154(4)	0.106±0.027(4)	<0.050, 0.063, 0.090, 0.193
肝臓	TRR	10.661±2.133(4)	7.749±2.292(4)	4.552±1.716(4)
	チルジピロシン	2.805±0.729(4)	1.228±0.571(4)	0.971±0.434(4)
腎臓	TRR	3.549±0.692(4)	2.127±0.211(4)	1.443±0.255(4)
	チルジピロシン	1.989±0.439(4)	1.083±0.109(4)	0.586±0.106(4)

数値は分析値又は平均値±標準偏差を示し、括弧内は検体数を示す。

なお、全ての検体において分析値が定量されている場合のみ、平均値±標準偏差を算出した。

定量限界：LC-MS/MS 0.050 mg/kg

注) mg eq/kg：親化合物（チルジピロシン）に換算した濃度（mg/kg）

表2. 牛に¹⁴C標識チルジピロシンを単回皮下投与した後の試料中のTRRに対するチルジピロシンの割合 (%)

試料	投与後日数					
	3	7	21	35	49	63
筋肉	62.6(4)	49.6(4)	47.3(4)	-	-	-
脂肪	101.8(4)	99.1(4)	98.7(4)	86.9(4)	76.0(4)	-
肝臓	52.0(4)	32.3(4)	21.0(4)	26.1(4)	15.4(4)	20.9(4)
腎臓	74.8(4)	70.7(4)	62.2(4)	56.0(4)	51.0(4)	41.1(4)

数値は平均値を示し、括弧内は検体数を示す。

-: 算出せず

(2) 豚における分布、代謝

- ① 豚（ランドレース交雑種、体重15.0～25.0 kg、雌雄各2頭/時点）に¹⁴C標識チルジピロシンを頸部に単回筋肉内投与（5 mg/kg 体重）し、投与3、7、14、21及び28日後に採取した筋肉、皮膚/脂肪、肝臓及び腎臓におけるTRR濃度をLSCで、チルジピロシン濃度をLC-MS/MSで測定した（表3）。各時点におけるTRRに対するチルジピロシンの割合を算出した（表4）。（承認申請資料，2016）

表3. 豚に¹⁴C標識チルジピロシンを単回筋肉内投与した後の試料中のTRR濃度 (mg eq/kg) ^{注)}及びチルジピロシン濃度 (mg/kg)

試料	分析対象	投与後日数		
		3	7	14
筋肉	TRR	0.946±0.143(4)	0.493±0.036(4)	0.177±0.016(4)
	チルジピロシン	0.537±0.091(4)	0.259±0.025(4)	0.091±0.008(4)
皮膚/脂肪	TRR	0.741±0.066(4)	0.452±0.075(4)	0.200±0.004(4)
	チルジピロシン	0.559±0.080(4)	0.337±0.050(4)	0.161±0.030(4)
肝臓	TRR	9.310±1.460(4)	5.908±1.791(4)	5.561±0.943(4)
	チルジピロシン	3.849±0.372(4)	2.889±0.797(4)	1.990±0.292(4)
腎臓	TRR	20.225±2.793(4)	9.385±2.224(4)	4.348±0.571(4)
	チルジピロシン	12.424±1.477(4)	5.420±1.304(4)	2.464±0.322(4)

試料	分析対象	投与後日数	
		21	28
筋肉	TRR	0.107±0.019(4)	0.058±0.011(4)
	チルジピロシン	<0.050(2), 0.069, 0.075	<0.050(4)
皮膚/脂肪	TRR	0.122±0.010(4)	0.069±0.009(4)
	チルジピロシン	0.082±0.007(4)	<0.050(4)
肝臓	TRR	4.420±0.903(4)	2.794±0.748(4)
	チルジピロシン	1.242±0.356(4)	0.577±0.143(4)
腎臓	TRR	3.453±0.563(4)	2.027±0.437(4)
	チルジピロシン	1.706±0.307(4)	0.883±0.209(4)

数値は分析値又は平均値±標準偏差を示し、括弧内は検体数を示す。

なお、全ての検体において分析値が定量されている場合에만、平均値±標準偏差を算出した。

定量限界：LC-MS/MS 0.050 mg/kg

注) mg eq/kg：親化合物（チルジピロシン）に換算した濃度（mg/kg）

表4. 豚に¹⁴C標識チルジピロシンを単回筋肉内投与した後の試料中のTRRに対するチルジピロシンの割合（%）

試料	投与後日数				
	3	7	14	21	28
筋肉	56.7(4)	52.6(4)	51.3(4)	-	-
皮膚/脂肪	75.2(4)	75.0(4)	80.2(4)	67.9(4)	-
肝臓	41.6(4)	49.5(4)	36.1(4)	27.9(4)	20.8(4)
腎臓	61.6(4)	57.7(4)	56.7(4)	49.3(4)	43.6(4)

数値は平均値を示し、括弧内は検体数を示す。

-：算出せず

4. 対象動物における残留試験

(1) 分析の概要

① 分析対象物質

- ・チルジピロシン

② 分析法の概要

【国内】

試料（脂肪を除く）から、アセトニトリルで抽出する。脂肪は、0.1%酢酸及びアセトニトリルで抽出し、*n*-ヘキサンで洗浄する。HLBカラムを用いて精製した後、LC-MS/MSで定量する。

定量限界：0.050 mg/kg

【海外】

試料（脂肪を除く）から、水及びアセトニトリルで抽出する。脂肪は、水、0.1%酢酸、アセトニトリル及び*n*-ヘキサンで抽出し、アセトニトリル層を採る。C₁₈カラムを用いて精製した後、LC-MS/MSで定量する。

定量限界：0.050 mg/kg

(2) 残留試験結果

- ① 牛（ホルスタイン種、体重298～348 kg、雌雄各2頭/時点）にチルジピロシンを有効成分とする注射剤を頸部に単回皮下投与（4 mg（力価）/kg 体重）し、投与9、18、27、36、45、54及び63日後に採取した筋肉、脂肪、肝臓及び腎臓におけるチルジピロシン濃度をLC-MS/MSで測定した（表5）。（IT申請資料，2019）

表5. 牛にチルジピロシンを単回皮下投与した後の試料中のチルジピロシン濃度（mg/kg）

試料	投与後日数			
	9	18	27	36
筋肉	0.324±0.060(4)	0.167±0.040(4)	0.127±0.021(4)	0.092±0.008(4)
脂肪	0.461±0.133(4)	0.291±0.106(4)	0.178±0.062(4)	0.131±0.038(4)
肝臓	5.525±1.284(4)	2.832±0.800(4)	2.370±0.339(4)	1.580±0.330(4)
腎臓	8.601±1.420(4)	4.425±0.889(4)	4.791±2.393(4)	2.269±0.559(4)

試料	投与後日数		
	45	54	63
筋肉	0.068±0.011(4)	<0.050(2), 0.050, 0.052	<0.050(4)
脂肪	<0.050, 0.075, 0.092, 0.119	<0.050, 0.053, 0.056, 0.069	<0.050(4)
肝臓	1.153±0.322(4)	0.693±0.143(4)	0.600±0.101(4)
腎臓	1.522±0.340(4)	0.996±0.258(4)	0.696±0.040(4)

数値は平均値±標準偏差を示し、括弧内は検体数を示す。

なお、全ての検体において分析値が定量されている場合にのみ、平均値±標準偏差を算出した。

定量限界：0.050 mg/kg

上記の残留試験結果から、筋肉、脂肪、肝臓及び腎臓について、統計学的解析^{注)}により投与47日後における最大許容濃度の上限（95%信頼区間、99%ile値）を算出した（表6）。

表6. チルジピロシンの最大許容濃度の上限 (mg/kg)

	筋肉	脂肪	肝臓	腎臓
牛 (投与47日後)	0.11	0.19	2.13	3.13

注) 「医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性の確保等に関する法律関係事務の取扱いについて」(平成12年3月31日付け12動薬A第418号農林水産省動物医薬品検査所長通知)に基づき、残留試験結果から、直線回帰分析を用いて残留最大許容濃度の上限を算出した。

- ② 豚(交雑種、3か月齢、体重42.2~54.0 kg、雌及び去勢雄各2頭/時点)にチルジピロシンを有効成分とする注射剤を頸部に単回筋肉内投与(4 mg (力価)/kg 体重)し、投与4、8、12、16、24及び32日後に採取した筋肉、脂肪、肝臓、腎臓及び小腸におけるチルジピロシン濃度をLC-MS/MSで測定した(表7)。(承認申請資料, 2016)

表7. 豚にチルジピロシンを単回筋肉内投与した後の試料中のチルジピロシン濃度 (mg/kg)

試料	投与後日数		
	4	8	12
筋肉	0.564±0.070 (4)	0.327±0.075 (4)	0.201±0.083 (4)
脂肪	0.662±0.049 (4)	0.386±0.039 (4)	0.221±0.014 (4)
肝臓	3.912±0.638 (4)	3.153±0.871 (4)	2.345±0.308 (4)
腎臓	9.572±1.800 (4)	5.336±0.955 (4)	3.939±1.571 (4)
小腸	1.278±0.280 (4)	0.926±0.101 (4)	0.574±0.037 (4)

試料	投与後日数		
	16	24	32
筋肉	0.092±0.036 (4)	0.066±0.017 (4)	<0.050 (3), 0.107
脂肪	0.114±0.031 (4)	<0.050 (3), 0.054	<0.050 (4)
肝臓	1.360±0.289 (4)	0.611±0.217 (4)	0.304±0.116 (4)
腎臓	2.207±0.312 (4)	1.196±0.453 (4)	0.629±0.087 (4)
小腸	0.379±0.106 (4)	0.176±0.057 (4)	0.137±0.041 (4)

数値は平均値±標準偏差を示し、括弧内は検体数を示す。

なお、全ての検体において分析値が定量されている場合にのみ、平均値±標準偏差を算出した。

定量限界: 0.050 mg/kg

上記の残留試験結果から、筋肉、脂肪、肝臓、腎臓及び小腸について、統計学的解析により投与13日後における最大許容濃度の上限(95%信頼区間、99%ile値)を算出した(表8)。

表8. チルジピロシンの最大許容濃度の上限 (mg/kg)

	筋肉	脂肪	肝臓	腎臓	小腸
豚 (投与13日後)	0.560	0.262	4.175	8.349	1.346

③ 豚 (交雑種 (LW系) 、9週齢、体重41.2~49.7 kg、雌及び去勢雄各2頭/時点) にチルジピロシンを有効成分とする注射剤を頸部に単回筋肉内投与 (4 mg (力価) /kg 体重) し、最終投与4、8、12、16、24及び32日後に採取した筋肉、脂肪、肝臓、腎臓及び小腸におけるチルジピロシン濃度をLC-MS/MSで測定した (表9)。

(承認申請資料, 2016)

表9. 豚にチルジピロシンを単回筋肉内投与した後の試料中のチルジピロシン濃度 (mg/kg)

試料	投与後日数		
	4	8	12
筋肉	0.385±0.088 (4)	0.189±0.042 (4)	<0.050, 0.061, 0.075, 0.127
脂肪	0.501±0.144 (4)	0.236±0.017 (4)	0.102±0.044 (4)
肝臓	3.592±0.650 (4)	3.406±2.889 (4)	1.792±0.291 (4)
腎臓	9.070±1.766 (4)	4.741±1.038 (4)	2.633±0.912 (4)
小腸	0.901±0.131 (4)	0.478±0.115 (4)	0.311±0.035 (4)

試料	投与後日数		
	16	24	32
筋肉	<0.050 (2), 0.052, 0.079	<0.050 (4)	<0.050 (4)
脂肪	0.100±0.048 (4)	<0.050, 0.055, 0.058, 0.061	<0.050 (3), 0.090
肝臓	1.313±0.253 (4)	1.019±0.514 (4)	0.474±0.062 (4)
腎臓	2.146±0.528 (4)	1.117±0.373 (4)	0.736±0.262 (4)
小腸	0.233±0.018 (4)	0.124±0.031 (4)	<0.050, 0.090 (2), 0.155

数値は平均値±標準偏差を示し、括弧内は検体数を示す。

なお、全ての検体において分析値が定量されている場合のみ、平均値±標準偏差を算出した。

定量限界：0.050 mg/kg

上記の残留試験結果から、筋肉、脂肪、肝臓、腎臓及び小腸について、統計学的解析により投与13日後における最大許容濃度の上限 (95%信頼区間、99%ile値) を算出した (表10)。

表10. チルジピロシンの最大許容濃度の上限 (mg/kg)

	筋肉	脂肪	肝臓	腎臓	小腸
豚 (投与13日後)	0.325	0.534	4.346	9.143	0.618

- ④ 豚（交雑種（ランドレース系）、体重30.1～38.4 kg、雌及び去勢雄各3頭/時点）にチルジピロシンを有効成分とする注射剤を頸部に単回筋肉内投与（4 mg（力価）/kg 体重）し、投与4、8、12及び16日後に採取した筋肉、皮膚/脂肪、肝臓及び腎臓におけるチルジピロシン濃度をLC-MS/MSで測定した（表11）。（IT申請資料，2019）

表11. 豚にチルジピロシンを単回筋肉内投与した後の試料中のチルジピロシン濃度（mg/kg）

試料	投与後日数			
	4	8	12	16
筋肉	0.329±0.066(6)	0.139±0.032(6)	0.106±0.021(6)	<0.050, 0.058, 0.065, 0.076, 0.083, 0.105
皮膚/脂肪	0.722±0.120(6)	0.365±0.085(6)	0.304±0.086(6)	0.185±0.037(6)
肝臓	4.146±0.419(6)	3.125±0.668(6)	2.635±0.429(6)	1.929±0.361(6)
腎臓	11.320±2.193(6)	5.583±0.922(6)	3.631±0.756(6)	2.390±0.448(6)

数値は平均値±標準偏差を示し、括弧内は検体数を示す。

なお、全ての検体において分析値が定量されている場合のみ、平均値±標準偏差を算出した。

定量限界：0.050 mg/kg

上記の残留試験結果から、筋肉、皮膚/脂肪、肝臓及び腎臓について、統計学的解析により投与9日後における最大許容濃度の上限（95%信頼区間、99%ile値）を算出した（表12）。

表12. チルジピロシンの最大許容濃度の上限（mg/kg）

	筋肉	皮膚/脂肪	肝臓	腎臓
豚（投与9日後）	0.42	0.83	5.11	10.22

5. ADIの評価

食品安全基本法（平成15年法律第48号）第24条第1項第1号の規定に基づき、食品安全委員会あて意見を求めたチルジピロシンに係る食品健康影響評価において、以下のとおり評価されている。

（1）毒性学的ADIについて

最小毒性量：6 mg/kg 体重/day

（動物種） イヌ

（投与方法） カプセル経口

（試験の種類） 亜急性毒性試験

（期間） 13週間

安全係数：200（最小毒性量を用いたことによる追加係数2を使用）

ADI：0.03 mg/kg 体重/day

薬物動態試験並びに急性毒性試験及び亜急性毒性試験の結果から、ラットと比較しイヌの方が毒性影響について感受性が高いと考えられた。

イヌを用いた13週間亜急性毒性試験におけるLOAELは6 mg/kg 体重/日であった。イヌを用いた55週間慢性毒性試験におけるNOAELは10 mg/kg 体重/日であった。

本物質の毒性学的ADIの設定根拠となる無毒性量等については、ラットを用いた亜急性毒性試験でみられた神経毒性を示唆する所見についても考慮した上で、イヌを用いた13週間亜急性毒性試験におけるLOAELである6 mg/kg 体重/日を採用することとした。安全係数については、イヌを用いた13週間亜急性毒性試験のLOAELを判断した所見が器質的な変化を伴わない散発的なものであること、投与期間を延長しても作用が増強されないこと及びイヌを用いた55週間慢性毒性試験においてより高い10 mg/kg 体重/日でNOAELが得られていることを考慮し、追加の安全係数を2とし、安全係数200を適用した。以上から、PMT^{注)}の毒性学的ADIは、0.03 mg/kg 体重/日とすることが適当であると判断した。

注) ここでは、チルジピロシンを指す。

(2) 微生物学的ADIについて

VICHの算出式により、微生物学的ADIを0.28601 mg/kg 体重/dayと算出した。

$$\text{ADI (mg/kg 体重/day)} = \frac{0.0052^{*1} \text{ (mg/mL)} \times 500^{*2} \text{ (mL/day)}}{(0.425^{*3} \times 0.713^{*4} \times 0.5^{*5}) \times 60^{*6} \text{ (kg)}} = 0.28601$$

*1: 試験菌種 (10菌種) を対象としたMIC_{calc} (mg/mL) : 5.2 µg/mL = 0.0052 mg/mL

薬剤が活性を示す菌のうち、最も関連のある属の平均MIC₅₀の90%信頼限界の下限值 (mg/mL)

*2: 結腸内容物容積 (mL/day)

*3: 腸内容からの利用可能な画分 (%) : 42.5%

*4: 遊離残留物の比率

*5: 活性残存率

*6: ヒト体重 (kg)

(3) ADIの設定について

毒性学的ADIが微生物学的ADIより小さくなることから、チルジピロシンのADIとして、0.03 mg/kg 体重/dayと設定することが適当であると判断した。

6. 諸外国における状況

JECFAにおけるリスク評価はなされておらず、国際基準も設定されていない。

米国、カナダ、EU、豪州及びニュージーランドについて調査した結果、米国において牛に、カナダにおいて牛に、EUにおいて牛、豚等に基準値が設定されている。

7. 基準値案

(1) 残留の規制対象

チルジピロシンとする。

主要な残留物はチルジピロシンであることから、残留の規制対象をチルジピロシンとする。

(2) 基準値案

別紙1のとおりである。

(3) 暴露評価対象

チルジピロシン及びチルジピロシン由来の代謝物の全てを含む総残留物とする。

(4) 暴露評価

① 長期暴露評価

1日当たり摂取する動物用医薬品等の量のADIに対する比は、以下のとおりである。詳細な暴露評価は別紙2参照。

	TMDI/ADI (%) ^{注)}
国民全体 (1歳以上)	6.3
幼小児 (1～6歳)	16.3
妊婦	7.1
高齢者 (65歳以上)	4.4

注) 各食品の平均摂取量は、平成17年～19年度の食品摂取頻度・摂取量調査の特別集計業務報告書による。

TMDI試算法：基準値案×各食品の平均摂取量

暴露評価は、食品中に残留するチルジピロシン由来の残留物の全てがチルジピロシンと同程度の毒性を持つと仮定して試算を行った。食用組織中の総残留に占めるチルジピロシンの割合（総残留比）は、牛については表2における投与3、7、21、35及び49日後の割合を、豚については表4における投与3、7及び14日後の割合を平均して算出し、表13のとおりと仮定した。

表13. 食用組織中の総残留に占めるチルジピロシンの割合（総残留比）（%）

	筋肉	脂肪	肝臓	腎臓
牛	53 ^{注)}	93	29	63
豚	54	77	42	59

注) 投与3、7及び21日後の割合を平均して算出した。

(5) 本剤については、基準値を設定しない食品に関して、食品、添加物等の規格基準（昭和34年厚生省告示第370号）第1 食品の部A 食品一般の成分規格の1に示す「食品は、抗生物質又は化学的合成品たる抗菌性物質を含有してはならない。」が適用される。

食品名	基準値案 ppm	基準値 現行 ^{注)} ppm	承認 有無	参考基準値		残留試験成績等 ppm
				国際 基準 ppm	外国 基準値 ppm	
牛の筋肉	0.4		IT		0.4 EU	【0.11(最終投与47日後)(統計学的解析)(EU)】
豚の筋肉	1	0.6	IT		1.2 EU	【0.42(最終投与9日後)(統計学的解析)(EU)】
牛の脂肪	0.2		IT		0.2 EU	【0.19(最終投与47日後)(統計学的解析)(EU)】
豚の脂肪	0.8	0.6	IT		0.8 EU	【0.83(最終投与9日後)(統計学的解析)(EU)】
牛の肝臓	2		IT		2 EU	【2.13(最終投与47日後)(統計学的解析)(EU)】
豚の肝臓	5	5	IT		5 EU	【5.11(最終投与9日後)(統計学的解析)(EU)】
牛の腎臓	3		IT		3 EU	【3.13(最終投与47日後)(統計学的解析)(EU)】
豚の腎臓	10	10	IT		10 EU	【10.22(最終投与9日後)(統計学的解析)(EU)】
牛の食用部分	3		IT			【牛の腎臓参照】
豚の食用部分	10	10	IT			【豚の腎臓参照】

「承認有無」の欄に「IT」の記載があるものは、インポートライセンス申請に基づく基準値設定依頼がなされたものであることを示している。

注)「基準値現行」の欄に記載がある豚の基準値については、国内承認申請に基づき農薬・動物用医薬品部会(令和2年4月3日)で審議済みであり、今後、告示改正される予定である。

チルジピロシンの推定摂取量 (単位: $\mu\text{g}/\text{人}/\text{day}$)

食品名	基準値案 (ppm)	暴露評価に 用いた値 ^{注1)} (ppm)	国民全体 (1歳以上) TMDI	幼小児 (1~6歳) TMDI	妊婦 TMDI	高齢者 (65歳以上) TMDI
牛の筋肉	0.4	0.75	11.5 ^{注2)}	7.3 ^{注2)}	15.7 ^{注2)}	7.4 ^{注2)}
牛の脂肪	0.2	0.2				
牛の肝臓	2	6.8	0.7	0.0	9.5	0.0
牛の腎臓	3	4.8	0.0	0.0	0.0	0.0
牛の食用部分	3	4.8	2.4	0.0	16.2	1.9
豚の筋肉	1	1.9	78.5 ^{注2)}	62.4 ^{注2)}	80.7 ^{注2)}	57.2 ^{注2)}
豚の脂肪	0.8	1.0				
豚の肝臓	5	11.8	1.2	5.9	0.0	1.2
豚の腎臓	10	17.1	0.0	0.0	0.0	0.0
豚の食用部分	10	17.1	10.2	5.1	1.7	6.8
計			104.4	80.7	123.9	74.5
ADI 比 (%)			6.3	16.3	7.1	4.4

TMDI: 理論最大1日摂取量 (Theoretical Maximum Daily Intake)

TMDI試算法: 基準値案×各食品の平均摂取量

注1) 基準値案から総残留比を用いて推定した濃度 (総残留濃度)

注2) 各部位の総残留濃度のうち最も高い値を用いた。

(参考)

これまでの経緯

平成30年11月20日	農林水産大臣から厚生労働大臣あてに動物用医薬品の製造販売の承認及び使用基準の設定について意見聴取
平成30年11月21日	厚生労働大臣から食品安全委員会委員長あてに残留基準設定に係る食品健康影響評価について要請
令和元年11月19日	食品安全委員会委員長から厚生労働大臣あてに食品健康影響評価について通知
令和2年4月3日	薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会農薬・動物用医薬品部会
令和元年11月22日	インポートトレランス申請（牛の食用組織）
令和元年12月18日	厚生労働大臣から食品安全委員会委員長あてに残留基準設定に係る食品健康影響評価について要請
令和2年3月31日	食品安全委員会委員長から厚生労働大臣あてに食品健康影響評価について通知
令和2年5月28日	インポートトレランス申請（豚の食用組織）
令和2年6月11日	厚生労働大臣から食品安全委員会委員長あてに残留基準設定に係る食品健康影響評価について要請
令和2年6月16日	食品安全委員会委員長から厚生労働大臣あてに食品健康影響評価について通知
令和2年8月3日	薬事・食品衛生審議会へ諮問
令和2年8月6日	薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会農薬・動物用医薬品部会

● 薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会農薬・動物用医薬品部会

[委員]

- 穂山 浩 国立医薬品食品衛生研究所食品部長
石井 里枝 埼玉県衛生研究所副所長（兼）食品微生物検査室長
井之上 浩一 学校法人立命館立命館大学薬学部薬学科臨床分析化学研究室教授
大山 和俊 一般財団法人残留農薬研究所化学部長
折戸 謙介 学校法人麻布獣医学園理事（兼）麻布大学獣医学部生理学教授
魏 民 公立大学法人大阪大阪市立大学大学院医学研究科
環境リスク評価学准教授
佐々木 一昭 国立大学法人東京農工大学大学院農学研究院動物生命科学部門准教授
佐野 元彦 国立大学法人東京海洋大学学術研究院海洋生物資源学部門教授
瀧本 秀美 国立研究開発法人医薬基盤・健康・栄養研究所
国立健康・栄養研究所栄養疫学・食育研究部長
永山 敏廣 学校法人明治薬科大学薬学部特任教授
根本 了 国立医薬品食品衛生研究所食品部第一室長
二村 睦子 日本生活協同組合連合会組織推進本部長
宮井 俊一 元 一般社団法人日本植物防疫協会技術顧問
吉成 浩一 静岡県公立大学法人静岡県立大学薬学部衛生分子毒性学分野教授

(○：部会長)

答申（案）

チルジピロシン

食品名	残留基準値
	ppm
牛の筋肉	0.4
豚の筋肉	1
牛の脂肪	0.2
豚の脂肪	0.8
牛の肝臓	2
豚の肝臓	5
牛の腎臓	3
豚の腎臓	10
牛の食用部分 ^{注)}	3
豚の食用部分	10

注) 「食用部分」とは、食用に供される部分のうち、筋肉、脂肪、肝臓及び腎臓以外の部分をいう。



府 食 第 3 2 8 号
令 和 2 年 3 月 3 1 日

厚生労働大臣
加藤 勝信 殿

食品安全委員会
委員長 佐藤 洋



食品健康影響評価の結果の通知について

令和元年12月18日付け厚生労働省発生食1218第8号をもって厚生労働大臣から食品安全委員会に意見を求められたチルジピロシンに係る食品健康影響評価の結果は下記のとおりですので、食品安全基本法（平成15年法律第48号）第23条第2項の規定に基づき通知します。

なお、食品健康影響評価の詳細は別添のとおりです。

記

チルジピロシンの許容一日摂取量を 0.03 mg/kg 体重/日とする。

動物用医薬品評価書

チルジピロシン
(第2版)

2020年3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	5
○ 要約	6
I. 評価対象動物用医薬品の概要	7
1. 用途	7
2. 有効成分の一般名	7
3. 化学名	7
4. 分子式	7
5. 分子量	7
6. 構造式	7
7. 開発の経緯等	7
II. 安全性に係る知見の概要	9
1. 薬物動態試験	9
(1) 実験動物を用いた試験	9
① 薬物動態試験 (ラット)	9
② 薬物動態試験 (妊娠ウサギ) (参考資料)	10
③ 薬物動態試験 (イヌ)	11
④ 薬物動態試験 (イヌ)	12
⑤ <i>in vitro</i> 動物血漿タンパク質結合率に関する試験 (マウス)	12
⑥ 薬物動態試験 (ラット)	13
⑦ 薬物動態試験 (イヌ)	13
⑧ 薬物動態試験 (マウス)	14
⑨ 薬物動態試験 (イヌ)	14
⑩ 薬物動態試験のまとめ	14
(2) 対象動物を用いた試験	15
① 薬物動態試験 (豚)	15
② 薬物動態試験 (豚)	15
③ 薬物動態試験 (豚)	17
④ 薬物動態試験 (豚)	18
⑤ 薬物動態試験 (牛)	18
⑥ 薬物動態試験 (牛)	20
⑦ 薬物動態試験 (牛)	21
⑧ <i>in vitro</i> 動物血漿タンパク質結合率に関する試験 (豚、牛)	22
2. 残留試験	22
(1) 残留試験 (豚①)	22

(2) 残留試験 (豚②)	23
(3) 残留試験 (豚③)	24
(4) 残留試験 (豚④)	24
(5) 残留試験 (豚⑤)	25
(6) 残留試験 (牛①)	25
(7) 残留試験 (牛②)	26
(8) 残留試験 (牛③)	29
3. 遺伝毒性試験	31
4. 急性毒性試験	33
5. 亜急性毒性試験	33
(1) 28日間亜急性毒性試験 (ラット)	33
(2) 13週間亜急性毒性試験 (ラット)	34
(3) 亜急性毒性試験 (イヌ) (参考資料)	35
(4) 4週間亜急性毒性試験 (イヌ)	36
(5) 13週間亜急性毒性試験 (イヌ)	37
6. 慢性毒性及び発がん性試験	39
(1) 55週間慢性毒性試験 (イヌ)	39
7. 生殖発生毒性試験	40
(1) 2世代繁殖試験 (ラット)	40
(2) 発生毒性試験 (ラット)	41
(3) 発生毒性試験 (ウサギ)	42
8. その他の試験	42
(1) 皮膚刺激性試験 (ウサギ)	42
(2) 眼刺激性試験 (ウサギ)	43
(3) 皮膚感作性試験 (モルモット)	43
9. 微生物学的影響に関する試験	43
(1) ヒト腸内細菌叢に及ぼす影響	43
(2) 結腸内残留	44
(3) 結腸内残留物の生物学的活性と結合	44
10. 薬理試験	44
(1) 一般薬理試験	44
(2) 心臓血管系への影響	45
① イヌ	45
② 羊	46
III. 国際機関等における評価	47
1. EUにおける評価	47
2. 米国における評価	47
IV. 食品健康影響評価	49

1. 毒性学的 ADI について	49
2. 微生物学的 ADI について	50
3. ADI の設定について.....	50
・ 別紙 検査値等略称	52
・ 参照	54

〈審議の経緯〉

第1版関係

- 2018年 11月 21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（厚生労働省発生食 1121 第13号）、関係資料の接受
- 2018年 11月 27日 第722回食品安全委員会（要請事項説明）
- 2018年 12月 21日 第140回肥料・飼料等専門調査会
- 2019年 2月 15日 第141回肥料・飼料等専門調査会
- 2019年 3月 25日 第142回肥料・飼料等専門調査会
- 2019年 6月 24日 第146回肥料・飼料等専門調査会
- 2019年 9月 17日 第757回食品安全委員会（報告）
- 2019年 9月 18日 から10月17日まで 国民からの意見・情報の募集
- 2019年 11月 13日 肥料・飼料等専門調査会座長から食品安全委員会委員長へ報告
- 2019年 11月 19日 第764回食品安全委員会（報告）
（同日付けで食品安全委員会委員長から厚生労働大臣に通知）

第2版関係

- 2019年 12月 18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（厚生労働省発生食 1218 第8号）、関係資料の接受
- 2019年 12月 24日 第768回食品安全委員会（要請事項説明）
- 2020年 1月 20日 第150回肥料・飼料等専門調査会
- 2020年 3月 25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
- 2020年 3月 31日 第778回食品安全委員会（報告）
（同日付けで食品安全委員会委員長から厚生労働大臣に通知）

〈食品安全委員会委員名簿〉

（2018年7月1日から）

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

〈食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会専門委員名簿〉

(2019年9月30日まで)

今井 俊夫 (座長)

山中 典子 (座長代理)

新井 鐘蔵 下位 香代子

荒川 宜親 菅井 基行

今田 千秋 高橋 和彦

植田 富貴子 中山 裕之

川本 恵子 宮島 敦子

栗形 麻樹子 山田 雅巳

小林 健一 吉田 敏則

佐々木 一昭

(2019年10月1日から)

今井 俊夫 (座長)

山中 典子 (座長代理)

新井 鐘蔵 佐々木 一昭

荒川 宜親 下位 香代子

井手 鉄哉 中山 裕之

今田 千秋 宮島 敦子

植田 富貴子 森田 健

川本 恵子 山口 裕子

栗形 麻樹子 山田 雅巳

小林 健一

〈第140回肥料・飼料等専門調査会専門参考人名簿〉

唐木 英明 (公益財団法人食の安全・安心財団理事長)

〈第141回肥料・飼料等専門調査会専門参考人名簿〉

唐木 英明 (公益財団法人食の安全・安心財団理事長)

〈第142回肥料・飼料等専門調査会専門参考人名簿〉

唐木 英明 (公益財団法人食の安全・安心財団理事長)

〈第150回肥料・飼料等専門調査会専門参考人名簿〉

唐木 英明 (公益財団法人食の安全・安心財団理事長)

吉田 敏則 (東京農工大学農学研究院動物生命科学部門准教授)

要 約

マクロライド系抗生物質である「チルジピロシン (PMT)」(CAS No. 328898-40-4) について、本物質を主剤とする動物用医薬品(ズプレボ 40 注射液)の製造販売承認申請資料等を用いて、食品健康影響評価を実施した。今回、インポートトレランス申請に伴い、牛の薬物動態試験及び残留試験成績が新たに提出された。

各種動物を用いた経口投与での薬物動態試験の結果から、PMT は経口摂取後速やかに吸収され、また、反復投与により顕著な蓄積が生じる可能性は低いと考えられた。ラットでは、イヌよりも薬物動態に関するパラメーターである C_{max} 及び AUC が低く、薬物動態において種差の存在が示唆された。

豚及び牛での薬物動態については、体内で比較的長時間高い濃度が維持され、体内分布については、投与部位、肝臓、腎臓、肺等全身的に分布することがみられた。PMT の筋肉内投与による代謝については、他のマクロライド系抗生物質と同様に、肝臓におけるシトクロム P450 系の関与が示唆され、抱合による代謝解毒を受けると考えられた。残留性については、PMT は筋肉内又は皮下投与後、各組織中の濃度は経時的に低下するものの、試験期間を通して、肝臓、腎臓等において検出された(最長投与期間は、豚では 32 日間、牛では 63 日間)。

遺伝毒性試験では、*in vitro* での復帰突然変異試験、遺伝子突然変異試験及び染色体異常試験並びに *in vivo* での小核試験の全てにおいて陰性の結果であったことから、PMT には生体にとって特段問題となる遺伝毒性はないと考え、ADI を設定することは可能と判断した。

PMT の発がん性試験は実施されていないが、イヌ及びラットを用いた亜急性毒性試験並びにイヌを用いた 55 週間慢性毒性試験では腫瘍性の変化はみられておらず、遺伝毒性の懸念もないことから、本物質が適切に使用された場合において、食品を通じてヒトに対して発がん性を示す可能性は無視できる程度と考えた。

毒性学的 ADI は、イヌを用いた 13 週間亜急性毒性試験における LOAEL である 6 mg/kg 体重/日に安全係数 200 を適用し、0.03 mg/kg 体重/日と設定した。

微生物学的 ADI は、0.28601 mg/kg 体重/日と算出した。

毒性学的 ADI が微生物学的 ADI より小さいことから、PMT の ADI を 0.03 mg/kg 体重/日と設定した。

I. 評価対象動物用医薬品の概要

1. 用途

抗菌剤

2. 有効成分の一般名

和名：チルジピロシン

英名：Tildipirosin

3. 化学名

IUPAC : (11*E*,13*E*)-(4*R*,5*S*,6*S*,7*R*,9*R*,15*R*,16*R*)-6-(4-Dimethylamino-3,5-dihydroxy-6-methyl-tetrahydropyran-2-yloxy)-16-ethyl-4-hydroxy-5,9,13-trimethyl-7-(2-piperidin-1-yl-ethyl)-15-piperidin-1-ylmethyl-oxacyclohexadeca-11,13-diene-2,10-dione

CAS No. 328898-40-4 (参照1、2)

4. 分子式

C₄₁H₇₁N₃O₈ (参照1)

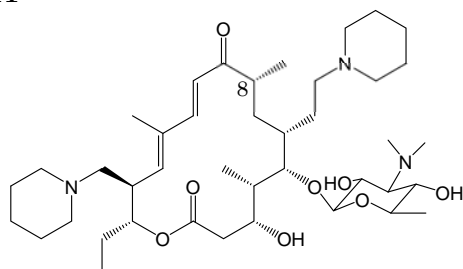
5. 分子量

734.0 (参照1)

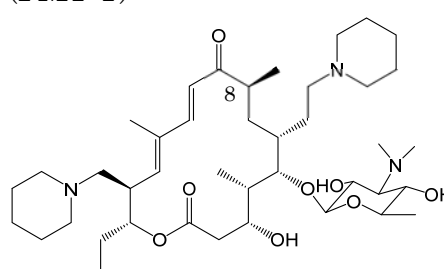
6. 構造式

チルジピロシン (PMT : 20,23-di-Piperidinyl-Mycaminosyl-Tylonolide) は、8 位の不斉炭素原子における 2 種の立体異性体 PMT 及び PMT-T との混合物である。各立体異性体の構造式を以下に示す。両異性体は安定な平衡状態を 94 : 6 の比率で維持している。(参照2)

PMT



異性体 (PMT-T)



なお、以下、「PMT」とあるものは両異性体の混合物を意味し、両異性体を区別しない。

7. 開発の経緯等

PMT は 16 員環マクロライド系抗生物質であり、微生物化学研究所が創製した。作用

は細菌のタンパク質合成阻害による細菌増殖抑制及び静菌作用である。PMT は、牛¹又は豚の肺炎起因菌 (*Mannheimia haemolytica*、*Pasteurella multocida*、*Histophilus somni*、*Actinobacillus pleuropneumoniae*、*Bordetella bronchiseptica* 及び *Haemophilus parasuis*) に対し有効性が認められ、動物用医薬品として、海外では EU 諸国 (肥育牛及び非泌乳乳用牛並びに肥育豚) 及び米国 (肉用肥育牛及び非泌乳乳用牛) を含む 50 か国以上で牛又は豚における細菌性肺炎の治療薬として製造販売が認められている。

また、国内外においてヒト用医薬品として販売されていない。(参照 1、2、3)

今回、インポートトレランス申請に伴い、厚生労働省から牛に関する残留基準値の設定について食品健康影響評価の要請がなされた。

¹ 本評価書において、原則として実験動物種及び人はカタカナ、動物用医薬品及び飼料添加物の使用対象となる動物等は漢字又はひらがなで記載する。

II. 安全性に係る知見の概要

動物用医薬品「ズプレボ 40 注射液」の製造販売承認申請書添付資料、EMA 評価資料、インポートトランス申請資料等を用いて、PMT の毒性に関する主な知見を整理した。

1. 薬物動態試験

(1) 実験動物を用いた試験

① 薬物動態試験（ラット）

a. トキシコキネティクス試験（雌雄ラット）

ラット (Wistar Hannover/RCC 系、7 週齢、雌雄各 9 匹/群 (対照群: 雌雄各 3 匹)) に PMT を 13 週間反復経口投与 (>92.3% PMT、0、20、60 又は 400 mg/kg 体重/日) する薬物動態試験が、亜急性毒性試験 (II の 5 の (2)) と並行して実施された。初回投与日 (単回経口投与) 及び投与 13 週後 (反復経口投与) のそれぞれ投与 0 時 (投与前)、0.5、2、4、8 及び 24 時間後に採血 (雌雄各 3 匹/時点) し、LC-MS/MS を用いて PMT 濃度を測定した。

単回経口投与後の薬物動態パラメーターを表 1 に、13 週間反復経口投与後の薬物動態パラメーターを表 2 に示した。

PMT は投与後速やかに吸収され、血漿濃度は 0.5~2 時間で最高値に達し、終末半減期は信頼性の高い値として 8.04~14.1 時間であった。

雌雄差はなく、反復投与では単回投与と比較してばく露量が増加する傾向がみられたが、各投与直前の血漿中濃度は投与期間を通じて上昇しなかったことから、試験実施者は反復投与による PMT 蓄積の可能性はないと考えた。(参照 2、4)

表 1 ラットにおける PMT 単回経口投与後の薬物動態パラメーター

投与量 (mg/kg 体重)	雄				雌			
	C _{max} (ng/mL)	T _{max} (h)	AUC _(0→24h) (ng·h/mL)	T _{1/2} (h)	C _{max} (ng/mL)	T _{max} (h)	AUC _(0→24h) (ng·h/mL)	T _{1/2} (h)
20	35.0	2	342	26.8 ^a	26.7	0.5	316	33.5 ^a
60	77.0	2	508	14.8 ^a	102	2	644	8.83 ^a
400	10,826	2	30,146	9.01	9,023	2	26,402	8.04

a : 信頼度が不十分な値

表 2 ラットにおける PMT 13 週間反復経口投与後の薬物動態パラメーター

投与量 (mg/kg 体重)	雄				雌			
	C _{max} (ng/mL)	T _{max} (h)	AUC _(0→24h) (ng·h/mL)	T _{1/2} (h)	C _{max} (ng/mL)	T _{max} (h)	AUC _(0→24h) (ng·h/mL)	T _{1/2} (h)
20	62.3	2	580	14.1	46.9	0.5	527	15.6 ^a
60	442	2	3,130	12.8	494	2	1,978	11.4 ^a
400	9,101	2	56,733	9.94 ^a	8,445	2	41,988	23.8 ^a

a : 信頼度が不十分な値

b. トキシコキネティクス試験（妊娠ラット）（参考資料²）

ラット（Wistar Hannover 系、10 週齢、雌、9 匹/群）に PMT を 13 日間（交配 4～16 日後）反復経口投与（>94.8% PMT、0、30、120 又は 480 mg/kg 体重/日）する薬物動態試験が、生殖発生毒性試験（Ⅱの 7 の（2））と並行して実施された。初回投与日（単回経口投与、交配 4 日後）及び投与 12 日後（交配 16 日後）の、それぞれ投与 0 時（投与前）、0.5、2、4、8 及び 24 時間後に採血（雌雄各 3 匹/時点）し、LC-MS/MS を用いて PMT 濃度を測定した。

結果を表 3 に示した。

ばく露量は投与量とともに増大したが、用量比例性（dose-proportional）は確認できなかった。反復投与では単回投与に比べ AUC_(0-t) 及び C_{max} の増加は僅かであり、PMT の顕著な蓄積はみられなかった。（参照 2、5）

表 3 妊娠ラットにおける PMT 単回及び 13 日間反復経口投与後の薬物動態パラメーター

投与量 (mg/kg 体重)	単回経口投与(交配 4 日後)			13 日間反復経口投与(交配 16 日後)		
	C _{max} (ng/mL)	T _{max} (h)	AUC _(0-t) ^a (ng·h/mL)	C _{max} (ng/mL)	T _{max} (h)	AUC _(0-t) ^a (ng·h/mL)
30	250	4	2,819	305	0.5	1,390
120	2,516	2	6,575	4,497	2	15,226
480	18,835	2	44,443	17,274	2	54,986

a : 投与 0 時から定量可能濃度が得られた t 時までの AUC

② 薬物動態試験（妊娠ウサギ）（参考資料³）

ウサギ（Himalayan 系、18～23 週齢、雌、9 匹/群）に PMT を 22 日間（交配 5～26 日後）反復経口投与（>97.6% PMT、0、10、30 又は 90 mg/kg 体重/日）する薬物動態試験⁴が実施された。初回投与日（単回経口投与、交配 5 日後）及び投与 21 日後（交配 26 日後）のそれぞれ投与 0 時（投与前）、0.5、2、4、8 及び 24 時間後に採血し、LC-MS/MS を用いて PMT 濃度を測定した。

結果を表 4 に示した。

T_{max} は概ね 0.5 時間であり、単回投与での PMT ばく露量は用量比例性を超えて増加した。反復投与でのばく露量は僅かに増加したが、反復投与による重大な蓄積は示さなかった。（参照 6）

2 妊娠動物を用いた試験であることから参考資料とした。

3 妊娠動物を用いた試験であることから参考資料とした。

4 発生毒性試験（Ⅱの 7 の（3））に並行して実施。

表4 妊娠ウサギにおける PMT 単回及び 22 日間反復経口投与後の薬物動態パラメータ

投与量 (mg/kg 体重)	単回経口投与(交配 5 日後)			22 日間反復経口投与(交配 26 日後)		
	C _{max} (ng/mL)	T _{max} (h)	AUC _(0-t) ^a (µg·h/mL)	C _{max} (ng/mL)	T _{max} (h)	AUC _(0-t) ^a (µg·h/mL)
10	237	0.5~4	1,867	493	0.5	2,275
30	1,937	0.5	7,177	2,642	0.5	12,467
90	8,796	0.5	26,247	8,575	0.5~2	35,531

a : 投与 0 時から定量可能濃度が得られた t 時までの AUC

注 : 外挿により算出する AUC_(t-inf) の信頼性が低いことから、AUC_(0-inf) は記載しなかった。

③ 薬物動態試験 (イヌ)

イヌ (ビーグル種、8~9 か月齢、雌雄各 4 頭/群) に PMT を 4 週間反復経口投与 (>93.0% PMT、ゼラチンカプセル入り : 0、20、60 又は 180 mg/kg 体重/日) する薬物動態試験が実施された。初回投与日 (単回経口投与) 及び投与 4 週後のそれぞれ投与 0 時 (投与前)、0.5、1、2、4、8 及び 24 時間後に採血し、LC-MS/MS を用いて PMT 濃度を測定した。

単回経口投与後の薬物動態パラメーターを表 5 に、4 週間反復経口投与後の薬物動態パラメーターを表 6 に示した。

PMT の血漿中濃度は個体間変動が大きかったが、1~3 時間で最高値に達し、半減期は 7.7~17.3 時間であった。

雌雄差はなく、ばく露量は投与用量に比例し、反復投与による蓄積はみられなかった。(参照 2、7、8)

表5 イヌにおける PMT 単回経口投与後の薬物動態パラメーター

投与量 (mg/kg 体重)	雄				雌			
	C _{max} (ng/mL)	T _{max} (h)	AUC _(0-24 h) (ng·h/mL)	T _{1/2} (h)	C _{max} (ng/mL)	T _{max} (h)	AUC _(0-24 h) (ng·h/mL)	T _{1/2} (h)
20	2,913	1	14,398	8.4	1,935	1	10,826	15.3
60	10,407	2	69,148	11.0	10,238	2	61,820	10.1
180	17,641	2	151,494	7.7	16,796	3	204,276	13.5

表6 イヌにおける PMT 4 週間反復経口投与後の薬物動態パラメーター

投与量 (mg/kg 体重)	雄				雌			
	C _{max} (ng/mL)	T _{max} (h)	AUC _(0-24 h) (ng·h/mL)	T _{1/2} (h)	C _{max} (ng/mL)	T _{max} (h)	AUC _(0-24 h) (ng·h/mL)	T _{1/2} (h)
20	2,379	2	16,988	15.8 ^a	3,388	1	20,905	17.3
60	9,767	2	62,685	11.9	8,334	2	68,724	14.0
180	17,787	1	149,460	10.9 ^a	11,993	2	115,923	8.8

a : 1 個体の値

④ 薬物動態試験（イヌ）

イヌ（ビーグル種、6.5～7.5 か月齢、雌雄各 4 頭/群）に PMT を 13 週間反復経口投与（>94.8% PMT、ゼラチンカプセル入り：0、6、20 又は 60 mg/kg 体重/日）する薬物動態試験が実施された。初回投与日（単回経口投与）及び投与 13 週後のそれぞれ投与 0 時（投与前）、0.5、1、2、4、8 及び 24 時間後に採血し、LC-MS/MS を用いて PMT 濃度を測定した。

単回経口投与後の薬物動態パラメーターを表 7 に、13 週間反復経口投与後の薬物動態パラメーターを表 8 に示した。

PMT の血漿中濃度は 0.75～2 時間で最高値に達し、半減期は 6.6～14.1 時間であった。

雌雄差はなく、ばく露量は用量比例性を超えて増加したが、反復投与による蓄積はみられなかった。（参照 2、9）

表 7 イヌにおける PMT 単回経口投与後の薬物動態パラメーター

投与量 (mg/kg 体重)	雄				雌			
	C _{max} (ng/mL)	T _{max} (h)	AUC _(0-24 h) (ng·h/mL)	T _{1/2} (h)	C _{max} (ng/mL)	T _{max} (h)	AUC _(0-24 h) (ng·h/mL)	T _{1/2} (h)
6	540	2	1,821	8.96	578	1.5	1,747	NC
20	2,644	1	10,074	8.51 ^a	2,658	0.75	10,022	7.70
60	7,978	1	41,303	6.60	8,129	0.5	48,386	13.3 ^a

a：1 個体の値

NC：算出せず

表 8 イヌにおける PMT 13 週間反復経口投与後の薬物動態パラメーター

投与量 (mg/kg 体重)	雄				雌			
	C _{max} (ng/mL)	T _{max} (h)	AUC _(0-24 h) (ng·h/mL)	T _{1/2} (h)	C _{max} (ng/mL)	T _{max} (h)	AUC _(0-24 h) (ng·h/mL)	T _{1/2} (h)
6	602	2	3,658	NC	516	0.75	3,539	NC
20	3,585	1	16,594	NC	2,642	0.75	14,692	NC
60	9,577	1	50,689	13.9	9,600	1	56,090	14.1 ^a

a：1 個体の値

NC：算出せず

⑤ *in vitro* 動物血漿タンパク質結合率に関する試験（マウス）

in vitro における動物血漿タンパク質結合試験が実施された。

PMT (0.1、1、10 又は 50 µg/mL) を添加したマウスの血漿における血漿タンパク質結合率を平衡透析法により算出した。独立した 2 試料を 4 時間培養後、アセトニトリルを加えた後、遠心分離し、上清について、HPLC-MS/MS を用いて各 3 回測定した。

結果を表 9 に示した。

PMT の血漿タンパク質結合率は約 17% であり、濃度依存性はみられなかった（参照 2、8、10）。

表9 マウスの血漿における PMT 血漿タンパク質結合率 (%)

添加濃度(μg/mL)	マウス
0.1	27.3
1	13.6
10	17.1
50	10.8
平均値	17.2

n=2 3回測定

⑥ 薬物動態試験 (ラット)

ラット (Wistar Hannover 系、7 週齢、雌雄各 7 匹/群) に ¹⁴C-PMT を 7 日間経口投与 (0.25 又は 25 mg/kg 体重/日) する代謝動態試験が実施された。

各組織にみられる主な代謝物を表 10 に示した。

最高濃度の PMT は結腸でみられ、主要な排泄は糞中であり、総残留物中に少量の未変化体が検出された。(参照11)

表 10 ラットにおける ¹⁴C-PMT 7 日間経口投与後の代謝物

試料	主な代謝物
肝臓	S-システイン PMT ジヒドロ PMT スルホン酸
結腸	加水分解ジヒドロ PMT スルホン酸 加水分解ヒドロキシ PMT スルホン酸
尿	加水分解ジヒドロ PMT スルホン酸
糞	ジヒドロ PMT スルホン酸

⑦ 薬物動態試験 (イヌ)

イヌ (ビーグル種、11~13 か月齢、雌雄各 2 匹/群) に ¹⁴C-PMT を 7 日間経口投与 (25 mg/kg 体重/日) する代謝動態試験が実施された。

各組織にみられる主な代謝物を表 11 に示した。

最高濃度の PMT は結腸でみられ、主要な排泄は糞中であり、総残留物中に微量の未変化体が検出された。(参照 11)

表 11 イヌにおける ¹⁴C-PMT 7 日間経口投与後の代謝物

試料	主な代謝物
肝臓	ジヒドロキシ PMT S-システイン PMT S-グルタチオン PMT
腎臓	デスメチル PMT
尿	加水分解ジヒドロ PMT スルホン酸 ジヒドロ PMT スルホン酸
糞	ジヒドロ PMT スルホン酸

⑧ 薬物動態試験（マウス）

好中球減少を誘発し、*P. multocida* を感染させたマウス（ICR 系、6 週齢）に PMT を単回皮下投与（1、2、4、6 又は 8 mg/kg 体重）する薬物動態試験が実施された。投与 2、5、10 及び 15 分後並びに 1、2、4、8、12、24、36 及び 48 時間後に採血（4 匹/群/時点）し、LC-MS/MS を用いて血漿中遊離型 PMT 濃度を測定した。

結果を表 12 に示した。（参照12）

表 12 *P. multocida* 感染マウスにおける PMT 単回皮下投与時の血漿中遊離型 PMT の動態パラメーター

投与量 (mg/kg 体重)	遊離型 C _{max} (µg/mL)	遊離型 T _{max} (h)	遊離型 T _{1/2} (h)	遊離型 AUC _{0-24h} (µg·h/mL)
1	0.30	0.17	23.03	0.49
2	0.60	0.08	38.25	1.00
4	1.16	0.08	26.40	1.71
6	1.84	0.08	13.67	2.54
8	2.99	0.08	32.56	4.14

⑨ 薬物動態試験（イヌ）

イヌ（ビーグル種、9~12 kg、雌雄各 3 頭/群）に PMT を単回筋肉内投与（2、4 又は 6 mg/kg 体重）する薬物動態試験が実施された。投与後 14 日まで採血し、LC-MS/MS を用いて PMT 濃度を測定した。

結果を表 13 に示した。

また、イヌ（ビーグル種、6 頭）に PMT を静脈内投与（2 mg/kg 体重）する薬物動態試験が実施され、その結果、筋肉内投与におけるバイオアベイラビリティは 112% であった。

なお、これら筋肉内投与及び静脈内投与による有害作用はみられなかった。（参照13）

表 13 イヌにおける PMT 筋肉内投与後の薬物動態パラメーター

投与量 (mg/kg 体重)	C _{max} (ng/mL)	T _{max} (h)	T _{1/2} (h)	MRT (h)
2	412.73 ± 76.01	0.36 ± 0.2	71.39 ± 28.42	63.81 ± 10.96
4	1,051 ± 323	0.0833 ± 0	91.33 ± 50.02	35.83 ± 15.13
6	1,061 ± 352	0.13 ± 0.07	96.43 ± 45.02	38.18 ± 16.77

⑩ 薬物動態試験のまとめ

各種動物を用いた経口投与での薬物動態試験の結果から、PMT は経口摂取後速やかに吸収され、血中濃度は数時間以内に最高値に達し、また、反復投与により顕著な蓄積が生じる可能性は低いと考えられた。

妊娠ラット及び非妊娠ラットの試験結果を比較すると、C_{max} 及び AUC について、120 mg/kg 体重/日以下の中濃度及び低濃度の投与で、両者に明瞭な差がみられた。こ

これらの差については、試験設計の違い、試験群内で値のばらつきが大きいこと等を踏まえると、その解釈は困難であると考えられた。

なお、非妊娠ラットとイヌの試験結果を比較した場合、イヌに比べラットでは投与量に対して C_{max} 及び AUC が低値を示した。この解釈として、イヌではラットよりも低い投与量で毒性所見が得られていることと同様、薬物動態においても種差が存在している可能性が考えられた。

(2) 対象動物を用いた試験

① 薬物動態試験 (豚)

豚 (ジャーマンランドレース交雑種、約 8 週齢、A 群及び C 群：去勢雄及び雌各 3 頭、B 群：去勢雄及び雌各 6 頭) に、PMT (4% w/v) を各々単回筋肉内投与 (A 群：2、B 群：4、C 群：6 mg(力価)/kg) する薬物動態試験が実施された。

PMT 投与後 5 分から 336 時間まで全群から血漿中濃度を測定するとともに、B 群からは投与 120、240 及び 336 時間後に気管支分泌液及び肺を採取 (各 4 頭/時点) し、SPE-HPLC-MS/MS を用いて PMT 濃度を測定した。

薬物動態パラメーターの結果を表 14 に示した。

B 群の気管支分泌液中の PMT 濃度は、120、240 及び 336 時間でそれぞれ約 14,308、7,030 及び 6,472 ng/g であり、肺組織破碎懸濁液中では、それぞれ約 3,266、1,472 及び 1,165 ng/g であった。

PMT は投与後速やかに吸収され、消失半減期は長く 4 日以上であった。(参照 2、8、14)

表 14 豚における PMT 単回筋肉内投与後の薬物動態パラメーター

投与量 (mg/kg 体重)	C_{max} (ng/mL)	$C_{(5min)}$ (ng/mL)	$C_{(336h)}$ (ng/mL)	T_{max} (min)	$T_{1/2}$ (h)	$AUC_{(0-LOQ)^a}$ (h · ng/mL)	$AUC_{(infinity)^b}$ (h · ng/mL)	$MRT_{(0-LOQ)^c}$ (h)
2	701	634	10	12.6	126	5,773	7,095	91
4	895	737	12	22.8	106	11,012	12,100	86
6	884	694	14	15.6	97	13,373	14,555	84

$C_{(5min)}$ ：投与 5 分後の血漿中濃度、 $C_{(336h)}$ ：投与 336 時間後の血漿中濃度

a：投与 0 時から定量限界 (LOQ) となるまでの AUC

b：推定値

c：投与 0 時から LOQ までの平均滞留時間 (MRT)、LOQ (血漿)：10 ng/mL

② 薬物動態試験 (豚)

豚 (ランドレース種、体重 15~25 kg、雌雄各 2 頭/時点) に ^{14}C -PMT (35 μ Ci/mg) を頸部に単回筋肉内投与 (5 mg/kg 体重) する代謝動態試験が実施された。

投与 3、7、14、21 及び 28 日後に組織を採取し、LC-MS/MS 及び Flow Scintillation Analyser を用いて濃度を測定した。

豚における ^{14}C -PMT 単回頸部筋肉内投与後の総残留放射性物質濃度 (TRR) を表 15 に、未変化体 PMT の組織中濃度を表 16 に、回収率を表 17 に、経時的排泄・回収率を表 18 に示した。

組織中濃度は、投与 3 及び 7 日後では腎臓、肝臓、投与部位筋肉の順で、投与 14～28 日後では肝臓、腎臓、投与部位筋肉の順で多く検出された。各臓器・組織において検出された成分は、肝臓では S-システイン抱合体又は脱メチル化 PMT からなる代謝物が最も多く検出されたが、他の臓器・組織では未変化体が最も多く検出された。肝臓においては、代謝物が比較的多くみられたことから、代謝経路としてシトクロム P450 系の関与が示唆された。

排泄については、投与後 336 時間までに投与放射能の 78.55%が、尿中 (16.75%)、糞中 (57.08%) 及びケージ洗浄物 (4.73%) から回収された。これらの成分としては、尿中では未変化体が多い傾向がみられ、代謝物としては還元・水和 (又は開環) PMT の硫酸抱合体及び還元 PMT の硫酸抱合体がみられた。糞中では、未変化体よりも代謝物の割合が多く、その代謝物は硫酸抱合体であり、開環代謝物はみられなかった。以上の結果から、PMT は抱合による代謝解毒を受けると考えられた。(参照 2、8、15)

表 15 豚における ^{14}C -PMT 単回頸部筋肉内投与後の各 TRR ($\mu\text{g eq/kg}$)

組織	投与後日数				
	3	7	14	21	28
肝臓	9,310	5,908	5,561	4,420	2,794
腎臓	20,225	9,385	4,348	3,453	2,026
筋肉 (腰部)	946	493	177	107	57
投与部位筋肉	8,464	4,484	2,422	1,178	730
脂肪付き皮膚	741	452	200	121	69

n=4

表 16 豚における ^{14}C -PMT 単回頸部筋肉内投与後の未変化体 PMT の組織中濃度 ($\mu\text{g/kg}$) 及び TRR に対する比 (%)

組織	投与後日数				
	3	7	14	21	28
肝臓	3,849 (41.3)	2,889 (48.9)	1,990 (35.8)	1,242 (28.1)	577.4 (20.7)
腎臓	12,425 (61.4)	5,420 (57.7)	2,464 (56.7)	1,706 (49.4)	882.5 (43.5)
筋肉 (腰部)	537.0 (56.7)	259.2 (52.6)	90.57 (51.2)	61.09 ^a (57.0) ^a	<LOQ (NA)
投与部位筋肉	5,395 (63.7)	3,098 (69.1)	1,047 (43.2)	523.4 (44.4)	246.2 (33.7)
脂肪付き皮膚	559.2 (75.5)	337.3 (74.7)	160.8 (80.4)	82.30 (67.8)	<LOQ (NA)

n=4 LOQ = 50 ng/g

a : LOQ を 50 ng/g として平均値を算出した。

表 17 豚における ¹⁴C-PMT 単回頸部筋肉内投与後の回収率 (%)

試料	投与後 日数	雄 ^a		雌 ^a	
		回収率 (%)	合計 (%)	回収率 (%)	合計 (%)
尿	0~14	19.62	80.21	13.90	76.92
糞	0~14	56.04		58.12	
ケージ洗浄	0~14	4.56		4.91	
肝臓	14	3.37	5.15	3.66	4.86
腎臓	14	0.42		0.43	
投与部位筋肉	14	1.37		0.77	
筋肉	14	NA		NA	
脂肪付き皮膚	14	NA		NA	
合計		83.57			

NA：測定せず

a：各 2 頭の平均値

表 18 豚における ¹⁴C-PMT 単回頸部筋肉内投与後の経時的排泄・回収率 (%)

投与後日数 (時間)	尿	糞	ケージ洗浄液
1 (24)	7.89	12.70	0.97
2 (48)	1.85	16.45	0.86
3 (72)	1.46	9.27	0.74
4 (96)	1.01	4.42	0.41
5 (120)	0.80	3.36	0.37
6 (144)	0.66	2.17	0.24
7 (168)	0.58	1.80	0.21
8 (192)	0.52	1.30	0.12
9 (216)	0.39	1.16	0.15
10 (240)	0.40	1.19	0.11
11 (264)	0.35	0.94	0.11
12 (288)	0.32	0.78	0.07
13 (312)	0.28	0.73	0.05
14 (336)	0.25	0.82	0.34
合計	16.75	57.08	4.73
	78.55		

n=4

③ 薬物動態試験 (豚)

豚 (品種不明、4~5 週齢、雌雄各 2 頭/群) に PMT を静脈内投与 (4 mg/kg 体重) 後、2 週間の間隔を空けて同一用量を筋肉内投与する薬物動態試験が実施された。投与 15 及び 30 分後並びに 1、2、4、6、8、10、12、24 及び 48 時間後に採血し、HPLC を用いて PMT 濃度を測定した。

結果を表 19 に示した。(参照16)

表 19 豚における PMT 単回静脈内又は筋肉内投与後の薬物動態パラメーター

投与経路	AUC _{0-24h} ($\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$)	AUC ($\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$)	T _{max} (h)	T _{1/2} (h)	C _{max} ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	CL _b ^a (L/h)	MRT _{last} ^b (h)	バイオアベイラビリティ(%)
静脈内	7.10±0.91	7.94±1.11	—	24.02±3.12	—	0.46±0.08	8.06±1.6	
筋肉内	3.94±0.62	6.79±0.45	0.25±0.06	44.04±4.65	0.98±0.11	0.43±0.07	22.85±2.96	85.5±7.11

a : 全身クリアランス

b : 投与 0 時から最終検出時点までの MRT

④ 薬物動態試験 (豚)

豚 (交雑種 (LWD)、体重 25~30 kg、6 頭/群) に PMT を単回筋肉内投与 (4 mg/kg 体重) する薬物動態試験が実施された。

PMT 投与後、1 群から気管支肺胞洗浄液中の肺上皮内腔液 (PELF) を最大 408 時まで、もう 1 群から血漿を 10 日まで、それぞれ採取し、HPLC を用いて PMT の動態を測定した。

結果を表 20 に示した。

PMT は急速に吸収され、PELF へ高濃度での分布がみられた。(参照17)

表 20 豚における PMT 単回筋肉内投与後の血漿及び PELF 中の薬物動態パラメーター

試料	AUC _{24h} ($\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$)	AUC ($\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$)	T _{max} (h)	T _{1/2} (h)	C _{max} ($\mu\text{g}/\text{mL}$)
血漿	4.25 ± 0.60	14.16 ± 2.12	—	73.39 ± 6.62	1.01 ± 0.18
PELF	83.13 ± 11.26	855.46 ± 76.25	5.33 ± 2.37	170.91 ± 18.41	4.06 ± 0.65
比率 (PELF/血漿)	19.56	60.41	—	2.32	4.02

⑤ 薬物動態試験 (牛)

牛 (ホルスタイン種、7~11 か月齢、体重 212~259 kg、雌雄各 12 頭) に、PMT を単回頸部皮下投与 (2 mg/kg 体重 (5 頭 (雄 3 頭及び雌 2 頭))、4 mg/kg 体重 (14 頭 (雌雄各 7 頭)) 及び 6 mg/kg 体重 (5 頭 (雄 2 頭及び雌 3 頭))) する薬物動態試験が実施された。各群から、投与前及び投与後 0.5 時間から最大 504 時間までの 18 時点で血漿を採取し、4 mg/kg 体重投与群は 2 つのサブグループ (I 群: 雄 4 頭及び雌 3 頭、II 群: 雄 3 頭及び雌 4 頭) に分け、このうち 8 頭 (I 群、II 群: 各 4 頭) については投与前及び投与後 4 時間から最大 504 時間までの 10 時点で気管支分泌物を採取し、6 頭 (I 群、II 群: 各 3 頭) については投与後 120、240 及び 336 時間までの 3 時点で各 2 頭ずつから気管支分泌物及び肺組織を採取し、それぞれ SPE-HPLC-MS/MS を用いて PMT 濃度を測定した。

結果を表 21~表 23 に示した。

PMT は速やかに吸収され、いずれの投与量群においても血漿中の T_{max} は投与後 1 時間未満であり、各血漿中の C_{max} 及び AUC では用量依存性の増加が認められた。ま

た、各投与量群の血漿中の $T_{1/2}$ 及び MRT から比較的長期にわたる血漿中 PMT の滞留が示された。

気管支分泌物及び肺組織では投与後 14 日においても PMT 濃度の高値が認められ、蓄積性が示された。(参照18)

表 21 牛における PMT 単回頸部皮下投与後の血漿中の薬物動態パラメーター^a

薬物動態 パラメーター	投与量 (mg/kg 体重)		
	2 (n=5)	4 (n=8 ^b)	6 (n=5)
C_{max} (ng/mL)	377.19	710.75	1,080.42
T_{max} (h (分))	0.60 (36.0)	0.69 (41.4)	0.80 (48.0)
$AUC_{(0-LOQ)^c}$ (h・ng/mL)	14,682.68	21,017.28	30,350.16
$AUC_{infinite}^d$ (h・ng/mL)	17,295.17	24,934.24	33,209.49
$AUC_{\%Extrapolated}^e$ (%)	15.58	15.78	8.80
$T_{1/2}$ (h (日))	199.22 (8.3)	209.70 (8.7)	157.07 (6.5)
$MRT_{(0-LOQ)^f}$ (h (日))	157.60 (6.6)	152.03 (6.3)	131.41 (5.5)

LOQ (定量限界) : 10 ng/mL (血漿)

a : 各群の平均値

b : 14 頭のうち、6 頭が肺組織等採取のために用いられたことによる。

c : 投与 0 時から LOQ 以上の最終時点までの AUC

d : 投与 0 時から無限時間まで外挿した AUC

e : LOQ 以上の最終時点から無限時間までの AUC 予測値の d に占める割合

f : 投与 0 時から LOQ 以上の最終時点までの平均滞留時間 (Mean Residence Time)

表 22 牛における PMT 単回頸部皮下投与 (4 mg/kg 体重) 後の気管支分泌物中の薬物動態パラメーター

薬物動態 パラメーター	I 群 (n=4 ^a) ^b	II 群 (n=4 ^a) ^c
C_{max} (ng/g)	4,581 ± 1,739	3,428 ± 2,003
T_{max} (h)	83 ± 109	102 ± 156
$AUC_{(0-LOQ)^d}$ (h・ng/g)	989,911 ± 178,786	550,288 ± 395,055 ^e
$AUC_{infinite}^f$ (h・ng/g)	1,092,416 ± 204,380	520,265 ± 207,255 ^e
$AUC_{\%Extrapolated}^g$ (%)	9 ± 7	12 ± 18

平均±標準偏差 LOQ (定量限界) : 100 ng/g (気管支分泌物)

a : 各群 7 頭中 3 頭が肺組織等採取のために用いられたことによる。

b : 投与前並びに投与後 10、72、120、240、336 及び 504 時間の時点で採取した試料の結果から算出

c : 投与前並びに投与後 4、24、96、120、240、336 及び 504 時間の時点で採取した試料の結果から算出

d : 投与 0 時から LOQ 以上の最終時点までの AUC

e : AUC が得られなかった 1 頭を除き算出

f : 投与 0 時から無限時間まで外挿した AUC

g : LOQ 以上の最終時点から無限時間までの AUC 予測値の f に占める割合

表 23 牛における PMT 単回頸部皮下投与 (4 mg/kg 体重) 後の PMT 濃度 (ng/g)

動物番号 (性別)		測定試料					
		気管支分泌物			肺組織		
		投与後時間 (日)			投与後時間 (日)		
		120 (5)	240 (10)	336 (14)	120 (5)	240 (10)	336 (14)
I 群	牛 1 (雄)	—	—	3,683.19	—	—	4,650.14
	牛 2 (雄)	6,088.44	—	—	9,084.88	—	—
	牛 3 (雌)	—	6,905.13	—	—	7,036.68	—
II 群	牛 4 (雄)	—	4,286.18	—	—	4,977.43	—
	牛 5 (雌)	—	—	3,512.40	—	—	5,305.00
	牛 6 (雌)	14,619.27	—	—	9,541.35	—	—
平均		10,353.86	5,595.66	3,597.80	9,313.12	6,007.06	4,977.57

LOQ (定量限界) : 100 ng/g (気管支分泌物)、50 ng/g (肺組織)

— : 測定試料なし

⑥ 薬物動態試験 (牛)

ほ乳期の子牛 (ホルスタイン種、5~8 週齢、体重 54~85 kg、雄 8 頭) に、PMT を単回頸部皮下投与 (18% w/v、4 mg/kg 体重) する薬物動態試験が実施された。投与前及び投与後 0.25 時間から最大 672 時間までの 21 時点で血漿を採取し、HPLC-MS/MS を用いて PMT 濃度を測定した。

結果を表 24 に示した。

PMT は速やかに吸収され、投与後 0.5 時間未満で C_{max} に達した後、緩やかに減少し、投与後 672 時間においても LOQ を超える濃度の PMT が検出された。 $MRT_{(0-LOQ)}$ は約 183 時間で、比較的長期にわたる血漿中 PMT の滞留が示された。(参照19)

表 24 子牛における PMT 単回頸部皮下投与後の血漿中薬物動態パラメーター

薬物動態パラメーター	平均 ± 標準偏差 (n=8)
C _{max} (ng/mL)	803.38 ± 264.33
T _{max} (h)	0.47 ± 0.25
AUC _(0-LOQ) ^a (h・ng/mL)	18,229.70 ± 4,595.18
AUC _{infinity} ^b (h・ng/mL)	21,786.59 ± 8,343.35
AUC_%Extrapolated ^c (%)	13.47 ± 10.87
MRT _(0-LOQ) ^d (h)	183.14 ± 69.67

LOQ (定量限界) : 10 ng/mL (血漿)

a : 投与 0 時から LOQ 以上の最終時点までの AUC

b : 投与 0 時から無限時間まで外挿した AUC

c : LOQ 以上の最終時点から無限時間までの AUC 予測値の b に占める割合

d : 投与 0 時から LOQ 以上の最終時点までの MRT

⑦ 薬物動態試験 (牛)

牛 (ホルスタイン種、5~6 か月齢、体重 161~188 kg、雄 6 頭/群) に、PMT を単回頸部皮下投与 (18% w/v、4 mg/kg 体重) 又は単回静脈内投与 (18% w/v、2 mg/kg 体重) する薬物動態試験が実施された。投与前及び投与後 0.08 時間から最大 504 時間までの 21 時点で血漿を採取し、HPLC-MS/MS を用いて PMT 濃度を測定した。

結果を表 25 に示した。

皮下投与後、PMT は速やかに吸収され、高いバイオアベイラビリティ (78.9%)⁵ が示された。皮下投与、静脈内投与のいずれにおいても、投与後 504 時間において LOQ を超える濃度の PMT が検出され、MRT_(0-LOQ) はそれぞれ皮下投与で約 145 時間、静脈内投与で 152 時間であり、比較的長期にわたる血漿中 PMT の滞留が示された。(参照20)

⁵ 78.9% = (皮下投与 AUC_(0-LOQ)/静脈内投与 AUC_(0-LOQ)) × (静脈内投与量/皮下投与量) × 100

表 25 牛における PMT 単回皮下投与及び単回静脈内投与後の血漿中薬物動態パラメーター

薬物動態 パラメーター	頸部皮下投与群： 4 m/kg 体重 (n=6)	静脈内投与群： 2 mg/kg 体重 (n=6)
C _{max} (ng/mL)	638.50 ± 196.9	2,191.19 ± 200.18
T _{max} (h)	0.38 ± 0.13	0.08 ± 0.00
AUC _{(0-LOQ)^a} (h·ng/mL)	17,231.48 ± 1,168.82	10,920.53 ± 520.91
AUC _{infinity^b} (h·ng/mL)	20,253.54 ± 1,152.15	13,883.10 ± 738.58
AUC_%Extrapolated ^c (%)	14.97 ± 1.62	21.27 ± 2.95
MRT _{(0-LOQ)^d} (h)	144.74 ± 3.55	152.13 ± 22.40
T _{1/2} (h)	—	237.71 ± 45.79
Cl (mL/h/kg)	—	144.45 ± 7.39
V ^e	—	49,400.69 ± 9,216.94

平均 ± 標準偏差 LOQ (定量限界) : 10 ng/mL (血漿) — : 未算出

a : 投与 0 時から LOQ 以上の最終時点までの AUC

b : 投与 0 時から無限時間まで外挿した AUC

c : AUC 以上の最終時点から無限時間までの AUC 予測値の b に占める割合

d : 投与 0 時から LOQ 以上の最終時点までの MRT

e : 分布容積 (Volume of Distribution)

⑧ *in vitro* 動物血漿タンパク質結合率に関する試験 (豚、牛)

in vitro における動物血漿タンパク質結合試験が実施された。

PMT (0.1、1、10 又は 50 µg/mL) を添加した豚及び牛の血漿における血漿タンパク質結合率を平衡透析法により算出した。独立した 2 試料を 4 時間培養後、アセトニトリルを加えた後、遠心分離し、上清について、HPLC-MS/MS を用いて各 3 回測定した。

結果を表 26 に示した。

PMT の血漿タンパク質結合率は豚及び牛ではそれぞれ約 30% であった。また、血漿タンパク質結合率に濃度依存性はみられなかった (参照 2、8、10)。

表 26 豚及び牛の血漿における PMT 血漿タンパク質結合率 (%)

添加濃度(µg/mL)	豚	牛
0.1	33.1	36.4
1	56.3	26.4
10	20.9	32.4
50	13.9	21.7
平均値	31.1	29.2

n=2 3 回測定

2. 残留試験

(1) 残留試験 (豚①)

豚 (交雑種、3 か月齢、去勢雄及雌各 2 頭/時点 (対照群 : 去勢雄 1 頭/時点)) に PMT 製剤を単回頸部筋肉内投与 (40 mg(力価)/mL、有効成分 38.8 mg(力価)/mL、PMT として 3.9~4.0 mg(力価)/kg 体重) する残留試験が実施された。

投与 4、8、12、16、24 及び 32 日後に組織を採取し、HPLC-MS/MS を用いて組織中 PMT 濃度を測定した (LOQ : 0.05 µg/g、検出限界 (LOD) : 0.02 µg/g)。

結果を表 27 に示した。

組織中残留濃度は、投与 4 日後では、投与部位筋肉が他の組織と比較して最も高く、以下、腎臓、肝臓、肺、小腸、脂肪、投与部位周辺筋肉、筋肉の順であった。各組織中の残留濃度は投与後の時間経過に伴い減少し、32 日後には投与部位周辺筋肉、筋肉及び脂肪において、筋肉での 1 例を除き LOQ 未満となった。(参照 2、21)

表 27 豚における PMT 製剤単回筋肉内投与後の組織中残留濃度 (µg/g)

組織	投与後日数					
	4	8	12	16	24	32
肝臓	3.912 ±0.638	3.153 ±0.871	2.345 ±0.308	1.360 ±0.289	0.611 ±0.217	0.304 ±0.116
腎臓	9.572 ±1.800	5.336 ±0.955	3.939 ±1.571	2.207 ±0.312	1.196 ±0.453	0.629 ±0.087
肺	3.007 ±0.553	1.729 ±0.458	0.989 ±0.203	0.603 ±0.188	0.329 ±0.094	0.129 ±0.087
小腸	1.278 ±0.280	0.926 ±0.101	0.574 ±0.037	0.379 ±0.106	0.176 ±0.057	0.137 ±0.041
筋肉	0.564 ±0.070	0.327 ±0.075	0.201 ±0.083	0.092 ±0.036	0.066 ±0.017	<LOQ (3) 、 0.107 (1)
脂肪	0.662 ±0.049	0.386 ±0.039	0.221 ±0.014	0.114 ±0.031	<LOQ (3) 、 0.054 (1)	<LOQ
投与部位 筋肉	10.812 ±3.289	6.678 ±1.922	3.220 ±1.212	0.763 ±0.442	0.399 ±0.154	0.270 ±0.132
投与部位 周辺筋肉	0.654 ±0.129	0.483 ±0.088	0.209 ±0.051	0.267 ±0.177	<LOQ (1) 、 0.141 (1) 、 0.082 (1) 、 0.106 (1)	<LOQ

n=4 平均値±標準偏差 LOQ 未満を含むものについては、各値と括弧内に例数を記載した。

(2) 残留試験 (豚②)

豚 (交雑種 (LW)、9 週齢、去勢雄及び雌各 2 頭/時点 (対照群 : 去勢雄 1 頭/時点)) に PMT 製剤を単回頸部筋肉内投与 (40 mg(力価)/mL、有効成分 38.8 mg(力価)/mL、PMT として 4.0~4.1 mg(力価)/kg 体重) する残留試験が実施された。

投与 4、8、12、16、24 及び 32 日後に組織を採取し、HPLC-MS/MS を用いて PMT 濃度を測定した (LOQ : 0.05 µg/g、LOD : 0.02 µg/g)。

結果を表 28 に示した。

組織中残留濃度は、投与 4 日後では、投与部位筋肉が最も高く、以下、腎臓、肝臓、投与部位周辺筋肉、小腸、脂肪、筋肉の順であった。各組織中の残留濃度は投与後の時間経過に伴い減少し、12 日後には筋肉で、24 日後にはこれに加え脂肪で、32 日後には小腸で、それぞれ LOQ 未満例がみられた。(参照 2、22)

表 28 豚における PMT 製剤単回筋肉内投与後の組織中残留濃度 (µg/g)

組織	投与後日数					
	4	8	12	16	24	32
肝臓	3.592 ±0.650	3.406 ±2.889	1.792 ±0.291	1.313 ±0.253	1.019 ±0.514	0.474 ±0.062
腎臓	9.070 ±1.766	4.741 ±1.038	2.633 ±0.912	2.146 ±0.528	1.117 ±0.373	0.736 ±0.262
小腸	0.901 ±0.131	0.478 ±0.115	0.311 ±0.035	0.233 ±0.018	0.124 ±0.031	LOQ (1) 、 0.090 (2) 、 0.155 (1)
筋肉	0.385 ±0.088	0.189 ±0.042	<LOQ (1) 、 0.061 (1) 、 0.127 (1) 、 0.075 (1)	<LOQ (2) 、 0.052 (1) 、 0.079 (1)	<LOQ (4)	<LOQ (4)
脂肪	0.501 ±0.144	0.236 ±0.017	0.102 ±0.044	0.100 ±0.048	<LOQ (1) 、 0.055 (1) 、 0.058 (1) 、 0.061 (1)	<LOQ (3) 、 0.090 (1)
投与部位 筋肉	10.414 ±1.119	4.778 ±1.953	3.079 ±0.892	2.307 ±0.771	0.922 ±0.487	0.577 ±0.380
投与部位 周辺筋肉	0.978 ±0.435	0.507 ±0.245	0.694 ±0.764	0.389 ±0.300	0.322 ±0.152	0.489 ±0.425

n=4 平均値±標準偏差 LOQ 未満を含むものについては、各値と括弧内に例数を記載した。

(3) 残留試験 (豚③)

豚 (品種不明、9~14 週齢、去勢雄及び雌各 3 頭/時点) に PMT を単回頸部筋肉内投与 (4 mg/kg 体重、PMT として 40 mg(力価)/mL) する残留試験が実施された。

投与 4、8、12 及び 16 日後に組織を採取し、SPE-HPLC-MS/MS を用いて組織中の未変化体 PMT 濃度を測定した (LOQ : 0.05 µg/g)。

結果を表 29 に示した。(参照 8、23)

表 29 豚における PMT 単回頸部筋肉内投与後の組織中残留濃度 (µg/g)

組織	投与後日数			
	4	8	12	16
肝臓	4.145±0.418	3.125±0.668	2.634±0.428	1.928±0.360
腎臓	11.320±2.192	5.588±0.921	3.630±0.756	2.390±0.448
筋肉	0.328±0.066	0.139±0.032	0.106±0.020	0.068±0.026
脂肪付き皮膚	0.721±0.120	0.365±0.085	0.304±0.086	0.184±0.036
投与部位筋肉	8.694±2.776	4.419±0.888	2.640±0.984	1.761±0.237
投与部位周辺筋肉	0.818±0.312	0.765±0.552	1.014±0.586	0.409±0.227

n=6 平均値±標準偏差

(4) 残留試験 (豚④)

豚 (品種不明、8 頭、体重 14~20 kg) に ¹⁴C-PMT を単回頸部筋肉内投与 (5 mg/kg 体重、4% w/v、pH 7.5) する残留試験が実施された。投与 7、14、21 及び 28 日後に

組織を採取し、TRR を測定し、また、SPE-HPLC-MS/MS を用いて未変化体 PMT 濃度を測定した（未変化体 PMT 濃度の LOQ : 50 µg/kg）。

結果を表 30 に示した。（参照 8）

表 30 豚における ¹⁴C-PMT 単回頸部筋肉内投与後 28 日までの最高残留濃度の推移（最小値及び最大値）

組織	TRR (µg eq/kg)	未変化体濃度 (µg/kg) ^a
肝臓	1,734~7,430	845~4,846
腎臓	1,796~12,922	1,072~9,992
筋肉	62~454	<LOQ~285
脂肪付き皮膚	75~331	65~389
投与部位筋肉	796~6,436	575~4,086

a : SPE-HPLC-MS/MS (LOQ : 50 µg/kg) で測定

(5) 残留試験 (豚⑤)

豚（品種不明、20 頭、体重 14~21.5 kg）に ¹⁴C-PMT を単回頸部筋肉内投与（5 mg/kg 体重、4% w/v、pH 5.5）する残留試験が実施された。投与 3、7、14、21 及び 28 日後に組織を採取し、TRR を測定し、また、SPE-HPLC-MS/MS を用いて未変化体 PMT 濃度を測定した（未変化体 PMT 濃度の LOQ : 50 µg/kg）。

結果を表 31 に示した。（参照 8）

表 31 豚における ¹⁴C-PMT 単回頸部筋肉内投与後 28 日までの最高残留濃度の推移（最小値及び最大値）

組織	TRR (µg eq/kg)	未変化体濃度 (µg/kg) ^a
肝臓	2,794~9,310	577~3,849
腎臓	2,026~20,225	883~12,425
筋肉	57~946	<LOQ~537
脂肪付き皮膚	69~741	<LOQ~559
投与部位筋肉	730~8,464	246~5,395

a : SPE-HPLC-MS/MS (LOQ : 50 µg/kg) で測定

(6) 残留試験 (牛①)

牛（交雑種、体重 87.5~112.5 kg、雌雄各 4 頭）に、¹⁴C-PMT を単回頸部皮下投与（4 mg/kg 体重、18% w/v、pH 7.5）する残留試験が実施された。投与後 7、14、28 及び 35 日に雌雄各 1 頭から組織を採取し、LSC を用いて TRR を測定し、SPE-HPLC-MS/MS を用いて未変化体 PMT 濃度を測定した。また、投与後 14 日に採材する雌雄各 1 頭を代謝ケージに個別収容し、投与後 14 日まで 1 日 1 回採取した尿及び糞中の TRR を LSC を用いて測定した。

結果を表 32 に示した。

¹⁴C-PMT の尿及び糞中への排泄は緩やかで、全投与量に対する投与後 14 日までの排出量は糞中で約 31%、尿中で約 18%であった。

TRR は概して肝臓で高値を示し、筋肉では全時点で低値であった。PMT 濃度は投

与部位で最高値を示し、投与 35 日後においても肝臓、腎臓及び投与部位において比較的高い値を維持した。(参照24)

表 32 牛における ¹⁴C-PMT 単回頸部皮下投与後の組織中残留濃度^a

組織	投与後日数			
	7	14	28	35
肝臓	16,577	11,219	8,103	6,708
	9,841	6,173	2,321	2,368
腎臓	13,992	10,018	5,082	4,238
	12,430	7,123	2,870	2,547
腎周囲脂肪	2,637	2,322	963	719
	3,477	2,100	762	549
筋肉	701	356	237	181
	418	229	102	108
投与部位	9,106	19,119	6,291	3,879
	3,351	9,429	4,178	3,370

n=2

a : 上段は TRR (μg eq/kg)、下段は PMT 濃度 (μg/kg)

LOQ : 50 μg/kg

(7) 残留試験 (牛②)

牛 (交雑種、体重 141.5~227 kg、雌雄各 2 頭/時点) に、¹⁴C-PMT を単回頸部皮下投与 (4 mg/kg 体重、18% w/v、pH 5.5) する残留試験が実施された。投与後 3、7、21、35、49 及び 63 日に組織を採取して、LSC を用いて TRR を、SPE-HPLC-MS/MS を用いて未変化体 PMT 濃度を測定した。また、投与後 63 日に採材する雌雄各 2 頭を代謝ケージに個別収容し、投与 14 日後まで 1 日 1 回採取した尿及び糞中の TRR を LSC を用いて測定した。さらに、採取した組織並びに尿及び糞について、ラジオ HPLC 分析及び質量分析を行い、代謝物のプロファイリングを行った。

結果を表 33~表 36 に示した。

¹⁴C-PMT の尿及び糞中への排泄は比較的緩やかで、全投与量に対する投与後 14 日までの排出量は糞中で約 40%、尿中で約 24%であった。

TRR は、投与後 7 日以降、肝臓で高値を示し、次いで腎臓及び投与部位であった。腎周囲脂肪及び筋肉では全時点で低値を示した。PMT 濃度は投与部位で高値を示し、肝臓及び腎臓では投与部位よりもやや低値で同程度を示した。腎周囲脂肪及び筋肉は投与後 3 日から一貫して低値を示し、筋肉は投与 35 日後以降 LOQ 未満となった。

各組織並びに尿及び糞中の同定された主要な残留物は PMT 未変化体であった。また、PMT 還元体の S-システイン抱合体、脱メチル化 PMT 及びその他の微量代謝物がみられた。(参照25)

表 33 牛における ^{14}C -PMT 単回頸部皮下投与後の排泄物中濃度 (%投与量)

投与後日数	尿	糞
1	10.45 ± 0.77	10.53 ± 2.92
2	3.53 ± 0.52	8.20 ± 0.48
3	1.69 ± 0.49	4.10 ± 0.14
4	1.33 ± 0.21	3.24 ± 1.61
5	0.99 ± 0.45	2.53 ± 0.39
6	0.90 ± 0.27	1.80 ± 0.19
7	0.90 ± 0.17	1.36 ± 0.18
8	0.71 ± 0.20	1.49 ± 0.19
9	0.61 ± 0.17	1.36 ± 0.32
10	0.63 ± 0.17	1.02 ± 0.10
11	0.50 ± 0.17	1.12 ± 0.16
12	0.51 ± 0.14	0.94 ± 0.16
13	0.44 ± 0.19	0.88 ± 0.16
14	0.42 ± 0.19	1.64 ± 0.85
合計	23.61 ± 3.11	40.23 ± 5.13

n=4 平均値±標準偏差 LOQ : 50 µg/kg

表 34 牛における ^{14}C -PMT 単回頸部皮下投与後の組織中残留濃度^a

組織	投与後日数					
	3	7	21	35	49	63
肝臓	23,706	28,852	18,215	10,660	7,749	4,552
	12,323	9,321	3,834	2,805	1,228	971
腎臓	21,613	19,753	7,689	3,549	2,127	1,443
	16,193	13,969	4,774	1,989	1,083	586
腎周囲脂肪	789	577	435	269	144	124
	815	572	409	228	106	99
筋肉	1,176	654	276	169	96	76
	737	324	131	<LOQ	<LOQ	<LOQ
投与部位	42,030	23,842	5,426	3,877	3,463	2,388
	30,780	14,418	3,218	2,873	2,952	1,614

n=4 LOQ : 50 µg/kg

a : 上段は TRR (µg eq/kg)、下段は PMT 濃度 (µg/kg)

表 35 牛における ¹⁴C-PMT 単回頸部皮下投与後の推定代謝物の組織中残留濃度 (%TRR)

組織 ^a	未変化体 及び推定 代謝物	投与後日数							
		7		21		49		63	
		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
肝臓	PMT	40.31	41.51	27.16	31.40	23.20	21.90	22.41	23.82
	L1	0.57	4.49	3.64	<LOQ	<LOQ	1.40	4.39	4.88
	L2	0.92	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
腎臓	PMT K1~K6	66.20	65.20	34.95	41.81	36.90	40.49	—	—
	Polar	<LOQ	<LOQ	2.97 0.15	3.17 <LOQ	6.90 <LOQ	1.99 <LOQ	—	—
腎周囲脂肪	PMT	34.10	40.39	—	—	—	—	—	—
	RF1	<LOQ	7.21	—	—	—	—	—	—
筋肉	PMT	57.45	61.23	—	—	—	—	—	—
	M1	8.20	7.57	—	—	—	—	—	—
	M2	1.04	<LOQ	—	—	—	—	—	—
投与部位	PMT	46.07	38.65	47.22	46.47	57.30	58.04	61.00	66.50
	IS1	2.19	3.17	<LOQ	1.71	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
	IS2	12.13	10.79	6.28	2.59	2.90	3.36	<LOQ	<LOQ
	IS3	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0.94	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ

LOQ : 50 µg/kg

— : 測定試料なし

a : 各時点で性別ごとにプールしたものを測定試料とした。

未変化体及び推定代謝物 : PMT (未変化体)、L1 (脱メチル化 PMT、ジヒドロキシ PMT 及び S シス테인 抱合体)、L2 (未同定代謝物)、K1 - K6 (未同定代謝物)、Polar (極性未知代謝物)、RF1 (未同定代謝物)、IS1 (未同定代謝物)、IS2 (脱メチル化 PMT 及び S シス테인抱合体)、IS3 (未同定代謝物)、M1 (脱メチル化 PMT 及び S シス테인抱合体)、M2 (未同定代謝物)

表 36 牛における ¹⁴C-PMT 単回頸部皮下投与後の推定代謝物の排泄物中濃度^a

試料 ^b	未変化体及び推定代謝物	投与後時間					
		0~48		48~96		288~336	
		雄	雌	雄	雌	雄	雌
尿	PMT	1.29	12.48	<LOQ	2.62	<LOQ	1.15
		9.80	84.36		73.04		89.42
	U1	3.47	<LOQ	1.15	0.12	0.27	<LOQ
		26.32		36.50	3.45	29.94	
	U2	3.71	<LOQ	1.77	<LOQ	0.58	<LOQ
		28.19		56.00		66.96	
U3	2.76	1.09	<LOQ	0.46	<LOQ	<LOQ	
	20.98	7.34		12.86			
U4/U5	<LOQ	<LOQ	0.05	<LOQ	<LOQ	<LOQ	
			1.63/1.72				
Polar	1.04	<LOQ	0.06	0.08	<LOQ	0.10	
	7.90		2.06	2.37		8.18	
糞	PMT	9.24	7.91	4.36	2.71	1.25	0.63
		43.26	47.72	52.32	41.59	51.00	45.90
	F1-F8	<LOQ~	<LOQ~	<LOQ~	<LOQ~	<LOQ	<LOQ
		0.51	1.71	0.10	0.94		
Polar	<LOQ~	<LOQ~	<LOQ~	<LOQ~	<LOQ	<LOQ	
	2.39	10.30	1.18	14.41			
Polar	0.07	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	
	0.33						

LOQ : 50 µg/kg

a : 上段は投与量に対する%、下段は%TRR

b : 各時点で性別毎にプールしたものを測定試料とした。

未変化体及び推定代謝物 : PMT (未変化体)、U1 及び U2 (還元 PMT 硫酸抱合体並びに還元及び水和 (又は開環) PMT 硫酸抱合体)、U3 (還元 PMT 硫酸抱合体)、U4 及び U5 (未同定代謝物)、Polar (極性未知代謝物)、F1 - F8 (未同定代謝物)

(8) 残留試験 (牛③)

牛 (ホルスタイン種、約 9 か月齢、体重 : 312~346 kg (雄) ; 298~348 kg (雌)、雌雄各 2 頭/時点) に PMT を単回頸部皮下投与 (4 mg/kg 体重、18% w/v) する残留試験が実施された。投与後 9、18、27、36、45、54 及び 63 日に組織を採取し、SPE-HPLC-MS/MS を用いて PMT 濃度を測定した。

結果を表 37 に示した。

PMT 濃度はいずれの測定組織においても投与後 9 日で最も高く、その後漸減したが、投与部位及び投与部位周辺筋肉では投与後 45 日以降 63 日まで PMT 濃度はおおむね同程度の値で推移した。全測定時点において、PMT 濃度は投与部位又は投与部位周辺筋肉で高く、次いで腎臓、肝臓、腎周囲脂肪及び筋肉であった。また、全測定時点において、筋肉での PMT 濃度は投与部位及び投与部位周辺筋肉における濃度の約 6%未満であった。(参照26)

表 37 牛における PMT 単回頸部皮下投与後の PMT 濃度 (µg/kg)

組織	投与後日数						
	9	18	27	36	45	54	63
肝臓	5,525 ±1,284	2,832 ±779.6	2,370 ±339.0	1,580 ±330.5	1,153 ±322.0	693.0 ±142.8	600.4 ±100.6
腎臓	8,601 ±1,420	4,425± 888.7	4,791 ±2,393	2,269 ±558.9	1,522 ±339.8	996.2 ±257.7	696.3 ±40.37
腎周囲脂肪	460.7 ±133.0	290.7 ±105.6	178.5 ±62.23	131.4 ±37.87	77.84 ±39.50	50.78 ±18.54	25.00 ±0.00
筋肉	324.3 ±60.22	167.0 ±40.12	126.8 ±21.47	92.48 ±7.76	67.58 ±11.19	38.11 ±15.16	25.00 ±0.00
投与部位	36,690 ±5,561	13,260 ±6,884	7,119 ±2,903	2,552 ±1,920	1,359 ±569.8	1,542 ±932.8	1,333 ±138.5
投与部位 周辺筋肉	9,439 ±2,800	5,106 ±1,227	4,652 ±2,286	3,686 ±2,262	2,118 ±1,276	1,748 ±1,336	2,124 ±1,209

n=4 平均値±標準偏差 (有効数字を4桁とした。) LOQ : 50 µg/kg

<LOQ は、1/2LOQ として平均値を計算した。

3. 遺伝毒性試験

PMT の遺伝毒性試験の結果を表 38 に示した。

表 38 PMT の遺伝毒性試験結果

試験	対象	用量等	結果	参照	
<i>in vitro</i>	復帰突然変異試験 <i>Salmonella typhimurium</i> (TA98, TA100, TA1535, TA1537) <i>Escherichia coli</i> (WP2 <i>uvrA</i>)	0.256、0.8、2.56、8.0、25.6 ^a 、80.0 ^a µg/plate (±S9) (L-酒石酸塩としての濃度 (>62.54% PMT))	陰性	2、11、27	
		<i>S. typhimurium</i> (TA98, TA100, TA1535, TA1537) <i>E. coli</i> (WP2 <i>uvrA</i>)	0.256、0.8、2.56、8.0、25.6、80.0 ^a µg/plate (±S9) (L-酒石酸塩としての濃度 (>62.54% PMT)) (30℃、20～30 分前培養プレートに播種)		陰性
		<i>E. coli</i> (WP2 <i>uvrA</i>)	2.56、8.0、25.6、80.0 ^a 、144.0 ^a 、256.0 ^a µg/plate (+S9) (L-酒石酸塩としての濃度 (>62.54% PMT)) (30℃、20～30 分前培養プレートに播種)		陰性
	遺伝子突然変異試験	マウスリンフォーマ細胞 (L5178Y/ <i>Tk</i> ⁺)	試験 1 35.9、71.5、143、286、429、572 ^b µg/mL (-S9) 69.2、138、277、554、923、1,110 ^b µg/mL (+S9) >92.3% PMT 4 時間ばく露	陰性	2、28
試験 2-1 92.3、185、277、369、462、554 ^b µg/mL (-S9) 462、554、646、738、831、923 ^b µg/mL (+S9) >92.3% PMT 4 時間ばく露			陰性		
試験 2-2 92.3、185、369、738、1,110、1,480 ^b 、1,850 ^b µg/mL (-S9) >92.3% PMT 24 時間ばく露			陰性		
			39.1～5,000 µg/mL (±S9) 4 又は 24 時間ばく露	陰性	2、11、28

	染色体異常試験	ヒト末梢血リンパ球	試験 1-1 932.9、1,632.7、2,857.1 µg/mL (-S9) 1,632.7、2,857.1、5,000 µg/mL (+S9) 4 時間ばく露 >92.3% PMT	陰性	2、29
			試験 1-2 174.1、304.6、533.1 µg/mL (-S9) 22 時間ばく露 >92.3% PMT	陰性	
			試験 2-1 174.1、304.6、533.1 µg/mL (-S9) 46 時間ばく露 533.1、932.9、1,632.7 µg/mL (+S9) 4 時間ばく露 >92.3% PMT	陰性	
			試験 2-2 520、540、560、580、600 µg/mL (-S9) 46 時間ばく露 2,300、2,400、2,500 µg/mL (+S9) 4 時間ばく露 >92.3% PMT	陰性	
<i>in vivo</i>	小核試験	マウス骨髓細胞	437.5、875、1,750 mg/kg 24 時間後 1,750 mg/kg 48 時間後 >94.8% PMT	陰性 ^c	2、30

a : (一部菌株又は全菌株で) 生育阻害がみられた。

b : 高用量で細胞毒性がみられた。

c : 予備試験では 2,000 mg/kg 投与でマウス死亡 (雄 1/6 例、雌 2/6 例)

in vitro における復帰突然変異試験、遺伝子突然変異試験及び染色体異常試験並びに *in vivo* の小核試験の結果は全て陰性であった。

以上の結果から、食品安全委員会は、PMT には生体にとって特段問題となる遺伝毒性はないと判断した。

4. 急性毒性試験

PMT の急性毒性試験の結果を表 39 に示した。

表 39 PMT の急性毒性試験結果

動物種	性別	投与経路等	LD ₅₀ (mg/kg 体重)	参照
マウス	雌	経口 (L-酒石酸塩、 脱イオン水)	>1,700	2、31
マウス (参考資料 ⁶)	雌	静脈内 (クエン酸— 水和物水溶液)	6.25~12.5	2、32
ラット	雌	経口 (クエン酸—水 和物水溶液)	>2,000	2、33
	雌	経口 (クエン酸—水 和物水溶液)	>2,000	2、34
動物種	性別	投与経路	最大耐容量 (mg/kg 体重)	参照
イヌ (参考資料 ⁷)	雌雄	経口 (ゼラチンカプ セル)	200	2、35

5. 亜急性毒性試験

(1) 28 日間亜急性毒性試験 (ラット)

ラット (SD 系、6 週齢、雌雄各 5 匹/群) に PMT を 4 週間強制経口投与 (L-酒石酸塩、>62.5% PMT、PMT として 0、25、100 又は 400 mg/kg 体重/日) する亜急性毒性試験が実施された。

毒性所見を表 40 に示した。

試験実施者は NOEL を 25 mg/kg 体重/日とした。

EMA は、100 mg/kg 体重/日投与群でみられた竹馬様歩行並びに総タンパク質及びグロブリン濃度の低下に基づき試験実施者と同様に NOEL を 25 mg/kg 体重/日とし、FDA は、25 mg/kg 体重/日投与群でみられた活動量の上昇に基づき LOEL を 25 mg/kg 体重/日としている。(参照 2、8、11、36)

食品安全委員会は、25 mg/kg 体重/日投与群における活動量の上昇の所見に基づき、本試験における LOAEL を 25 mg/kg 体重/日とした。

⁶ 静脈内投与で実施されていることから、参考資料とした。

⁷ 亜急性毒性試験等の最大投与量設定のための単回経口投与の耐容試験であることから、参考資料とした。

表 40 ラットを用いた 4 週間亜急性毒性試験における毒性所見

投与量 (mg/kg 体重/日)	毒性所見	
	雄	雌
400		血清 Ca 濃度の低下
100 以上	総タンパク質濃度の低下	竹馬様歩行、うずくまり姿勢、総タンパク質濃度及びグロブリン濃度の低下
25 以上	活動量の上昇傾向 (100 mg/kg 体重/日まで)	活動量の上昇

(2) 13 週間亜急性毒性試験 (ラット)

ラット (Wistar Hannover/RCC 系、7 週齢、雌雄各 10 匹/群) に PMT を 13 週間強制経口投与 (>92.3% PMT、PMT として 0、20、60 又は 400 mg/kg 体重/日) する亜急性毒性試験が実施された。

毒性所見を表 41 に示した。

試験実施者は、60 mg/kg 体重/日投与群で投与終了付近に軽度又は一過性の臨床状態に関する所見がみられたことに基づき、NOEL を 20 mg/kg 体重/日と考えた。

EMA は、60 mg/kg 体重/日投与群でみられた眼球突出並びに咽頭上皮の空胞化及び過形成に基づき、試験実施者と同様に NOEL を 20 mg/kg 体重/日とし、FDA は、20 mg/kg 体重/日投与群でみられた活動量の上昇及び前肢グリップ力の低下の所見に基づき LOEL を 20 mg/kg 体重/日としている。(参照 2、8、11、37)

食品安全委員会は、20 mg/kg 体重/日投与群においてみられた活動量の上昇及び前肢グリップ力の低下の所見に基づき、本試験における LOAEL を 20 mg/kg 体重/日と判断した。

表 41 ラットを用いた 13 週間亜急性毒性試験における毒性所見

投与量 (mg/kg 体重/日)	毒性所見	
	雄	雌
400	<p>臨床状態： 活動低下、腹臥位、円背姿勢、立毛及び被毛粗剛、削瘦、摂餌量減少、体重減少</p> <p>血液検査： 赤血球数の増加、MCV 及び MCH の減少、白血球数（各分画を含め）増加、PT の延長、APTT の短縮</p> <p>血液生化学的検査： 総コレステロール、リン脂質、AST、ALT、LDH、GDH 及びリン濃度の増加、グロブリン濃度の減少</p> <p>尿検査： 尿量増加、尿比重及びタンパク質濃度の低下</p> <p>臓器重量： 甲状腺、肝臓、腎臓、副腎、脾臓の相対重量の増加</p> <p>病理検査等： 胃部及び噴門洞に鮮紅/暗赤色病変 心臓、大動脈、脾臓、腎臓、胃、肺、下顎腺、膵臓、甲状腺、骨格筋及び舌の血管内膜の空胞化/過形成、脳室、小脳及び延髄脈絡叢細胞の空胞化、心筋細胞のびまん性空胞化、骨格筋の変性、脾臓及び胸腺におけるリンパ系の枯渇/萎縮、腎移行上皮、下顎腺の分泌管、咽頭、鼻腔等における組織の空胞化及び過形成、リンパ系組織の萎縮等</p>	<p>臨床状態： 活動低下、円背姿勢、削瘦、摂餌量減少、体重減少</p> <p>血液検査： Hb 及び血小板数の増加、白血球数（各分画を含め）増加、PT の延長、APTT の短縮</p> <p>血液生化学的検査： 総コレステロール、リン脂質、AST、ALT、LDH、GDH 及びリン濃度の増加、TG 及び Ca の増加</p> <p>尿検査： 尿量増加</p> <p>臓器重量： 肝臓、腎臓、脾臓の絶対及び相対重量の増加</p> <p>病理検査等： 胃部及び噴門洞に鮮紅/暗赤色病変 心臓、大動脈、脾臓、腎臓、胃、肺、下顎腺、膵臓、甲状腺、骨格筋及び舌の血管内膜の空胞化/過形成、脳室、小脳及び延髄脈絡叢細胞の空胞化、心筋細胞のびまん性空胞化、骨格筋の変性、脾臓及び胸腺におけるリンパ系の枯渇/萎縮、腎移行上皮、下顎腺の分泌管、咽頭、鼻腔等における組織の空胞化及び過形成、リンパ系組織の萎縮等</p>
60 以上	<p>臨床状態： 眼球突出</p> <p>病理組織学的検査等： 咽頭上皮の空胞化及び過形成</p>	<p>臨床状態： 眼球突出、流涎</p> <p>病理組織学的検査等： 咽頭上皮の空胞化及び過形成</p>
20 以上	<p>活動量の上昇 (60 mg/kg 体重/日まで) 前肢グリップ力低下</p>	<p>活動量の上昇 (60 mg/kg 体重/日まで)</p>

(3) 亜急性毒性試験 (イヌ) (参考資料⁸)

イヌを用いた 4 週間亜急性毒性試験 (II の 5 の (4)) における反復投与用量を決定するため、イヌ (ビーグル種、9 か月齢、雌雄各 1 頭) に PMT を間欠漸減経口投与 (>92.3% PMT、ゼラチンカプセル入り：150、200 又は 300 mg/kg 体重/日) 及び 7 日間反復経口投与 (>92.3% PMT、ゼラチンカプセル入り：200 mg/kg 体重/日) する亜急性毒性試験が実施された。

試験の実施日程及び毒性所見を表 42 及び表 43 に示した。

⁸ 4 週間亜急性毒性試験 (イヌ) (II の 5 の (4)) の用量設定試験であることから、参考資料とした。

間欠漸減経口投与試験では、300 mg/kg 体重/日投与時に雌で中枢神経系への影響がみられ、200 mg/kg 体重/日投与後の雌雄において、300 mg/kg 体重/日投与時と同様であるが、やや軽度の所見がみられた。150 mg/kg 体重/日投与時の雌では流涎及び嘔吐が投与2日目にみられた。

7日間反復経口投与試験では、雌雄で中枢神経系への影響並びに摂餌量及び体重の減少の影響がみられたが、心電図への影響はみられなかった。

これらの結果から、試験実施者は、300 mg/kg 体重/日の投与では明らかな急性毒性所見を示すが、200 mg/kg 体重/日投与群でみられた所見は一過性であると考え、PMTの最大耐容量を200 mg/kg 体重/日であるとした。(参照2、8、35)

表 42 イヌを用いた間欠漸減経口投与試験 (300、200 及び 150 mg/kg 体重/日) における毒性所見

投与日	処置・投与量 (mg/kg 体重/日)	主な所見
1	300	雌：活動量低下、振戦、嘔吐、横臥、流涎、虚脱、摂餌量減少 (1~2 時間後にみられ、4 時間後には消失)
2~5	休止	
6~7	200	雄：振戦、奇声 (クンクン鳴く : Whimpering)、驚愕・恐怖行動、摂餌量減少 雌：活動量低下、振戦、嘔吐、横臥、流涎、摂餌量減少、体重減少
8	休止	
9~10	150	雌：流涎、嘔吐、摂餌量減少、体重減少 (2 日目にみられた)

表 43 イヌを用いた 7 日間亜急性毒性試験 (200 mg/kg 体重/日) の毒性所見

投与量 (mg/kg 体重/日)	主な所見	
	雄	雌
200	活動量低下、流涎、振戦、横臥、嘔吐、異常歩行、異常行動、摂餌量減少、体重減少	活動量低下、流涎、振戦、横臥、嘔吐、虚脱、異常歩行、異常行動、摂餌量減少、体重減少

(4) 4 週間亜急性毒性試験 (イヌ)

イヌ (ビーグル種、月齢不明、雌雄各 4 頭/群) に PMT を 4 週間経口投与 (>93.0% PMT、ゼラチンカプセル入り : 0、20、60 又は 180 mg/kg 体重/日) する亜急性毒性試験が実施された。

毒性所見を表 44 に示した。

試験実施者は、20 mg/kg 体重/日投与群の雌 1 頭でみられた心臓の限局性動脈炎及び動脈周囲炎は、ビーグル種で自然発生でもみられる所見であることから偶発的な所見であり、AST 及び ALT の変化についても肝臓の組織変化を伴わないことから毒性所見とせず、本試験における NOEL を 20 mg/kg 体重/日と考えた。

EMA は、20 mg/kg 体重/日投与群でみられた振戦並びに雌 1 頭でみられた心臓の限局性動脈炎及び動脈周囲炎の変化を毒性所見とし、LOEL を 20 mg/kg 体重/日としている。(参照 2、8、38)

食品安全委員会は、60 mg/kg 体重/日以上投与群における甲状腺の動脈中膜の空胞化等の所見に基づき、本試験における NOAEL を 20 mg/kg 体重/日と判断した。

表 44 イヌを用いた 4 週間亜急性毒性試験における主な毒性所見

投与量 (mg/kg 体重/日)	毒性所見	
	雄	雌
180	臨床状態： 流涎、活動性低下、粘液便及び嘔吐、運動低下、旋回、竹馬様歩行、体重減少等 眼底検査： タペタムの脱色 心電図検査： 心拍数増加、Q-T 間隔の延長、P 波持続時間の短縮等 血液学的検査： 赤血球数、Hb 及び Ht の増加、血小板数の減少 血液生化学的検査： Ca、総タンパク質及びアルブミン値の増加、GDH の増加 剖検時検査： 腸間膜リンパ節の暗赤色/赤色変化 病理組織学的検査： 動脈、甲状腺、心臓、肝臓、背根神経節等の細胞の空胞化、大脳、筋肉等におけるリンパ系細胞の浸潤、筋線維及び腰部神経根の線維化、胸腺の萎縮等	臨床状態： 流涎、活動性低下、粘液便及び嘔吐、運動低下、体重減少等 眼底検査： タペタムの脱色 心電図検査： Q-T 間隔の延長、P 波持続時間の短縮等 血液学的検査： 赤血球数、Hb 及び Ht の増加、血小板数の減少 血液生化学的検査： 総タンパク質及びアルブミン値の増加 剖検時検査： 腸間膜リンパ節の暗赤色/赤色変化 病理組織学的検査： 動脈、甲状腺、心臓、肝臓、背根神経節等の細胞の空胞化、大脳、筋肉等におけるリンパ系細胞の浸潤、筋線維及び腰部神経根の線維化、胸腺の萎縮等
60 以上	血液生化学的検査： AST、ALT の増加 病理組織学的検査： 胆嚢、甲状腺における動脈中膜の空胞化、肝細胞グリコーゲン沈着、膀胱におけるリンパ系細胞浸潤等	血液生化学的検査： AST、ALT の増加 GDH の増加 病理組織学的検査： 胆嚢、副腎皮質における動脈中膜空胞化等
20	所見なし	所見なし

(5) 13 週間亜急性毒性試験 (イヌ)

イヌ (ビーグル種、6.5~7.5 か月齢、雌雄各 4 頭/群) に PMT を 13 週間経口投与 (>94.8% PMT、ゼラチンカプセル入り : 0、6、20 又は 60 mg/kg 体重/日) する亜急性毒性試験が実施された。

毒性所見を表 45 に示した。

試験実施者は、6 mg/kg 体重/日投与群を含む全ての投与群でみられた、情動不安、振戦等の臨床状態に関する所見について、用量相関性がみられず、一過性であり、中枢神経系の形態学的変化も伴っていないことから毒性所見とは判断せず、本試験における NOAEL を 6 mg/kg 体重/日とした。

EMA は、6 mg/kg 体重/日投与群でみられた臨床状態に関する所見について、II の 6 の (1) のイヌを用いた 55 週間長期毒性試験ではみられないことから毒性所見とせず、20 mg/kg 体重/日でみられた GDH 増加、舌動脈壁及び食道平滑筋細胞質の空胞化を毒性所見とし、NOEL を 6 mg/kg 体重/日とした。一方、FDA は、これら臨床状態に関する所見について毒性所見と判断し、LOEL を 6 mg/kg 体重/日としている。

(参照 2、8、11、39)

食品安全委員会は、6 mg/kg 体重/日投与群における、情動不安、振戦等の臨床状態の変化を毒性所見とし、本試験における LOAEL を 6 mg/kg 体重/日と考えた。

表 45 イヌを用いた 13 週間亜急性毒性試験における主な毒性所見

投与量 (mg/kg 体重/日)	毒性所見	
	雄	雌
60	臨床状態： 過剰な舐め行動 (excessive licking)、摂餌量減少、体重増加への影響 眼底検査： タペタムの脱色 心電図検査： Q-T 間隔及び QTc の延長、P-Q 間隔の短縮 剖検時検査： 肝臓、甲状腺及び胆嚢重量の増加 病理組織学的検査： ほぼ全ての組織の動脈の空胞化、平滑筋線維、副腎、背根神経節等の細胞質の空胞化、腎尿管上皮細胞の硝子滴蓄積、脾臓の髓外造血活性の増大及び甲状腺濾胞コロイドの増加	臨床状態： 摂餌量減少、体重増加減少 眼底検査： タペタムの脱色 心電図検査： Q-T 間隔及び QTc の延長、P-Q 間隔の短縮、心拍数の僅かな増加 剖検時検査： 肝臓、甲状腺、胆嚢重量及び下垂体重量の増加 病理組織学的検査： ほぼ全ての組織の動脈の空胞化、平滑筋線維、副腎、背根神経節等の細胞質の空胞化、腎尿管上皮細胞の硝子滴蓄積、脾臓の髓外造血活性の増大及び甲状腺濾胞コロイドの増加
20 以上	臨床状態： 呼吸促迫 (20 mg/kg 体重/日のみ)、流涎、奇声 血液生化学的検査： GDH 増加 病理組織学的検査： 舌動脈壁及び食道平滑筋細胞の空胞化	臨床状態： 横腹臥位、流涎、過剰な舐め行動 血液生化学的検査： GDH 増加 病理組織学的検査： 舌動脈壁及び食道平滑筋細胞の空胞化
6 以上	臨床状態： 情動不安、横・腹臥位、振戦	臨床状態： 呼吸促迫 (20 mg/kg 体重/日まで)、情動不安、振戦、奇声

6. 慢性毒性及び発がん性試験

発がん性試験は実施されていない。

(1) 55 週間慢性毒性試験 (イヌ)⁹

イヌ (ビーグル種、6~7 か月齢、雌雄各 4 頭/群) に PMT を 55 週間経口投与 (99.2 ~100.7% PMT、ゼラチンカプセル入り : 0、2 (4)¹⁰、10 又は 50 mg/kg 体重/日) する慢性毒性試験が実施された。なお、本試験の用量は、イヌを用いた 13 週間亜急性毒性試験 (II の 5 の (5)) の結果を踏まえ、NOEL の探索を目的に設定された。

結果を表 46 に示した。

試験実施者は、血液生化学値の変化、臓器重量の増加及び各種臓器における細胞の空胞化の毒性所見に基づき、本試験の NOEL を 10 mg/kg 体重/日と考えた。

EMA 及び FDA も同様に NOEL を 10 mg/kg 体重/日と判断した。(参照 2、8、11、40)

食品安全委員会は、50 mg/kg 体重/日投与群で血液生化学値の変化、臓器重量の増加及び各種臓器における細胞の空胞化がみられたが、10 mg/kg 体重/日投与群ではこれらの毒性所見はみられなかったことから、本試験の NOAEL を 10 mg/kg 体重/日と判断した。

⁹ 慢性毒性試験については、急性及び亜急性毒性試験においてラットよりもイヌの方が低い投与量で毒性所見が得られていること、亜急性毒性試験においてイヌでは病理検査で毒性所見が得られているがラットでは得られていないこと及び薬物動態試験で C_{max} 及び AUC がラットよりもイヌの方が高いことから、イヌでのみ実施されている。

¹⁰ 投与 0~21 日までは 2 mg/kg 体重/日が、22 日以降 4 mg/kg 体重/日が投与された。

表 46 イヌを用いた 55 週間慢性毒性試験における主な毒性所見

投与量 (mg/kg 体重/日)	毒性所見	
	雄	雌
50	臨床状態等： 摂餌量減少、体重低下 血液生化学的検査： AST 増加 臓器重量： 下垂体、甲状腺、胆嚢及び肝臓重量の増加 病理組織学的検査： ほとんどの組織の細胞の空胞化、脳神経系細胞の変性、甲状腺濾胞細胞の肥大、脾臓リンパ系の萎縮、尿細管の好塩基細胞の増加、腎盂炎発生頻度の増加	臨床状態等： 摂餌量減少、体重低下 血液生化学的検査： AST 増加、GDH 増加、A/G 比の減少、総タンパク質及びグロブリン濃度の増加 臓器重量： 下垂体、甲状腺、胆嚢及び肝臓、脾臓重量の増加 剖検時検査： 甲状腺肥大 病理組織学的検査： ほとんどの組織の細胞の空胞化、脳神経系細胞の変性、甲状腺濾胞細胞の肥大、脾臓リンパ系の萎縮、尿細管の好塩基細胞の増加、腎盂炎発生頻度の増加
10 以下	所見なし	所見なし

7. 生殖発生毒性試験

(1) 2 世代繁殖試験 (ラット)

ラット (Wistar Hannover/RCC 系、6 週齢、雌雄各 24 匹/群) に PMT を経口投与 (>93.4% PMT : 0、20、80 又は 320 mg/kg 体重/日) する 2 世代繁殖毒性試験が実施された。

結果を表 47 に示した。

試験実施者は本試験における親動物 (F₀ 及び F₁ 世代) の NOEL を 20 mg/kg 体重/日、繁殖能の NOEL を 80 mg/kg 体重/日、児動物 (F₁ 及び F₂ 世代) の NOEL を 80 mg/kg 体重/日とした。

EMA は、母動物の NOEL を甲状腺濾胞上皮細胞又は子宮血管中膜の空胞化に基づき 20 mg/kg 体重/日、繁殖能の NOEL を着床数及び産児数の減少に基づき 80 mg/kg 体重/日、児動物の NOEL を切歯萌出の僅かな遅延及び臓器重量の変化に基づき 80 mg/kg 体重/日とした。FDA は母動物及び繁殖能の NOEL について EMA と同様の判断を行っている。(参照 2、8、11、41)

食品安全委員会は、本試験における親動物 (F₀ 及び F₁ 世代) の NOAEL を 20 mg/kg 体重/日とし、繁殖能の NOAEL を正常精子の割合、着床数及び産児数の減少に基づき 80 mg/kg 体重/日、児動物 (F₁ 及び F₂ 世代) の NOAEL を切歯萌出の遅延及び脾臓重量の低下に基づき 80 mg/kg 体重/日とした。

表 47 ラットを用いた 2 世代繁殖試験における毒性所見

投与量 (mg/kg体重/ 日)		親 : F ₀ 、児 : F ₁		親 : F ₁ 、児 : F ₂	
		雄	雌	雄	雌
親	320	摂餌量減少、体重増加抑制 臓器重量増加、甲状腺腫大 各種組織細胞空胞化、甲状腺腫大 精巣上体腫大、正常精子の割合減少 ^a	摂餌量減少、体重増加抑制 臓器重量増加 各種組織細胞空胞化 着床数減少、産児数減少	摂餌量減少、体重増加抑制 臓器重量増加 各種組織細胞空胞化、甲状腺濾胞細胞肥大、精巣上体腫大、正常精子の割合減少 ^a	摂餌量減少、体重増加抑制 臓器重量増加 各種組織細胞空胞化 卵総重量の低下、原始卵胞数の減少 ^b 、 着床数減少、産児数減少
	80以上	精巣上体細胞空胞化	卵管細胞空胞化	甲状腺濾胞細胞空胞化 精巣上体細胞空胞化	卵管細胞空胞化
	20	毒性所見なし	毒性所見なし	毒性所見なし	毒性所見なし
児	320	体重/増加抑制 切歯萌出遅延	体重/増加抑制 切歯萌出遅延	体重/増加抑制	体重/増加抑制 脾臓重量低下（比脳重量）
	80以下	毒性所見なし	毒性所見なし	毒性所見なし	毒性所見なし

a : 精子尾部が離脱した頭部数の増加

b : 対照群と 320 mg/kg 体重/日投与群でのみ検査を実施

(2) 発生毒性試験（ラット）

ラット（Wistar Hannover 系、10 週齢、雌、22 匹/群）に PMT を妊娠 5~20 日（膈栓確認日＝妊娠 0 日）まで強制経口投与（>94.8% PMT、0、30、120 又は 480 mg/kg 体重/日）する発生毒性試験が実施された。交配後 21 日に剖検し、母動物及び胎児を検査した。

480 mg/kg 体重/日投与群において、妊娠 9~20 日の投与直後に全例が頭部を床敷中に押し込む行動がみられた。480 mg/kg 体重/日投与群において、摂餌量が減少し体重増加抑制がみられた。120 mg/kg 体重/日投与群においても、摂餌量の減少がみられた。

480 mg/kg 体重/日投与群においては、吸収胚・胎児数が増加した。

480 mg/kg 体重/日投与群においては、胎児重量の低値がみられ、頸椎及び距骨の骨化遅延がみられた。

これらの結果から、試験実施者は、母動物の NOEL を 30 mg/kg 体重/日、胎児の NOEL を 120 mg/kg 体重/日とし、催奇形性はみられないとした。

EMA は母動物の NOEL を摂餌量の減少に基づき 30 mg/kg 体重/日、胎児の NOEL を着床後の生存児数の減少に基づき 30 mg/kg 体重/日とし、催奇形性はないとしている。FDA は摂餌量の減少に基づき母動物の NOEL を 30 mg/kg 体重/日、胎児の NOEL を頸椎及び距骨の骨化不全に基づき 120 mg/kg 体重/日とし、催奇形性はないとしている。（参照 2、8、11、42）

食品安全委員会は、本試験において母動物では 480 mg/kg 体重/日投与群で体重増加抑制及び摂餌量の減少が観察されたことから、母動物の NOAEL を 120 mg/kg 体重/日、胎児では、480 mg/kg 体重/日投与群で胎児重量の低値等が認められたことから胎児の NOAEL を 120 mg/kg 体重/日とした。なお、480 mg/kg 体重/日投与群の胎児骨格観察において頸椎及び距骨の骨化遅延の発現が増加したが、胎児体重の低値に起因する二次的変化と考え、催奇形性はないと判断した。

(3) 発生毒性試験（ウサギ）

ウサギ（Himalayan 系、18～23 週齢、雌、20 匹/群）に PMT を妊娠 6～27 日（交尾確認日＝妊娠 0 日）まで経口投与（>94.8% PMT、0、10、30 又は 90 mg/kg 体重/日）する発生毒性試験が実施された。交配 28 日後に剖検し、母動物及び胎児を検査した。

90 mg/kg 体重/日投与群では、母動物の投与初期における体重増加抑制及び摂餌量減少がみられた。同群では胎児体重の低値がみられ、過剰肋骨（過剰肋軟骨を含む。）を有する胎児数が増加した。

なお、30 mg/kg 体重/日以上投与群において、第 5 指中指節骨の骨化遅延がみられているが、試験実施者は中指節骨の骨化遅延は背景データの範囲内であることから毒性所見としなかった。

これらの結果から、試験実施者は、本試験における母動物及び胎児の NOEL を 30 mg/kg 体重/日とし、催奇形性はみられなかったとした。

EMA は、摂餌量及び体重増加の抑制に基づき、母動物及び胎児の NOEL を 30 mg/kg 体重/日とし、催奇形性はないとしている。FDA は、母動物における NOEL については摂餌量の減少に基づき 10 mg/kg 体重/日とし、児動物の NOEL については第 5 指中指節骨の骨化遅延及び後脚帯の位置異常から 10 mg/kg 体重/日としている。

（参照 2、8、11、43）

食品安全委員会は、90 mg/kg 体重/日投与群でみられた母動物の体重増加抑制及び摂餌量の減少から、また、胎児では同群で胎児体重の低値及び骨格検査において変異所見の発現頻度が増加を示したことから、本試験における親動物及び児動物の NOAEL を 30 mg/kg 体重/日とした。なお、増加した骨格変異所見は過剰肋骨及び過剰肋軟骨であったが、ウサギは肋骨数に先天的にばらつきがあること、統計学的に有意差はあるものの、その増加は僅かであることから催奇形性はないと判断した。

8. その他の試験

(1) 皮膚刺激性試験（ウサギ）

ウサギ（NZW 種、70～130 日齢、雌 3 匹）を用いて PMT を剃毛背面（25 cm²）に 4 時間貼付（>62.8% PMT、0.5 g/動物/日、2.5×2.5 cm セルロースパッチに塗布）する皮膚刺激試験が実施された。

本試験の結果として、PMT に臨床状態に影響を及ぼす全身毒性並びに皮膚に対する刺激性及び腐食性はみられないとされた。（参照 2、44）

(2) 眼刺激性試験 (ウサギ)

ウサギ (NZW 種、70~130 日齢、雌 3 匹) を用いて PMT を左眼結膜嚢に投与 (>62.8%PMT、100 mg/眼球/回) し、投与 1、24、48 及び 72 時間並びに 7 日後に検査する眼刺激試験が実施された。

投与後早期には漿液性分泌物、結膜発赤、浮腫等がみられたが、いずれも可逆的で 72 時間後又は 7 日後には消失した。

本試験の結果として、PMT に眼に対する刺激性はみられないとされた。(参照 2、45)

(3) 皮膚感作性試験 (モルモット)

モルモット (Dunkin Hartley 種、5~6 週齢、雌 10 匹 (対照群 5 匹)) に PMT (>92.3% PMT) を、肩甲骨部位皮膚に皮内投与 (感作 1 : 1% PMT 液 0.1 mL) し、7 日後、ろ紙パッチ (感作 2 : 2×4 cm、20% PMT 液 0.3 mL) を 48 時間貼付、パッチ適用 2 週間後 (皮内投与 21 日後) にろ紙パッチ (惹起感作 : 3×3 cm、20% PMT 液 0.2 mL) を 24 時間貼付する皮膚感作性試験 (Maximisation 法) が実施された。

感作 2 及び惹起感作についてそれぞれパッチ除去 24 及び 48 時間後に皮膚反応及び臨床状態を観察したところ、感作 2 のパッチ除去 24 及び 48 時間後には投与動物の全てで散在性又は斑状紅斑、鱗屑、痂皮及び表在性の出血創傷がみられた。また、惹起感作のパッチ除去 24 時間後には投与群の全例で、48 時間後には 10 例中 8 例で、皮膚への影響がみられた。

本試験の結果として、PMT は皮膚感作作用を持つとされた。(参照 2、46)

9. 微生物学的影響に関する試験

(1) ヒト腸内細菌叢に及ぼす影響

健康なヒトの腸管由来分離菌株に対する PMT の MIC のべ調査が実施された。結果を表 48 に示した。

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 *Clostridium* spp. と *Fusobacterium* spp. の 2 µg/mL であり、*Bacteroides fragilis*、*Bacteroides* spp.、*Lactobacillus* spp. 及び *Peptostreptococcus* spp. に対する活性は最も低かった (MIC₉₀ は >128 µg/mL)。MIC_{calc} については、VICH ガイドライン (GL) 36 に基づき算出した結果、5.2 µg/mL であった。(参照 2、47)

表 48 ヒト腸内細菌に対する PMT の MIC

菌名	株数	MIC (µg/mL)			
		MIC ₅₀	MIC ₉₀	幾何平均	範囲
<i>Bacteroides fragilis</i>	10	32	>128	48	8~>128
<i>Bacteroides</i> spp.	10	32	>128	48	8~>128
<i>Bifidobacterium</i> spp.	10	16	64	17	1~>128
<i>Clostridium</i> spp.	10	2	64	4.3	0.5~>128
<i>Enterococcus</i> spp.	10	8	8	7.5	4~8
<i>E. coli</i>	10	4	8	5.7	2~16
<i>Eubacterium</i> spp.	10	32	64	37	16~>128
<i>Fusobacterium</i> spp.	10	2	64	5.3	1~64
<i>Lactobacillus</i> spp.	10	128	>128	56	8~>128
<i>Peptostreptococcus</i> spp.	10	>128	>128	79	4~>128

(2) 結腸内残留

PMT は動物用に開発された化合物であり、排泄に関するヒトのデータはない。そのため、ラットに ¹⁴C-PMT を 7 日間経口投与 (0.025 又は 25 mg/kg 体重) した後の試験結果に基づき結腸残留量を算定した。0.025 mg/kg 体重投与群では 29.26~51.78%、平均 42.54%の残留がみられ、25 mg/kg 投与群では 21.88~55.90%、平均 40.77%の残留がみられた。

以上の結果から、試験実施者は、PMT の結腸内容物中での TRR の回収率は投与量に関係なく、保守的に推定して 42.5%程度が結腸に到達すると考えた。(参照 2、47)

(3) 結腸内残留物の生物学的活性と結合

結腸内に残留する PMT の生物学的活性についてヒトの常在菌 *Micrococcus luteus* ATCC9341 を用いて調べられた。上記 (2) の結腸内容物を遠心分離し、上清を試料とした。いずれの試料にも抗菌活性はみられなかった。

PMT に関連する TRR は、結腸内容物から 64.9~71.3%が抽出・回収され、PMT 及びその関連物質の 28.7~35.1%が結腸内容物と結合すると考えられた。このうち未変化体は 4.60~7.65%であり、代謝物 M7 が全体の 32.25~52.10%を占め、本代謝物は還元型ジヒドロキシ-チルジピロシン硫酸抱合体と考えられた。

また、同じ結腸内容物への PMT 添加試験では PMT の抗菌活性の低下がみられた。

さらに、PMT 製剤は筋肉内投与が使用経路であるが、抗菌活性は酸性 pH では減弱することが報告されており、結腸内は弱酸性環境下であって、確認された PMT 関連残留物には抗菌活性がみられないことから、試験依頼者は、VICH GL36 に基づく微生物学的 ADI の算出はできなかつたと結論している。(参照 2、47)

10. 薬理試験

(1) 一般薬理試験

PMT の中枢神経系、呼吸器系、循環器系等に対する薬理試験の結果を表 49 に示した。(参照 2、48)

表 49 PMT の一般薬理試験結果

試験項目		動物	投与経路	用量 (mg/kg 体重)	試験成績
中枢 神経系	臨床状態	マウス： 雌雄	腹腔内	10、30、100、 300	10～30 mg/kg：影響なし 100 mg/kg：一過性の反応性及び自発運動低下、警戒性低下、立毛 300 mg/kg：反応性及び自発運動低下、警戒性低下、痙攣、呼吸数及び体温低下の後全例死亡
		ラット： 雄	皮下	100、300、1,000	100、300 mg/kg：影響なし 1,000 mg/kg：自発運動低下
		ウサギ： 雄	静脈内	10、30、100	10～30 mg/kg：影響なし 100 mg/kg：一過性の自発運動低下
自律 神経系	小腸輸送能	マウス： 雄	皮下	100、300、 1,000	300 mg/kg：炭粉末移行率低下 1,000 mg/kg：炭粉末移行距離及び移行率低下
	瞳孔径	ウサギ： 雄	静脈内	10、30、100	影響なし
呼吸・ 循環器系	呼吸数	ウサギ： 雄	静脈内	10、30、100、300	300 mg/kg：呼吸抑制
	血圧	ウサギ： 雄	静脈内	10、30、100、 300	30 及び 100 mg/kg：一過性血圧低下（3例中2例）
	心拍数	ウサギ： 雄	静脈内	10、30、100、 300	100 mg/kg：軽度の減少（3例中1例）
腎機能	尿排泄	ラット： 雄	皮下	100、300、 1,000	100 及び 300 mg/kg：Na 濃度及び排泄量低下 1,000 mg/kg：比重、Na 濃度及び排泄量の低下、Cl 濃度及び排泄量の低下、K 濃度の低下
体性 神経系	生体位前 脛骨筋収縮	ウサギ： 雄	静脈内	30、100、300	30 及び 100 mg/kg：変化なし 300 mg/kg：投与 10 分以内に死亡（3例中3例）

(2) 心臓血管系への影響

① イヌ

イヌ（ビーグル種、18～27 か月齢、雌雄各 2 頭）に PMT を単回筋肉内投与（5、10 又は 20 mg/kg 体重）し、心臓血管系への影響を確認する試験が実施された。陰性対照（注射用水）及び陽性対照（チルミコシン 5 mg/kg 体重）を含む各投与量を 7 日間隔でクロスオーバー投与した。

陽性対照に用いたチルミコシンでは影響がみられたが、PMT では 20 mg/kg 体重投与群で僅かな脈圧の減少がみられたのみで、これ以外に心臓血管系への影響はみられなかった。（参照 2、8、11、49）

② 羊

羊（アカラーマン種、4～5歳、50～60kg、各6頭/群）にPMTを単回皮下投与（4又は8mg/kg体重）し、心臓血管系への影響を確認する試験が実施された。頸静脈にカニューレを装着し、投与0、0.25、0.5、1、3及び21日後に採血し、血液及び血液生化学的検査を実施した。

通常用量投与群（4mg/kg体重）に比べ、高用量投与群（8mg/kg体重）では投与0.25及び1日後におけるクレアチンキナーゼ-MB画分の有意な上昇が、投与21日後では逆に低下がみられた。また、高用量投与群では、チオバルビツール酸反応性物質が投与1及び3日後で有意に低かった。これらの所見は、羊へのPMTの高用量投与では、心筋への損傷が発生する可能性を示している。（参照50）

Ⅲ. 国際機関等における評価

1. EUにおける評価

EMA では 2014 年に牛、山羊及び豚における PMT の適用について評価を実施し、単回投与薬剤として（牛では皮下投与、豚では筋肉内投与）、至適適用用量は 4 mg/kg 体重としたが、ヒトが摂取する乳の生産に関わる泌乳動物（牛、山羊等）への適用は認めないとしている。

発がん性試験は実施されていないが、*in vitro* 及び *in vivo* 遺伝毒性試験では、特段問題となる遺伝毒性はなく、ラット及びウサギを用いた生殖発生毒性試験では催奇形性及び胎児への発生毒性はなかった。反復投与試験で最も感受性が高かったイヌの 55 週間投与試験における NOEL である 10 mg/kg 体重/日を基に、安全係数を 100 として毒性学的 ADI を 100 µg/kg 体重/日（6 mg/人/日）と設定した。

また、審査資料を踏まえ、ヒトの正常な腸内細菌叢に由来する 10 菌種に対する MIC から、VICH GL36 に基づき MIC_{calc} を 5.2 µg/mL とし、また、経口用量分画については、結腸内残留率を腸内への移行率に基づき 43%、遊離残留物の比率を糞便結合試験結果から 71%、活性の残存率を腸内 pH による減衰から 50% と推定することで、0.15265 とした。以上から、ヒト体重を 60 kg、結腸内容物量を 220 g を適用し、VICH GL36 の算出式に基づき、以下の計算式によって、微生物学的 ADI を 124.91 µg/kg 体重/日とした。

$$\text{ADI} = \frac{5.2^a \times 220^b}{0.15265^c \times 60^d} = 124.91 \text{ µg/kg 体重/日}$$

a : 試験菌種（10 菌種）を対象とした MIC_{calc}（µg/mL）：5.2

b : 結腸内容物量（g）：220

c : 経口摂取により活性を有する割合：結腸内残留率×遊離残留物の比率×活性残存率=0.43×0.71×0.5

d : ヒト体重（kg）：60

毒性学的 ADI（100 µg/kg 体重/日）は、微生物学的 ADI（124.91 µg/kg 体重/日）より低いことから、EMA では、PMT の ADI として、毒性学的 ADI（100 µg/kg 体重/日（6 mg/人/日））を採用することが妥当であるとしている。

なお、可食部位での PMT の消失については、投与後に ADI 値を下回る時間が牛では 21 日、豚では 7 日と算出されており、可食部位における EU の最大残留基準値（MRL）を基準とすると、牛の生産物からのヒトの 1 日摂取量は、ADI の約 20%、豚の生産物からのヒトの 1 日摂取量は ADI の約 46% であるとしている。また、投与部位における残留量を基にするとそれぞれ 98.5% としている。（参照 8）

2. 米国における評価

FDA では、2012 年に、牛の呼吸器疾患（BRD）に使用する 18% 注射剤の承認をしている。投与経路は皮下投与であり、対象は肉用牛及び非泌乳乳用牛に限定し、豚での使用は承認されていない。

毒性学的 ADI は、イヌの 55 週間投与試験の NOEL 10 mg/kg 体重/日を根拠とし、本 NOEL は慢性毒性試験の結果であること、亜急性毒性試験では神経毒性の懸念があること等から、安全係数を 200 として 50 µg/kg 体重/日とした。

また、審査資料を踏まえ、ヒトの正常な腸内細菌叢に由来する 5 菌種を選択し、それらに対する MIC から VICH GL36 に基づき MIC_{calc} を 2.47 µg/mL、経口用量分画については、結腸内残留率を腸内への移行率に基づき 42.5%、遊離残留物の比率を糞便結合試験結果から 71.3%、活性の残存率を残留物の組成から 60% とすることで、0.182 とした。以上から、ヒト体重を 60 kg、結腸内容物を 220 g を適用し、VICH GL36 の算出式に基づき、微生物学的 ADI を 50 µg/kg 体重/日 (3 mg/人/日) とした。

$$\text{ADI} = \frac{2.47^{\text{a}} \times 220^{\text{b}}}{0.182^{\text{c}} \times 60^{\text{d}}} = 50 \text{ } \mu\text{g/kg 体重/日}$$

a : 被験物質に最も関連がある属 (5 菌種) を対象とした MIC_{calc} (µg/mL) : 2.47

b : 結腸内容物 (g) : 220

c : 経口摂取により活性を有する割合 : 結腸内残留率 × 遊離残留物の比率 × 活性残存率 = 0.425 × 0.713 × 0.6 = 0.182

d : ヒト体重 (kg) : 60

PMT の ADI は、毒性学的 ADI と微生物学的 ADI が同じ値であることから、50 µg/kg 体重/日であるとした。

牛への皮下投与時の消失期間については 21 日としている。

なお、FDA は、薬剤耐性に関する評価を実施した上で、本動物用医薬品について、適正に使用される限り、ヒトの健康に懸念を及ぼすことはない結論している。(参照 11)

IV. 食品健康影響評価

各種動物を用いた経口投与での薬物動態試験の結果から、PMT は経口摂取後速やかに吸収され、血中濃度は数時間以内に最高値に達し、また、反復投与により顕著な蓄積が生じる可能性は低いと考えられた。ラットでは、イヌよりも薬物動態に関するパラメーター（投与量に対する C_{max} 及び AUC）が低く、薬物動態において種差の存在が示唆された。

豚及び牛での薬物動態については、体内で比較的長時間高い濃度が維持され、体内分布については、投与部位、肝臓、腎臓、肺等全身的に分布することがみられた。豚では、肝臓では S-システイン抱合体又は脱メチル化 PMT からなる代謝物が最も多く検出されたが、他の組織では未変化体が最も多く検出された。牛では、各組織とも、豚と比較して未変化体が多く検出された。排泄される成分については、豚及び牛ともに、尿中では代謝物よりも未変化体が多い傾向がみられ、代謝物としては還元・水和（又は開環）PMT の硫酸抱合体及び還元 PMT の硫酸抱合体がみられた。また、豚の糞中では、未変化体よりも代謝物の割合が高く、その代謝物は硫酸抱合体であり、開環代謝物はみられなかった。牛の糞中では、未変化体が主要な残留物として同定されている。これらの結果及び一般的にマクロライド系抗生物質の主要な代謝は肝臓で行われるという知見から、PMT の筋肉内投与による代謝においても、肝臓におけるシトクロム P450 系の関与が示唆され、抱合による代謝解毒を受けると考えられた。残留性については、PMT は筋肉内投与又は皮下投与後、各組織中の濃度は経時的に低下するものの、試験期間中を通して、肝臓、腎臓等において検出された（最長投与期間は、豚では 32 日間、牛では 63 日間）。

遺伝毒性試験では、*in vitro* での復帰突然変異試験、遺伝子突然変異試験及び染色体異常試験並びに *in vivo* での小核試験の全てにおいて陰性の結果であったことから、PMT には生体にとって特段問題となる遺伝毒性はないと考え、ADI を設定することは可能と判断した。

PMT の発がん性試験は実施されていないが、イヌ及びラットを用いた亜急性毒性試験並びにイヌを用いた 55 週間慢性毒性試験では腫瘍性の変化はみられておらず、遺伝毒性の懸念もないことから、本物質が適切に使用された場合において、食品を通じてヒトに対して発がん性を示す可能性は無視できる程度と考えた。

生殖発生毒性試験では、ラットにおける胎児への影響として、頸椎及び距骨の骨化遅延の発現の増加がみられたが、これらは胎児体重の低値に起因する二次的変化と考え、催奇形性はないと判断した。

1. 毒性学的 ADI について

薬物動態試験並びに急性毒性試験及び亜急性毒性試験の結果から、ラットと比較しイヌの方が毒性影響について感受性が高いと考えられた。

イヌを用いた 13 週間亜急性毒性試験における LOAEL は 6 mg/kg 体重/日であった。イヌを用いた 55 週間慢性毒性試験における NOAEL は 10 mg/kg 体重/日であった。

本物質の毒性学的 ADI の設定根拠となる無毒性量等については、ラットを用いた亜急性毒性試験でみられた神経毒性を示唆する所見についても考慮した上で、イヌを用い

た 13 週間亜急性毒性試験における LOAEL である 6 mg/kg 体重/日を採用することとした。安全係数については、イヌを用いた 13 週間亜急性毒性試験の LOAEL を判断した所見が器質的な変化を伴わない散発的なものであること、投与期間を延長しても作用が増強されないこと及びイヌを用いた 55 週間慢性毒性試験においてより高い 10 mg/kg 体重/日で NOAEL が得られていることを考慮し、追加の安全係数を 2 とし、安全係数 200 を適用した。以上から、PMT の毒性学的 ADI は、0.03 mg/kg 体重/日とすることが適当であると判断した。

2. 微生物学的 ADI について

PMT 経口投与ラット由来結腸内容物において、抗菌活性は認められず、さらに同じ結腸内容物への PMT 添加試験では PMT の抗菌活性の低下がみられた。

一方、ヒト腸内細菌叢に由来する菌種を対象とした PMT の MIC についての知見が得られており、VICH GL36 に基づいて微生物学的 ADI を算出することが可能と判断した。

微生物学的 ADI の算定においては、PMT の MIC_{calc} を 5.2 µg/mL とした。また、微生物が利用可能な経口用量分画（細菌がばく露される分画）については、結腸内残留率を腸内への移行率から 42.5%、遊離残留物の比率を糞便結合試験結果から 71.3%、活性の残存率を腸内 pH による減衰から 50%と推定することで 0.1515125 とした。これに、結腸内容物として 500 mL/日及びヒト体重として 60 kg を適用し、VICH GL36 に基づき、以下のとおり算出した。

$$\text{ADI} = \frac{0.0052^{\text{a}} \times 500^{\text{b}}}{(0.425^{\text{c}} \times 0.713^{\text{d}} \times 0.5^{\text{e}}) \times 60^{\text{f}}} = 0.28601 \text{ mg/kg 体重/日}$$

a : 試験菌種 (10 菌種) を対象とした MIC_{calc} : 5.2 µg/mL = 0.0052 mg/mL

b : 結腸内容物容積 (mL/日) : 500

c : 腸内容からの利用可能な画分 (%) : 42.5

d : 遊離残留物の比率 : 0.713

e : 活性残存率 : 0.5

f : ヒト体重 (kg) : 60

3. ADI の設定について

毒性学的 ADI が微生物学的 ADI より小さいことから、PMT の ADI としては、毒性学的 ADI の 0.03 mg/kg 体重/日と設定することが適当であると判断した。

以上から、PMT の食品健康影響評価については、牛の薬物動態試験及び残留試験成績の追加に伴う評価結果の変更はなく、ADI として次の値を採用することが妥当である。

ADI 0.03 mg/kg 体重/日

表 50 各試験における EMA、FDA 及び食品安全委員会の無毒性量等の比較

動物種	試験	投与量 (mg/kg 体重/日)	無毒性量等 (mg/kg 体重/日)		
			EMA ^a	FDA ^a	食品安全委員会
ラット	28 日間亜急性 毒性試験	0, 25, 100, 400	25 竹馬様歩行 総タンパク質、グロブリン濃度の低下	25 (LOEL) 活動量の上昇	25 (LOAEL) 活動量の上昇
	13 週間亜急性 毒性試験	0, 20, 60, 400	20 眼球突出、咽頭上皮の空胞化・過形成	20 (LOEL) 活動量の上昇 グリップ力の低下	20 (LOAEL) 活動量の上昇 グリップ力の低下
	2 世代繁殖毒性 試験	0, 20, 80, 320	母動物：20 甲状腺濾胞上皮細胞又は子宮血管中膜の空胞化 繁殖能：80 着床数及び産児数の減少 児動物：80 切歯萌出の僅かな遅延、臓器重量の変化	母動物：20 甲状腺濾胞細胞又は子宮血管中膜の空胞化 繁殖能：80 着床数及び産児数の減少	親動物：20 甲状腺濾胞細胞の空胞化 繁殖能：80 精子数の減少、着床数及び一腹産児数の減少 児動物：80 切歯萌出の遅延
	発生毒性試験	0, 30, 120, 480	母動物：30 摂餌量減少 胎児：30 着床後の生存児減少 催奇形性：なし	母動物：30 摂餌量減少 胎児：120 頸椎及び距骨の骨化不全 催奇形性：なし	母動物：120 摂餌量減少 胎児：120 胎児重量減少 催奇形性：なし
ウサギ	発生毒性試験	0, 10, 30, 90	母動物：30 摂餌量減少 胎児：30 体重減少 催奇形性：なし	母動物：10 摂餌量減少 胎児：10 第 5 指中指節骨の骨化遅延及び後脚帯の位置異常	母動物：30 体重増加抑制及び摂餌量の減少 胎児：30 胎児体重の低値、骨格検査における変異所見の発現頻度増加 催奇形性：なし
イヌ	4 週間亜急性毒性試験	0, 20, 60, 180	20 (LOEL) 振戦、心臓における限局性動脈炎/動脈周囲炎		20 各種臓器の細胞空胞化
	13 週間亜急性毒性試験	0, 6, 20, 60	6 GDH 増加 舌動脈及び食道平滑筋細胞の空胞化	6 (LOEL) 情動不安、振戦、奇声	6 (LOAEL) 情動不安、振戦、奇声
	55 週間慢性毒性試験	0, 2 (4), 10, 50	10 血液生化学値変化、臓器重量増加、各種臓器の細胞空胞化	10 摂餌量及び体重の減少、血液生化学値変化、臓器重量増加、各種臓器の細胞空胞化	10 血液生化学値変化、臓器重量増加、各種臓器の細胞空胞化
毒性学的 ADI			0.1 mg/kg 体重/日	0.05 mg/kg 体重/日	0.03 mg/kg 体重/日
毒性学的 ADI 設定根拠資料			55 週間慢性毒性試験 (イヌ) NOEL: 10 mg/kg 体重/日 安全係数: 100	55 週間慢性毒性試験 (イヌ) NOEL: 10 mg/kg 体重/日 安全係数: 200	13 週間亜急性毒性試験 (イヌ) LOAEL: 6 mg/kg 体重/日 安全係数: 200
微生物学的 ADI			0.12491 mg/kg 体重/日 ^b	0.05 mg/kg 体重/日 ^b	0.28601 mg/kg 体重/日
微生物学的 ADI 設定根拠資料			幾何学平均 MIC ₅₀ 5.2 µg/mL	幾何学平均 MIC ₅₀ 2.47 µg/mL	幾何学平均 MIC ₅₀ 5.2 µg/mL
ADI			0.1 mg/kg 体重/日	0.05 mg/kg 体重/日	0.03 mg/kg 体重/日

a : NOEL として記載されている。

b : VICH GL36 の結腸内容量改正前の値 (220 g) に基づき算出

〈別紙 検査値等略称〉

略称	名称
ADI	Acceptable Daily Intake : 許容一日摂取量
ALP	Alkaline Phosphatase : アルカリフォスファターゼ
ALT	Alanine Aminotransferase : アラニンアミノトランスフェラーゼ
APTT	Activated Partial Thromboplastin Time : 活性化部分トロンボプラスチン時間
AST	Aspartate Aminotransferase : アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
AUC	Area Under the Blood Concentration-time curve : (血中) 薬物濃度-時間曲線下面積
CL	Clearance : クリアランス
C _{max}	Maximum Drug Concentration : 最高(血漿中)濃度
EMA	European Medicines Agency : 欧州医薬品庁
EU	European Union : 欧州連合
FDA	Food and Drug Administration : 米国食品医薬品庁
GDH	Glutamate Dehydrogenase : グルタミン酸デヒドロゲナーゼ
GLP	Good Laboratory Practice : 優良試験所規範
HPLC-MS/MS	High Performance Liquid Chromatography / Mass Spectrometry : 高速液体クロマトグラフィー質量分析法
LC-MS/MS	Liquid Chromatography / Mass Spectrometry : 液体クロマトグラフィー質量分析法
LD ₅₀	Lethal Dose 50 : 半数致死量
LDH	lactate dehydrogenase : 乳酸脱水素酵素
LOAEL	Lowest-Observed-Adverse-Effect Level : 最小毒性量
LOEL	Lowest-Observed-Effect Level : 最小影響量
LOD	Limit of Detection : 検出限界
LOQ	Limit of Quantitation : 定量限界
LSC	Liquid scintillation counter : 液体シンチレーションカウンター
MIC	Minimal Inhibitory Concentration : 最小発育阻止濃度
MRL	Maximum Residue Limit : 最大残留基準値
MRT	Mean Residence Time : 平均滞留時間
NOAEL	No-Observed-Adverse-Effect Level : 無毒性量
NOEL	No-Observed-Effect Level : 無作用量
OECD	Organisation for Economic Co-operation and Development, 経済協力開発機構
PELF	Pulmonary Epithelial Lining Fluid : 肺上皮内腔液
PMT	20,23-di-Piperidinyl-Mycaminosyl-Tylonolide : チルジピロシン

SPE-HPLC-MS/MS	Solid Phase Extraction High Performance Liquid Chromatography / Mass Spectrometry : 固相抽出・高速液体クロマトグラフィー質量分析法
T _{1/2}	Half-life Period : 消失相半減期
T _{max}	Maximum drug concentration time : 最高（血漿中）濃度到達時間
TRR	Total Radioactive Residue : 総残留放射能濃度
VICH	International Cooperation on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Veterinary Medicinal Products : 動物用医薬品の承認審査資料の調和に関する国際協力

〈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「ズプレボ 40 注射液」申請書. 2016. (非公表)
- 2 株式会社インターベット, 動物用医薬品「ズプレボ 40 注射液」審査用資料概要書. 2016. (非公表)
- 3 Andersen NM, Poehlsgaard J, Warrass R and Douthwaite S: Inhibition of protein synthesis on the ribosome by Tildipirosin compared with other veterinary macrolides. *Antimicrob Agents Chemother.* 2012; 56 (11): 6033-6.
- 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「ズプレボ 40 注射液」添付資料 7-3. 2016 (非公表)
- 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「ズプレボ 40 注射液」添付資料 8-1. 2016 (非公表)
- 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「ズプレボ 40 注射液」添付資料 8-2. 2016 (非公表)
- 7 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「ズプレボ 40 注射液」添付資料 7-2. 2016 (非公表)
- 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「ズプレボ 40 注射液」参考資料 2. 2016 (非公表)
- 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「ズプレボ 40 注射液」添付資料 7-4. 2016 (非公表)
- 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「ズプレボ 40 注射液」添付資料 12-2. 2016 (非公表)
- 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「ズプレボ 40 注射液」参考資料 3. 2016 (非公表)
- 12 Zeng D, Sun M, Lin Z, Li M, Gehring R and Zeng Z: Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Tildipirosin Against *Pasteurella multocida* in a Murine Lung Infection Model. *Front Microbiol.* 2018; 9: 1038.
- 13 Wang J, Zhao T, Sun X, Liu Y, Zhu J, Zhang S and Cao X: Pharmacokinetics of tildipirosin in beagle dogs. *J Vet Pharmacol Ther.* 2018; 41(1): e49-e52.
- 14 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「ズプレボ 40 注射液」添付資料 12-1. 2016 (非公表)
- 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「ズプレボ 40 注射液」添付資料 12-3 2016 (非公表)
- 16 Lei Z, Liu Q, Qi Y, Yang B, Khaliq H, Xiong J, Moku GK, Ahmed S, Li K, Zhang H, Zhang W, Cao J and He Q: Optimal Regimens and Cutoff Evaluation of Tildipirosin Against *Pasteurella multocida*. *Front Pharmacol.* 2018; 9: 765.
- 17 Lei Z, Liu Q, Yang B, Ahmed S, Cao J and He Q: The pharmacokinetic-pharmacodynamic modeling and cut-off values of tildipirosin against *Haemophilus parasuis*. *Oncotarget.* 2018; 9(2): 1673-90.
- 18 MSD アニマルヘルス株式会社, 残留農薬等基準の設定要請に関する資料「チルジピロシン (牛/IT)」添付資料 7. 2008 (非公表)
- 19 MSD アニマルヘルス株式会社, 残留農薬等基準の設定要請に関する資料「チルジピロシン (牛/IT)」添付資料 8. 2009 (非公表)
- 20 MSD アニマルヘルス株式会社, 残留農薬等基準の設定要請に関する資料「チルジピロシン (牛/IT)」添付資料 9. 2009 (非公表)

- 21 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「ズプレボ 40 注射液」添付資料 15-1. 2016 (非公表)
- 22 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「ズプレボ 40 注射液」添付資料 15-2. 2016 (非公表)
- 23 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「ズプレボ 40 注射液」治験薬概要書. 2016 (非公表)
- 24 MSD アニマルヘルス株式会社, 残留農薬等基準の設定要請に関する資料「チルジピロシン (牛/IT)」添付資料 2. 2008 (非公表)
- 25 MSD アニマルヘルス株式会社, 残留農薬等基準の設定要請に関する資料「チルジピロシン (牛/IT)」添付資料 4. 2008 (非公表)
- 26 MSD アニマルヘルス株式会社, 残留農薬等基準の設定要請に関する資料「チルジピロシン (牛/IT)」添付資料 10. 2008 (非公表)
- 27 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「ズプレボ 40 注射液」添付資料 8-4-2. 2016 (非公表)
- 28 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「ズプレボ 40 注射液」添付資料 8-5. 2016 (非公表)
- 29 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「ズプレボ 40 注射液」添付資料 8-6. 2016 (非公表)
- 30 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「ズプレボ 40 注射液」添付資料 8-7. 2016 (非公表)
- 31 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「ズプレボ 40 注射液」添付資料 6-1. 2016 (非公表)
- 32 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「ズプレボ 40 注射液」添付資料 6-4. 2016 (非公表)
- 33 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「ズプレボ 40 注射液」添付資料 6-2. 2016 (非公表)
- 34 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「ズプレボ 40 注射液」添付資料 6-3. 2016 (非公表)
- 35 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「ズプレボ 40 注射液」添付資料 6-5. 2016 (非公表)
- 36 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「ズプレボ 40 注射液」添付資料 7-1. 2016 (非公表)
- 37 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「ズプレボ 40 注射液」添付資料 7-3. 2016 (非公表)
- 38 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「ズプレボ 40 注射液」添付資料 7-2. 2016 (非公表)
- 39 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「ズプレボ 40 注射液」添付資料 7-4. 2016 (非公表)
- 40 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「ズプレボ 40 注射液」添付資料 7-5. 2016 (非公表)
- 41 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「ズプレボ 40 注射液」添付資料 8-3. 2016 (非公表)
- 42 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「ズプレボ 40 注射液」添付資料 8-1. 201 (非公表)

- 43 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「ズプレボ 40 注射液」添付資料 8-2. 2016 (非公表)
- 44 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「ズプレボ 40 注射液」添付資料 8-8. 2016 (非公表)
- 45 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「ズプレボ 40 注射液」添付資料 8-9. 2016 (非公表)
- 46 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「ズプレボ 40 注射液」添付資料 8-10. 2016 (非公表)
- 47 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「ズプレボ 40 注射液」添付資料 8-11. 2016 (非公表)
- 48 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「ズプレボ 40 注射液」添付資料 11-1. 2016 (非公表)
- 49 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「ズプレボ 40 注射液」添付資料 11-2. 2016 (非公表)
- 50 Dik B, Bahcivan E, Faki HE and Uney K: Tildipirosin may cause cardiotoxicity in sheep. *Biomedical Research*. 2017; 28 (19): 8234-9.