

# 動物用医薬品・飼料添加物評価書

## ナラシン

2013年 1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及び飼料添加物の概要	7
1. 用途	7
2. 有効成分の一般名	7
3. 化学名	7
4. 分子式	7
5. 分子量	7
6. 構造式	7
7. 使用目的及び使用状況	8
II. 安全性に係る知見の概要	8
1. 薬物動態試験	8
(1) 薬物動態試験 (ラット)	8
(2) 薬物動態試験 (鶏)	9
(3) 薬物動態試験 (牛)	12
(4) 薬物動態試験 (豚)	13
(5) 薬物代謝比較試験 (ラット及び鶏)	14
(6) 薬物代謝比較試験 (ラット、イヌ及び牛)	15
(7) 代謝物の生物活性	15
2. 残留試験	15
(1) 残留試験 (鶏・5日間投与①)	15
(2) 残留試験 (鶏・5日間投与②)	15
(3) 残留試験 (鶏・5日間投与③)	16
(4) 残留試験 (鶏・5日間投与④)	16
(5) 残留試験 (鶏・5日間投与⑤)	16
(6) 残留試験 (鶏・21日間投与)	17
(7) 残留試験 (鶏・42日間投与①)	17
(8) 残留試験 (鶏・42日間投与②)	17
(9) 残留試験 (鶏・42日間投与③)	18
(10) 残留試験 (鶏・45日間投与)	18
(11) 残留試験 (鶏卵)	18
(12) 残留試験 (牛・5日間投与)	19
(13) 残留試験 (牛・140日間投与)	19
(14) 残留試験 (豚・5日間投与)	19

(15) 残留試験 (豚・14日間投与) .....	19
3. 遺伝毒性試験 .....	19
4. 急性毒性試験 .....	20
(1) 急性毒性試験 (マウス、ラット、ウサギ、鶏、うずら、豚及び馬) .....	20
(2) 急性毒性試験 (マウス及びラット) .....	22
5. 亜急性毒性試験 .....	22
(1) 3か月間亜急性毒性試験 (マウス①) .....	22
(2) 3か月間亜急性毒性試験 (マウス②) .....	23
(3) 3か月間亜急性毒性試験 (マウス③) .....	23
(4) 3か月間亜急性毒性試験 (ラット①) .....	24
(5) 3か月間亜急性毒性試験 (ラット②) .....	24
(6) 3か月間亜急性毒性試験 (イヌ①) .....	25
(7) 3か月間亜急性毒性試験 (イヌ②) .....	26
(8) 6か月間亜急性毒性試験 (イヌ) .....	26
6. 対象動物等を用いた安全性試験 .....	27
(1) 安全性試験 (鶏①) .....	27
(2) 安全性試験 (鶏②) .....	28
(3) 安全性試験 (鶏③) .....	28
(4) 安全性試験 (牛) .....	29
(5) 安全性試験 (豚①) (参考データ) .....	29
(6) 安全性試験 (豚②) (参考データ) .....	30
7. 慢性毒性試験 .....	30
(1) 1年間慢性毒性試験 (ラット) .....	30
(2) 1年間慢性毒性試験 (イヌ) .....	31
8. 慢性毒性/発がん性併合試験 .....	32
(1) 2年間慢性毒性/発がん性併合試験 (マウス) .....	32
(2) 2年間慢性毒性/発がん性併合試験 (ラット) .....	33
9. 生殖発生毒性試験 .....	34
(1) 3世代生殖試験 (ラット) .....	34
(2) 発生毒性試験 (ラット) .....	34
(3) 発生毒性試験 (ウサギ) .....	34
10. その他の試験 .....	35
(1) 皮膚刺激性試験 (ウサギ) .....	35
(2) 眼刺激性試験 (ウサギ) .....	35
(3) 皮膚感作性試験 (モルモット) .....	36
11. 一般薬理試験 .....	36
12. 微生物学的影響に関する試験 .....	37
(1) 臨床分離菌に対するMIC① .....	37
(2) 臨床分離菌に対するMIC② .....	38
(3) 糞便結合試験 (ヒト) .....	39

(4) 代謝物の微生物学的活性 .....	40
(5) サルモネラ排菌に対する影響 (鶏) .....	40
13. ヒトにおける知見 .....	40
III. 食品健康影響評価 .....	41
1. 国際機関における評価 .....	41
(1) JECFA における評価 .....	41
(2) EFSA における評価 .....	41
2. 毒性学的 ADI について .....	42
3. 微生物学的影響について .....	42
4. ADI の設定について .....	43
・ JECFA 及び EFSA における NOAEL 等の比較 .....	44
・ 別紙 検査値等略称 .....	46
・ 参照 .....	48

〈審議の経緯〉

- 2005年 11月 29日 暫定基準告示（参照1）  
2007年 3月 6日 厚生労働大臣より残留基準設定に係る食品健康影響評価について要請（厚生労働省発食安第0305026号）、関係資料接受  
2007年 3月 8日 第181回食品安全委員会（要請事項説明）  
2011年 8月 31日 第48回肥料・飼料等専門調査会  
2012年 10月 15日 第449回食品安全委員会（報告）  
2012年 10月 16日から11月14日まで 国民からの御意見・情報の募集  
2012年 12月 20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  
2013年 1月 7日 第459回食品安全委員会（報告）  
同日付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〉

(2009年6月30日まで)

見上 彪（委員長）  
小泉 直子（委員長代理\*）  
長尾 拓  
野村 一正  
畑江 敬子  
廣瀬 雅雄\*\*  
本間 清一

\* : 2007年2月1日から

\*\* : 2007年4月1日から

(2011年1月6日まで)

小泉 直子（委員長）  
見上 彪（委員長代理\*）  
長尾 拓  
野村 一正  
畑江 敬子  
廣瀬 雅雄  
村田 容常

\* : 2009年7月9日から

(2012年6月30日まで)

小泉 直子（委員長）  
熊谷 進（委員長代理\*）  
長尾 拓  
野村 一正  
畑江 敬子  
廣瀬 雅雄  
村田 容常

\* : 2011年1月13日から

(2012年7月1日から)

熊谷 進（委員長）  
佐藤 洋（委員長代理）  
山添 康（委員長代理）  
三森 国敏（委員長代理）  
石井 克枝  
上安平 浏子  
村田 容常

〈食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会専門委員名簿〉

(2011年9月30日まで)

唐木 英明 (座長)  
酒井 健夫 (座長代理)  
青木 宙      高橋 和彦  
秋葉 征夫    舘田 一博  
池 康嘉      津田 修治  
今井 俊夫    戸塚 恭一  
江馬 眞      細川 正清  
桑形 麻樹子 宮島 敦子  
下位 香代子 元井 葭子  
高木 篤也    吉田 敏則

(2011年10月1日から)

唐木 英明 (座長\*)  
津田 修治 (座長代理\*)  
青木 宙      舘田 一博  
秋葉 征夫    戸塚 恭一  
池 康嘉      細川 正清  
今井 俊夫    宮島 敦子  
江馬 眞      山中 典子  
桑形 麻樹子 吉田 敏則  
下位 香代子  
高橋 和彦

\*:2011年11月2日から

## 要 約

ポリエーテル系のイオノフォア抗生物質である「ナラシン (CAS No. 55134-13-9)」について、JECFA 及び EFSA 評価書、飼料添加物指定時資料等を用いて食品健康影響評価を実施した。

評価に用いた試験成績は、薬物動態試験 (ラット、鶏、牛及び豚)、残留試験 (鶏、牛及び豚)、遺伝毒性試験、急性毒性試験 (マウス、ラット、ウサギ、鶏、うずら、豚及び馬)、亜急性毒性試験 (マウス、ラット及びイヌ)、慢性毒性試験 (ラット及びイヌ)、慢性毒性/発がん性併合試験 (マウス及びラット)、生殖発生毒性試験 (ラット及びウサギ)、微生物学的影響に関する試験等の成績である。

各種遺伝毒性試験においていずれも陰性の結果が得られており、マウス及びラットを用いた慢性毒性/発がん性併合試験において発がん性が認められていないことから、ナラシンは遺伝毒性発がん物質ではないと考えられ、一日摂取許容量 (ADI) を設定することが可能であると考えた。

各種毒性試験で得られた無毒性量 (NOAEL) のうち最小値は、イヌの1年間慢性毒性試験における 0.5 mg (力価)/kg 体重/日であった。したがって、この NOAEL に安全係数 100 (種差 10 及び個体差 10) を適用し、毒性学的 ADI を 0.005 mg/kg 体重/日と設定した。

微生物学的試験においては、ナラシンは正常な腸内細菌叢に影響を及ぼさないと考えられ、また、MIC、糞便結合作用及び *in vivo* 定着障壁試験により、ナラシン残留物はヒト消化管の定着障壁を崩壊させないと考えられた。

これらのことから、微生物学的 ADI を設定する必要はないと考え、ナラシンの ADI として、毒性学的 ADI を採用することが適当と判断し、0.005 mg/kg 体重/日と設定した。

I. 評価対象動物用医薬品及び飼料添加物の概要

1. 用途

抗菌剤

2. 有効成分の一般名

和名：ナラシン

英名：Narasin

3. 化学名

(ナラシン A)

IUPAC

英名： $\alpha$ -Ethyl-6-[5-[2-(5-ethyltetrahydro-5-hydroxy-6-methyl-2H-pyran-2-yl)-15-hydroxy-2,10,12-trimethyl-1,6,8-trioxadispiro [4.1.5.3]pentadec-13-en-9-yl]-2-hydroxy-1,3-dimethyl-4-oxoheptyl]tetrahydro-3,5-dimethyl-2H-pyran-2-acetic acid

CAS (No. 55134-13-9)

(参照 2)

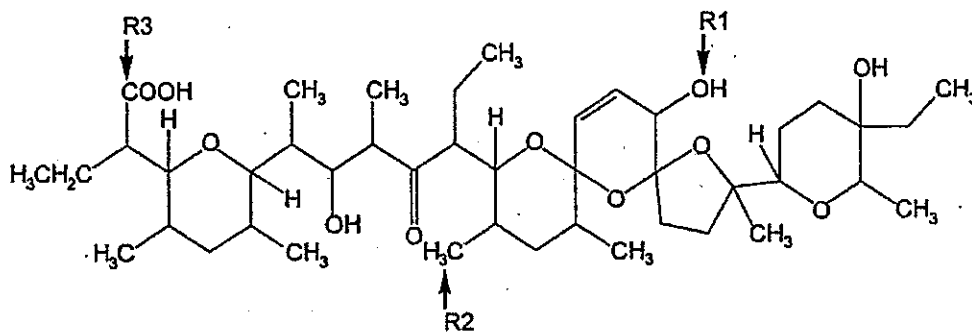
4. 分子式

$C_{43}H_{72}O_{11}$

5. 分子量

765.03

6. 構造式



Structural variants of narasin	R1	R2	R3
A	OH	CH <sub>3</sub>	COOH
B	=O	CH <sub>3</sub>	COOH
D	OH	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	COOH
I	OH	CH <sub>3</sub>	COOCH <sub>3</sub>

(参照 3)



## 7. 使用目的及び使用状況

ナラシンは、*Streptomyces aureofaciens* NRRL 8092 株が産生するポリエーテル系のイオノフォア<sup>1</sup>抗生物質で、脂溶性複合物を形成し細胞膜の通過を容易にする。ナラシンは、ナラシン A (96%)、ナラシン B (1%)、ナラシン D (2%) 及びナラシン I (1%) で構成され、ナラシン A が主要な活性を有する (85%)。ナラシンは肉用鶏のコクシジウム感染のスポロゾイト及び無性生殖期 (前期及び後期) に有効である。ナラシンの抗菌スペクトルは限定的で、主に *Enterococcus* spp.、*Staphylococcus* spp. 及び *Clostridium perfringens* を含むグラム陽性菌に対して活性を有する。

海外では、鶏のコクシジウム症の予防を目的として、飼料に添加して使用されており、肉用鶏の壊死性腸炎予防にも用いられる。牛では成長促進剤として使用される。

日本では、動物用医薬品としては承認されておらず、鶏を対象とした飼料添加物が指定されている。

ヒト用医薬品としては使用されていない。(参照 3、4)

なお、ポジティブリスト制度導入に伴う残留基準値<sup>2</sup>が設定されている。(参照 1)

## II. 安全性に係る知見の概要

本評価書では、JECFA 及び EFSA 評価書、飼料添加物の指定時試験成績の抄録等をもとに、ナラシンの毒性に関する主な知見を整理した。(参照 3~7)

検査値等略称は別紙に記載した。

### 1. 薬物動態試験

#### (1) 薬物動態試験 (ラット)

胆管カニューレを挿入したラット (系統、動物数等不明) に <sup>14</sup>C 標識ナラシンを単回経口投与 (投与量不明) した。投与量の 35% が胆汁中から、6% が尿中から回収された。この結果から少なくとも投与量の 40% が吸収されたと考えられた。(参照 3)

ラット (Fischer 344 系、雌雄各 10 匹) に菌糸体ナラシン (mycelial narasin) を 5 日間経口投与 (5 mg/kg 体重/日) した。尿及び糞を毎日雌雄別に採取し、最終投与後の雌雄の糞を混合し、抽出が行われた。抽出物中のナラシンの代謝物を HPLC/ISP-MS を用いて同定した。

糞中には、3-水酸化ナラシンの少なくとも 4 種類の構造異性体が存在することがピーク保持時間の違いから示された。少なくともいくつかの 2-水酸化ナラシンを含む四つのピークが同定された。他の四つのピークは 3-水酸化ナラシン B を、また四つのピークは 2-水酸化ナラシン B を有することが確認された。1-水酸化ナラシン又は 1-水酸化ナラシン B を有するピークもあった。本試験では、HPLC/ISP-MS により水酸化の正確な位置

<sup>1</sup> イオン透過担体：特定のイオンの細胞膜透過性を増加させる。

<sup>2</sup> 平成 17 年厚生労働省告示第 499 号によって定められた残留基準値

は確認されなかったが、鶏の過去の試験からナラシンの水酸化は環上で生じていることが示された。これらの試験から鶏とラットは共通の代謝経路（酸化/水酸化）を有していることが示唆され、鶏でみられた水酸化代謝物がラットを用いたナラシンの毒性試験で認められたことにより確認された。（参照 3）

ラット（系統不明、雌雄）にナラシンを 5 日間強制経口投与（5 mg/kg 体重/日）した。糞中代謝物が調べられ、ナラシンの水酸化代謝物及びナラシン B の水酸化代謝物が同定された。正確な水酸化の位置は確認されなかったが、4 種類の異性体（2-水酸化ナラシン A/B 及び 3-水酸化ナラシン A/B）の存在が確認された。（参照 5）

成熟ラット（系統不明、1 匹）に  $^{14}\text{C}$  標識ナラシンを単回強制経口投与（2.3 mg/匹）した結果、投与後 52 時間に総投与放射活性の約 75 %が尿及び糞から回収された。尿中には、排泄された放射活性のわずか 1.1 %しかみられず、残り（98.9 %）は糞中にみられた。（参照 3）

胆管カニューレを挿入した幼若ラット（系統不明、3 匹）に  $^{14}\text{C}$  標識ナラシンを単回強制経口投与（2.3 mg/匹）した結果、総投与放射活性の約 16 %が投与後 24 時間に胆汁中に排泄された。（参照 3）

ラット（Wistar 系、2 匹）に  $^{14}\text{C}$  標識ナラシンを投与（3.1 mg/匹、投与経路不明）した呼吸試験では、回収された  $^{14}\text{CO}_2$  は投与量の 0.2 %未満であった。（参照 3）

## （2）薬物動態試験（鶏）

鶏（肉用鶏、4 週齢、30 羽）にナラシンを 2 日間強制経口投与（10 mg（力価）/kg 体重を 1 日 2 回投与）し、血漿中濃度の推移、糞中排泄及び体内分布が TLC-バイオオートグラフで検討された。

血漿中濃度は緩やかに上昇し、投与 3 時間後に  $C_{\max}$ （0.25 mg（力価）/L）に達した後、速やかに減衰し、投与 12 時間後には検出限界（0.025 mg（力価）/kg）以下となった。AUC は 0.62 mg（力価） $\cdot$  h/L であった。

最終投与 3 時間後の主要組織への分布を検討した結果、組織中濃度は脂肪が平均 1.189 mg（力価）/kg と最も高く、次いで小腸、皮膚、筋胃、肝臓、膵臓、血漿、腎臓、肺、心臓、脾臓、胆汁の順で、筋肉は検出限界以下であった。

糞中濃度は、全例が投与 24～48 時間後に最高値を示した。投与後 120 時間の糞中総排泄率は投与量の平均 3.2 %であった。（参照 6）

鶏（肉用鶏、雌雄各 3 羽）に  $^{14}\text{C}$  標識ナラシンを 4 又は 6 日間混餌投与（100 ppm）し、最終投与 6 時間後（実質上の休薬 0 日）以降の一定時間間隔の各時点で組織中濃度が調べられた。腎臓、肝臓、皮膚、脂肪及び筋肉は LSC により総放射活性を測定し、脂肪中のナラシンはバイオアッセイにより調べた。

投与開始4日後に組織中濃度が定常状態となった。ナラシンに相当する総放射活性は、肝臓、脂肪、皮膚、腎臓及び筋肉の順で高く、それぞれ0.50、0.27、0.16、0.13及び0.01 mg/kgであった。残留濃度に明らかな性差はなかった。脂肪中の総放射活性の約半分がナラシンであった。(参照3)

鶏(合計25羽)を用いて表1のとおり<sup>14</sup>C標識ナラシンの経口又は混餌投与試験が計4試験実施され、最終投与後の組織中放射活性について検討された。

いずれの試験においても、組織中放射活性は肝臓、脂肪、皮膚、腎臓、筋肉の順に高かった。組織中放射活性は速やかに消失し、残留濃度に性差はみられなかった。胆汁が<sup>14</sup>Cの排泄経路と考えられた。

表1 鶏における<sup>14</sup>C標識ナラシンの組織中残留消失試験

試験	投与方法	投与量	投与期間
試験1	経口 (カプセル投与)	80 ppm 相当量	2又は2.5日間
試験2		80 ppm 相当量	2又は2.5日間
試験3		100 ppm 相当量	2.5又は5日間
試験4	混餌	100 ppm	5日間

試験1及び2では、組織中放射活性は最終投与4時間後で肝臓:0.50 mg/kg以下、脂肪:0.22 mg/kg以下及び腎臓:0.11 mg/kg以下で、最終投与1日後には肝臓及び脂肪で約0.1 mg/kg以下、腎臓は検出限界以下であった。筋肉はいずれの時点においても検出限界以下であった。

試験3で投与期間による組織残留性の違いを検討した結果、両投与期間の残留濃度に有意差は認められなかったが、5日間投与群の平均値の方が高かった。

試験4では、組織中平均放射活性は、最終投与0日後で腎臓から0.159 mg/kg、脂肪から0.488 mg/kg及び肝臓から0.743 mg/kg検出され、筋肉からは検出されなかった。最終投与2日後の組織中残留は大幅に減少した。組織中平均ナラシン放射活性は、最終投与0日後で肝臓:0.037 mg/kg、脂肪:0.235 mg/kgで、それぞれ総放射活性の約5及び50%であった。(参照6)

代謝試験で、ナラシン及びナラシンBの水酸化代謝物が鶏の排泄物中に検出された。これらの代謝物の大部分はナラシン及びナラシンBの2又は3-水酸化物であった。

LC-MSにより、鶏排泄物中に15種類の水酸化代謝物が検出された。肝臓のクロマトグラフの分布及び相対的放射活性は排泄物と同様であり、肝臓中代謝物は排泄物中代謝物と同様であることを示している。最終投与0日の結合型残留物は肝臓中残留物のほぼ1/3であった。脂肪では、放射活性は主に未変化体にみられ、結合型残留物は総残留物の12%未満であった。皮膚/脂肪、筋肉及び腎臓中残留物は低濃度のため代謝物の同定ができなかった。(参照3)

鶏（性別及び羽数不明）に  $^{14}\text{C}$  標識ナラシンを 5 日間混餌投与（100 ppm）し、排泄物中のナラシン代謝物を分離及び同定した。

未変化体が排泄物中全放射活性の約 30 % を占め、主要成分であった。別の 25 % に 7 種類の代謝物が含まれることが、質量分析により確認された。4 種類の代謝物は 2-水酸化ナラシンで、2 種類が 3-水酸化ナラシンの異性体であり、この水酸化が主要代謝経路であった。数多くの残りの代謝物に放射活性があったが、それぞれ全体の 10 % 未満であった。（参照 5）

鶏に  $^{14}\text{C}$  標識ナラシンを 5 日間混餌投与（80 ppm）し、最終投与当日に排泄物中のナラシン及びその代謝物の分析が実施された。

未変化体は全放射活性の 5 % を占め、6 種類の代謝物が同定された。2 種類が既知の 3-水酸化ナラシンで総放射活性の約 14 % を占めた。4 種類が 2-水酸化ナラシンで 14 % を占めた。その他微量（10 % 以下）の代謝物が分離されたが同定されなかった。（参照 5）

鶏に  $^{14}\text{C}$  標識ナラシンを 5 日間混餌投与（50 ppm）し、最終投与 0 日に排泄物の分析が実施された。

未変化体は排泄された総放射活性の 3 % を占めた。15 種類の代謝物中では、ナラシン A 及び B の 2 及び 3-水酸化物並びに 4-水酸化ナラシン A が主要成分であり、総放射活性の約 50 % であった。残りは多くの微量成分で、同定されなかった。組織では、肝臓中放射活性が最高濃度を示し、75 % まで抽出可能であった。しかしながら、ナラシン代謝物は精製後少量しか得られなかったために同定できなかった。脂肪中の放射活性が分析され、大部分が未変化体（61 %）であった。（参照 5）

成鶏（雌雄各 10 羽）に  $^{14}\text{C}$  標識ナラシンを 5 日間混餌投与（71 ppm）し、最終投与 6 時間後に肝臓及び排泄物について分析された。

肝臓及び排泄物から総放射活性のそれぞれ 49 及び 96 % に当たるナラシン及びその代謝物が抽出され、LC-MS により分離同定された。その結果、肝臓及び排泄物から 1 種類の 2-水酸化ナラシン及び 2 種類の 3-水酸化ナラシンが確認された。ナラシンは、排泄物中総放射活性の 1 % 未満であったが、3 種類の 9-ケト 3-水酸化ナラシンが主要代謝物であった（総計 49 % で、最大のものは 34 %）。（参照 5）

$^{14}\text{C}$  標識ナラシン（100 ppm）が混餌投与された鶏の糞から 6 種類の標識ナラシン代謝物がそれぞれ分離された。糞から代謝物を溶媒抽出し、各種クロマトグラフで精製後、質量分析によって代謝物を同定した。代謝物は分子環の種々の位置が水酸基と置換したもので、鶏における主な代謝機序はナラシンの水酸化であることが確認された（表 2）。6 種類の代謝物について、ナラシンとの相対的抗菌活性を検討したが、活性はナラシンの 1/20 で、実質的に不活性と判断された。（参照 6）

表 2 鶏におけるナラシンの代謝物

代謝物	TLC-Rf 値	分子量	構造
NM-1	0.26	818	2-水酸化ナラシン A, E 環の水酸化
NM-2	0.42	834	3-水酸化ナラシン A, B, E 環の水酸化
NM-3	0.50	818	2-水酸化ナラシン A, B 環の水酸化
NM-4	0.30	818	2-水酸化ナラシン A, E 環の水酸化
NM-5 <sup>1)</sup>	~0.30		
NM-6	0.76	818	2-水酸化ナラシン B, E 環の水酸化
NM-7	~0.27	834	3-水酸化ナラシン A, B, E 環の水酸化

1) NM5 は分析必要量が得られず、未解析。

鶏（肉用鶏、羽数不明）に <sup>14</sup>C 標識ナラシンを混餌投与（100 ppm）した。

排泄物中に 3 種類の代謝物（NM-1、NM-2 及び NM-3）が存在し、放射活性の 14 % を占めた。肝臓中には多数の標識代謝物がみられ、その中で未変化体が最も多く存在し、総放射活性の約 8.8 % に相当した。（参照 3）

鶏（肉用鶏、8 週齢）に <sup>14</sup>C 標識ナラシンを 7 日間混餌投与（80 ppm）し、投与 4～7 日後の糞中未変化体量、<sup>14</sup>C 標識ナラシンに対する相対比及び主要標識代謝物割合が調べられた。

糞中の総放射活性は <sup>14</sup>C 標識ナラシン当量で 237 ppm、未変化体は 11.8 ppm で、糞中放射活性の 5.0 % に相当した。ナラシンの代謝物として、NM-1+NM-7（2.9 %）、NM-2（11.3 %）、NM-3（5.3 %）、NM-4+NM-5（4.6 %）及び NM-6（1.7 %）が存在した。これら以外の非ナラシン放射活性は多くの少量代謝物から構成され、含有割合はいずれも小さかった。<sup>14</sup>C 標識ナラシンの約 95 % は代謝された。（参照 6）

鶏（肉用鶏、8 週齢、4 羽）にナラシンを混餌投与（80 ppm）した後 <sup>14</sup>C 標識ナラシンを単回経口投与（総投与量は平均ナラシン摂取量相当）した。回収された放射活性の 85 % 以上が投与 2 日以内に排泄された。3/4 例で総回収率が 90～114 %、平均 99 % であった。1/4 例では糞中の回収率が不完全であったことから、回収率は低かった（66 %）。（参照 3）

### （3）薬物動態試験（牛）

牛（去勢雄 2 頭及び未経産雌 1 頭/群）に <sup>14</sup>C 標識ナラシンを 3、5 又は 7 日間経口投与（飼料中 20 ppm 相当量、ゼラチンカプセル投与）し、各最終投与約 12 時間後（実質上の休薬 0 日）の組織中濃度が測定された。

最高放射活性（ナラシン相当量）は肝臓でみられた。投与 7 日後、肝臓中の未変化体は総放射活性の 6.5～12 % であった。（参照 3）

肥育牛（ヘレフォード種、去勢雄 2 頭及び未経産雌 1 頭/群）に <sup>14</sup>C 標識ナラシンを 3、5 又は 7 日間経口投与（飼料中約 20 ppm 相当量/頭/日（最高推奨用量の 1.5 倍の総 1 日投与量）、ゼラチンカプセルを用いて 1 日 2 回投与）した。各最終投与 12 時間後（休薬

0日)に、被験動物の筋肉、腎臓、肝臓及び背部脂肪について放射活性を測定した。7日間投与群の全動物の肝臓中ナラシンをTLC-バイオオートグラフで調べた。

組織中放射活性は投与3日以内に定常状態に達した。肝臓中に最大の総放射活性(ナラシン相当量)がみられ、投与3、5及び7日後では、それぞれ0.918、0.739及び0.839 mg/kgであった。未変化体は肝臓中総放射活性の約6.5~12%を占めたが、他の組織中には痕跡程度がみられた。投与3、5及び7日後の組織中平均残留は、平均値の一元配置の分散分析(ANOVA)により統計学的な差はなかった。去勢雄及び未経産雌のナラシンの代謝は全投与期間にわたり質的に同様であった。(参照3)

牛(ヘレフォード種、未経産雌2頭)に代謝ケージ内で<sup>14</sup>C標識ナラシンをゼラチンカプセルで単回ボラス投与(79.2 mg/頭/日)した。24時間毎に尿及び糞を採取し、放射活性を分析した。

総糞中放射活性の98.0%が投与後4日以内に排泄された。尿中からは投与された放射活性の0.5%未満が回収された。<sup>14</sup>C標識ナラシンの総放射活性回収率は、2頭それぞれ93.4及び80.1%であった。牛では、<sup>14</sup>C標識ナラシンは迅速に排泄され、ほとんど糞中に排泄されると考えられた。(参照3)

#### (4) 薬物動態試験(豚)

豚(交雑種、雌雄各2頭/群/時点)に<sup>14</sup>C標識ナラシンを7日間混餌投与(30及び45 ppm)し、30 ppm投与群では最終投与0及び3日後、45 ppm投与群では最終投与0日後に可食組織(肝臓、腎臓、筋肉、脂肪及び皮膚)について総放射活性の分析が行われた。

全投与群で肝臓中濃度が最大であった。45 ppm投与群では、最終投与0日後の平均肝臓中濃度は1.48 mg/kgであった。30 ppm投与群では、最終投与0日後で平均肝臓中濃度は0.75 mg/kgであり、最終投与3日後では0.17 mg/kgに低下した。肝臓からメタノールで抽出される放射活性は、30及び45 ppm投与群の最終投与0日後でそれぞれ56及び59%(いずれもn=2)であった。この結果は最終投与0日後の抽出される残留物の割合に濃度依存的な差がないことを示している。30 ppm投与群では、最終投与3日後における抽出されなかった肝臓中の放射活性は最終投与0日後の22%であった。

(参照3)

豚(4頭/群)に、<sup>14</sup>C標識ナラシンを7日間混餌投与(30及び45 ppm)した。30 ppm投与群では最終投与0(第1群)及び3日後(第2群)、45 ppm投与群では最終投与0日後(第3群)に肝臓、腎臓、筋肉、脂肪、皮膚及び胆汁の総放射活性をLSCにより測定した。試験期間中、尿及び糞は毎日採取された。

肝臓、胆汁及び糞中の代謝物は酸化及び水酸化代謝物であることが判明した。肝臓中で最も多い代謝物は、2-水酸化ナラシンB代謝物(N-4)であり、第1及び第3群の糞中でも最も多い代謝物の一つであった。3-水酸化ナラシン代謝物(N-1)は第3群の糞中並びに第1及び第3群の肝臓中에서도検出され、3-水酸化ナラシンBと共に溶出された。もう一つの3-水酸化ナラシン代謝物(N-2)は、第1及び第3群の糞中から検出された

が、肝臓中にはみられなかった。3-水酸化ナラシン B 代謝物 (N-3) は、第 1 及び第 3 群の糞と肝臓中から検出されたが、他のピークと共に溶出された。2-水酸化ナラシン B 代謝物 (N-5) は第 1 及び第 3 群の肝臓及び糞中にみられた。2-水酸化ナラシン (N-6) は第 1 及び第 3 群の糞中からは検出されたが肝臓中にはみられなかった。もう一つの 2-水酸化ナラシン代謝物 (N-7) が第 1 及び第 3 群の肝臓及び糞中において検出された。胆汁中にも、肝臓及び糞中と同様の代謝物がみられたが、保持時間が異なり厳密には一致しなかった (表 3)。(参照 3)

表 3 肝臓及び糞中のナラシンの代謝物の分布状況

群 (投与量、時点)	肝臓	糞
第 1 群 (30 mg/kg 体重、最終投与 0 日後)	N-1、N-3、N-4、N-5、N-7	N-2、N-3、N-4、N-5、N-6、N-7
第 2 群 (30 mg/kg 体重、最終投与 3 日後)	記載なし	記載なし
第 3 群 (45 mg/kg 体重、最終投与 0 日後)	N-1、N-3、N-4、N-5、N-7	N-1、N-2、N-3、N-4、N-5、N-6、N-7

豚 (交雑種、雌雄各 2 頭/群/時点) に  $^{14}\text{C}$  標識ナラシンを 7 日間混餌投与 (30 及び 45 ppm) し、30 ppm 投与群では最終投与 0 日後、45 ppm 投与群では最終投与 0 及び 3 日後の排泄物中放射活性について検討した。糞中からは総放射活性の大部分 (95~97%) が回収されたが、尿中からは少量 (3~5%) であり、豚における主要排泄経路は糞中であると考えられた。(参照 3)

#### (5) 薬物代謝比較試験 (ラット及び鶏)

$^{14}\text{C}$  標識ナラシンが投与されたラット (Wistar 系、4 匹、経口投与 : 約 10 mg/kg 体重) 及び鶏 (肉用鶏、4 羽、混餌投与 : 80 ppm) の糞中代謝物を比較した。

その結果、2 動物種間で質的には同様であったが量的にはいくらかの違いがみられた。最も多量にみられた代謝物は NM-1、NM-2 及び NM-3 の 3 種類であった。ラット糞中ではこれらの代謝物は糞中総放射活性のそれぞれ約 4、19 及び 10% であった。鶏の排泄物中では、それぞれ 7、4 及び 3% であった。鶏排泄物から分離された NM-3 は、質量分析により暫定的に 2-水酸化ナラシンのナトリウム塩と同定された。鶏及びラットの排泄物中には、他に相対量が 3% を超える代謝物はなかった。

$^{14}\text{C}$  標識ナラシンを混餌投与された鶏 (4 羽) の肝臓中に多くの標識代謝物が存在していたが、肝臓中総放射活性の 5% を超えるものはなかった。量的に最も多い化合物は  $^{14}\text{C}$  標識未変化体であり、総放射活性の約 8.8% であった。肝臓中代謝物は鶏及びラットの排泄物中のそれと質的には同様であった。TLC を用いて排泄物中の代謝物と比較することにより NM-1、NM-2 及び NM-3 が同定された。(参照 3)

## (6) 薬物代謝比較試験 (ラット、イヌ及び牛)

牛、イヌ及びラットに<sup>14</sup>C 標識ナラシンを7日間経口投与し、代謝物を比較した。肝臓及び糞から抽出された放射活性残留物を溶媒分配、シリカゲルクロマトグラフ及びTLCにより分画した。

3動物種ともに複数の代謝物が存在し、糞抽出物は20種類以上の放射活性代謝物を含有していたが、いずれも主要な代謝物ではなかった。

カラム溶出プロファイルとTLCオートラジオグラフの比較から代謝物パターンはラット、イヌ及び牛の間で質的には同様であるが量的な違いがみられた。ラット及び鶏ですでに同定された8種類の2又は3-水酸化ナラシン代謝物に加え、牛の糞及び肝臓からはさらに2種類の代謝物が分離された。これらはNM-12及びNM-13であり、それぞれ1及び2-水酸化代謝物と同定された。両代謝物はともにラット及びイヌで存在しており、牛では最も一般的な代謝物であった。牛肝臓中の放射活性の定量分画によりNM-12が最も多く(約16%)、NM-3及びNM-6はともに2-水酸化誘導体で総量の約4%を占めることが判明した。肝臓中放射活性の残量は微量の数種類の代謝物で構成され、約10%の非抽出性放射活性と10~15%の極性残留物であった。肝臓中残留のごく少量(3%未満)が未変化体であった。

本比較試験結果から、ラット、イヌ及び牛ではナラシンの経口投与により同じ代謝物が生じると考えられた。(参照3)

## (7) 代謝物の生物活性

ラット肝ミトコンドリアにおいて、バリノマイシン、モナゾマイシン及びアルカリ性金属カチオン添加により誘導されたATPase又はATPの加水分解がナラシンにより減弱したという知見に続き、ナラシン代謝物のラット肝ミトコンドリアにおけるATPaseと酸素吸収についての作用が明らかにされた。より最近の試験において、代謝物F(2-水酸化ナラシン)、NM-3、NM-2並びにNM-6及びNM-3の混合物という4種類の代謝物が検出された。4種類のナラシン代謝物はラット肝ミトコンドリアにおいてリンゴ酸及びグルタミン酸の酸化におけるATPase活性及び酸素吸収率に対し比較的弱い作用を示した。4種類の代謝物は、ナラシンの1/215以下のイオノフォア作用を示した。(参照3)

## 2. 残留試験

### (1) 残留試験 (鶏・5日間投与①)

鶏(雌雄各10羽/時点)に<sup>14</sup>C 標識ナラシンを5日間混餌投与(71 ppm)し、最終投与6時間後の組織中残留を調べた。

その結果、組織中平均残留はナラシンとして、肝臓、腎臓、筋肉及び皮膚/脂肪でそれぞれ0.272、0.068、0.015(定量限界)未満及び0.082 mg/kgであった。(参照5)

### (2) 残留試験 (鶏・5日間投与②)

肉用鶏(6週齢、雌雄各4羽/群)にナラシンを5日間混餌投与(80 ppm)し、最終投与0、6、12及び24時間後の組織中残留がHPLCを用いて測定された。



結果を表4に示した。

脂肪を除いてナラシンは速やかに組織から消失することが確かめられた。脂肪では最終投与6時間後でもまだ測定可能であり、最終投与12時間後に検出可能な個体もあった。(参照5)

表4 鶏にナラシンを5日間混餌投与後の組織中残留 (mg/kg)

組織	投与後時間 (時間)			
	0	6	12	24
肝臓	<0.04 <sup>1)</sup>	<0.01	<0.01	<0.01
筋肉	<0.01 <sup>2)</sup>	<0.01	<0.01	<0.01
腎臓	<0.025 <sup>3)</sup>	<0.01	<0.01	<0.01
脂肪/皮膚	0.059	<0.028 <sup>1)</sup>	<0.025 <sup>3)</sup>	<0.01

1) LOD及びLOQ未満のものが含まれる場合には、LOD又はLOQとして計算した最大平均値

2) 検出限界 (LOD) : 0.01 mg/kg

3) 定量限界 (LOQ) : 0.025 mg/kg

### (3) 残留試験 (鶏・5日間投与③)

鶏 (約8週齢、3羽/時点) に<sup>14</sup>C標識ナラシンを5日間混餌投与 (80 ppm) し、最終投与0、1及び3日後に組織中放射活性を測定した。

その結果、放射活性は肝臓で最も高く、筋肉で最も低かった。最終投与3日後に、肝臓 (0.065 mg/kg) を除いた全組織でナラシンとして0.025 mg/kg未満となった。(参照7)

### (4) 残留試験 (鶏・5日間投与④)

鶏 (約8週齢、15羽) に<sup>14</sup>C標識ナラシンを5日間混餌投与 (100 ppm) し、肝臓、腎臓、脂肪、筋肉及び皮膚を採取し、残留性について調べた。

最終投与0時間後における組織中残留は、肝臓、脂肪、皮膚、腎臓及び筋肉でそれぞれ0.45、0.21、0.14、0.14及び0.02 mg/kgであった。時間とともに残留は全組織で速やかに減少し、最終投与1日後には50%以上が減少し、肝臓 (0.18 mg/kg) を除いた全組織で0.1 mg/kg未満となった。(参照7)

### (5) 残留試験 (鶏・5日間投与⑤)

鶏 (肉用鶏、32羽) にナラシンを5日間混餌投与 (80 ppm) し、最終投与0、6、12及び24時間後の組織中残留がHPLCを用いて測定された (定量限界 : 0.025 mg/kg、検出限界 : 0.0006 mg/kg)。

その結果、どの時点においても筋肉及び腎臓からは検出されなかった。肝臓では、最終投与6時間後のみに、皮膚/脂肪では、最終投与0及び6時間後に検出された。最終投与12時間後以降に残留は認められなかった。(参照7)

(6) 残留試験 (鶏・21 日間投与)

鶏(肉用鶏、4週齢)にナラシンを21日間混餌投与(8(1/10量)及び0.8(1/100量)ppm)し、バイオオートグラフにより組織中残留が検討された。

その結果、両群ともに、最終投与2時間及び1日後の時点で、全例が検出限界(0.025 mg(力価)/L)未満となった。(参照6)

(7) 残留試験 (鶏・42 日間投与①)

初生雛(肉用鶏)にナラシンを42日間混餌投与(0,80(常用量)及び160(2倍量)ppm)し、バイオオートグラフにより組織中残留が検討された。

結果を表5に示した。

80 ppm 投与群では、投与期間中(21日齢)の皮膚、脂肪及び小腸に残留がみられたが、最終投与3日後には全組織が検出限界(0.025 mg(力価)/L)未満となった。160 ppm 投与群では、投与期間中(21日齢)の皮膚、脂肪、肝臓及び小腸に残留がみられたが、最終投与3日後には全組織が検出限界未満となった。(参照6)

表5 肉用鶏におけるナラシンの混餌投与後の残留性① (mg(力価)/L)

混餌濃度 (ppm)	組織	投与期間中*	最終投与後時間			
			2時間	1日	3日	5日
80	血漿	<0.025	<0.025	<0.025		
	皮膚	0.134	0.036	<0.025~0.026	<0.025	<0.025
	脂肪	0.127	0.091	<0.025	<0.025	
	筋肉	<0.025	<0.025	<0.025		
	肝臓	<0.025	<0.025	<0.025		
	腎臓	<0.025	<0.025	<0.025		
	小腸	0.041	<0.025	<0.025	<0.025	
160	血漿	<0.025	<0.025	<0.025		
	皮膚	0.443	0.083	<0.025~0.032	<0.025	<0.025
	脂肪	0.204	0.159	<0.025	<0.025	
	筋肉	<0.025	<0.025	<0.025		
	肝臓	<0.025~0.029	<0.025	<0.025		
	腎臓	<0.025	<0.025	<0.025		
	小腸	0.068	<0.025~0.045	<0.025	<0.025	

\* 投与期間中：21日齢 検出限界：0.025 mg(力価)/L

(8) 残留試験 (鶏・42 日間投与②)

(7)と同様、初生雛(肉用鶏)にナラシンを42日間混餌投与(0,80(常用量)及び160(2倍量)ppm)し、バイオオートグラフにより組織中残留が検討された。

結果を表6に示した。

80 ppm 投与群では、投与期間中(21日齢)及び最終投与2時間後の皮膚及び脂肪に残留が認められたが、最終投与1日後には全組織が検出限界(0.025 mg(力価)/L)未満となった。160 ppm 投与群では、投与期間中(21日齢)の血漿、皮膚、脂肪、肝臓及

び小腸に残留が認められたが、最終投与3日後には全組織が検出限界未満となった。(参照6)

表6 肉用鶏におけるナラシンの混餌投与後の残留性② (mg(力価)/L)

混餌濃度 (ppm)	組織	投与期間中*	最終投与後時間			
			2時間	1日	3日	5日
80	血漿	<0.025	<0.025	<0.025		
	皮膚	0.055	0.037	<0.025	<0.025	<0.025
	脂肪	0.104	0.097	<0.025	<0.025	
	筋肉	<0.025	<0.025	<0.025		
	肝臓	<0.025	<0.025	<0.025		
	腎臓	<0.025	<0.025	<0.025		
	小腸	<0.025	<0.025	<0.025	<0.025	
160	血漿	<0.025~0.027	<0.025	<0.025		
	皮膚	0.121	0.061	<0.025~0.036	<0.025	<0.025
	脂肪	0.337	0.118	<0.025	<0.025	
	筋肉	<0.025	<0.025	<0.025		
	肝臓	0.028	<0.025	<0.025		
	腎臓	<0.025	<0.025	<0.025		
	小腸	0.076	<0.025~0.031	<0.025	<0.025	

\* 投与期間中：21日齢 検出限界：0.025 mg(力価)/L

#### (9) 残留試験(鶏・42日間投与③)

鶏(肉用鶏、9羽/時点)にナラシンを42日間混餌投与(80及び160 ppm)し、最終投与2、24、72、120及び168時間後にバイオオートグラフにより組織中残留が検討された(定量限界：0.025 mg/kg)。

その結果、80 ppm投与群では、脂肪及び皮膚で最終投与2及び24時間後に定量された。筋肉、肝臓及び腎臓では、定量可能な残留はみられなかった。160 ppm投与群では、皮膚で最終投与24時間後、脂肪で最終投与2時間後に定量された。筋肉、肝臓及び腎臓では、どの時点においても定量可能な残留はみられなかった。(参照7)

#### (10) 残留試験(鶏・45日間投与)

鶏(肉用鶏、80羽)にナラシンを少なくとも45日間混餌投与(80 ppm)し、最終投与6、12、18及び28時間後にバイオオートグラフにより組織中残留が検討された(定量限界：0.005 mg/kg)。

組織中平均残留濃度は、最終投与6時間後の0.0861±0.0506 mg/kg(脂肪)及び0.0588±0.0149 mg/kg(皮膚)から最終投与28時間後の0.0130±0.0095 mg/kg(脂肪)及び0.0082±0.0026 mg/kg(皮膚)までの範囲であった。(参照7)

#### (11) 残留試験(鶏卵)

産卵鶏にナラシンを21日間混餌投与(0.8(常用量の1/100)及び8(常用量の1/10) ppm)し、最終投与5及び7日後のナラシンの卵への移行について検討された。

その結果、0.8 ppm 投与群では、いずれの時点においても卵黄及び卵白中残留は検出限界 (0.025 mg (力価)/L) 未満であった。8 ppm 投与群では、最終投与 5 日後の卵黄に検出限界値付近の残留が認められたものの、最終投与 7 日後には全例が検出限界未満となった。卵白中残留は全例が検出限界未満であった。(参照 6)

#### (1 2) 残留試験 (牛・5 日間投与)

牛 (ヘレフォード種、去勢雄 6 頭及び未経産雌 3 頭) に  $^{14}\text{C}$  標識ナラシンを 5 日間経口投与 (1 日総投与量の 13 ppm : 6.6 ppm 相当量をゼラチンカプセルで 2 回/日投与) し、最終投与 0 時間、1 及び 3 日後の組織中濃度が比較された。

肝臓中に放射活性の最高濃度がみられ、最終投与 0 時間、1 及び 3 日後にはそれぞれナラシンとして 0.492、0.233 及び 0.050 mg/kg (去勢雄 3 頭及び未経産雌 1 頭/時点) であった。肝臓中総放射活性の 5 % 未満がナラシンであった。最終投与 1 日後では 1 例の肝臓のみにナラシンが検出された。筋肉、脂肪及び腎臓では全て最終投与 0 時間後でも 0.02 mg/kg 未満であった。(参照 3)

#### (1 3) 残留試験 (牛・140 日間投与)

牛にナラシンを 140 日間混餌投与 (66 ppm : 150 mg/頭/日) し、組織中残留について TLC-バイオオートグラフにより検討された (検出限界 : 0.005 mg (力価)/kg)。残留は脂肪及び肝臓で最終投与 48 時間後までみられた (最終投与 0 時間後 : 0.010 以下 ~ 0.020 mg (力価)/kg、最終投与 24 及び 48 時間後 : 0.005 以下 ~ 0.010 mg (力価)/kg)。筋肉では最終投与 0 時間後に 0.005 mg (力価)/kg 未満で最終投与 24 時間後には残留はみられなかった。腎臓では、どの時点においても残留はみられなかった。(参照 7)

#### (1 4) 残留試験 (豚・5 日間投与)

豚 (12 頭) に  $^{14}\text{C}$  標識ナラシンを 5 日間混餌投与 (37.5 ppm) し、TLC-バイオオートグラフにより残留性について検討された。最終投与 0、24、48 及び 72 時間後の平均肝臓中総残留は、それぞれ 0.51、0.44、0.26 及び 0.18 mg/kg であった。筋肉及び腎臓では、最終投与 0 時間後に放射活性残留はみられず、脂肪では 0.05 mg (力価)/kg 未満であった。(参照 7)

#### (1 5) 残留試験 (豚・14 日間投与)

豚 (24 頭) にナラシンを 14 日間混餌投与 (0 及び 45 ppm) し、最終投与 12 及び 24 時間後の組織中残留について HPLC により検討された (定量限界 : 0.025 mg/kg)。

その結果、どの時点においても定量限界以上の残留はみられなかった。(参照 7)

### 3. 遺伝毒性試験

ナラシンの遺伝毒性に関する各種 *in vitro* 及び *in vivo* 試験の結果を表 7 及び 8 に示した。(参照 3、6)

表 7 *in vitro* 試験

試験	対象	用量	結果
復帰突然変異試験	<i>Salmonella typhimurium</i> C3076、D3052、G46、TA98、 TA100、TA1535、TA1537、 TA1538 <i>Escherichia coli</i> WP2、WP <i>uvrA</i>	0.1~1,000 µg/plate (±S9) (濃度勾配プレート法) 又は 1、10、100、1,000 µg/mL (±S9)	陰性
	<i>S. typhimurium</i> TA98、TA100、TA1535、TA1537、 TA1538	125~1,000 µg/plate (±S9)	陰性
染色体異常試験	チャイニーズハムスター肺由来細胞	連続処理： 0.625~20 µg/mL (±S9) 24 又は 48 h 短時間処理： 12.5~100 µg/mL (-S9) 50~200 µg/mL (+S9)	陰性
前進突然変異試験	マウスリンパ腫細胞 L5178Y TK+/-	0.1、0.5、1、2、3、4、5、 10 µg/mL (±S9)	陰性
不定期 DNA 修復合成 (UDS) 試験	ラット肝細胞初代培養細胞	0.5~1,000 µmol/L、20 h	陰性
		0.0005~1 µg/mL、20 h	陰性

表 8 *in vivo* 試験

試験	対象	用量	結果
姉妹染色分体 交換 (SCE) 試験	チャイニーズハムスター骨髄細胞	1、5、10、15、20、25、30、 35、40、45、50 mg/kg 体重、 19 h	陰性

*in vitro* 及び *in vivo* の遺伝毒性試験の結果はいずれも陰性であることから、ナラシンは生体にとって問題となる遺伝毒性はないものと考えられた。

#### 4. 急性毒性試験

##### (1) 急性毒性試験 (マウス、ラット、ウサギ、鶏、うずら、豚及び馬)

ナラシンの各動物種における経口急性毒性試験の結果を表 9 に示した。(参照 3)

表 9 各動物種におけるナラシンの経口 LD<sub>50</sub>

動物種 (系統)	経口 LD <sub>50</sub> ±SD (mg (力価)/kg 体重)		投与ナラシン剤型
	雄	雌	
マウス (ICR)	22.8±2.9	36.7±4.3	精製物
マウス (ICR)	33 (30~37)	34 (30~39)	菌糸体
マウス (ICR)	15.8±2.6	16.7±2.1	菌糸体
ラット (Wistar)	40.8±4.0	33.8±6.0	精製物
ラット (Fischer344)	22 (19~26)	24 (21~27)	菌糸体
ラット (Fischer344)	31.6±3.06	44.3±5.78	菌糸体
ウサギ	15.5±3.9		精製物
鶏	87.7±16.4	/	力価の異なる 3 ロット を使用: 1,000、943.4、 82.6 mg (力価)/g
	89.1±24.1		
	80.1±14.3		
鶏	54±19.7	/	力価の異なる 3 ロット を使用: 1,000、943.4、 82.6 mg (力価)/g
	40.2±22.6		
	75.5±8.5		
鶏	24.9±5.7	/	力価の異なる 4 ロット を使用: 93.3、110、 86.4、82.5 mg (力価)/g
	53.9±11.6		
	42.9±8.5		
	43.3±5.0		
鶏	51.6±27.02		菌糸体
うずら (Bobwhite)	73.96±9.15	70~100	菌糸体
	102.9 (46.6~227.5)		菌糸体
豚	/		菌糸体
馬	0.8		菌糸体

菌糸体又は精製ナラシンの経口及び静脈内投与による臨床症状はマウス、ラット及び鶏で同様であり、活動性低下、脚弱 (leg weakness) 及び運動失調が特徴的であった。ウサギでは、10 mg (力価)/kg 体重の菌糸体ナラシンを経口投与しても臨床症状は生じなかった。同量を投与されたイヌでは投与 1 時間後に嘔吐が観察されたのみであった。(参照 3)

ラット及びマウスでは、臨床症状として活動性低下、脚弱、立ち直り反射の消失、呼吸困難及び眼瞼下垂が観察され、ラットでは、下痢及び利尿も観察された。また、ラットでは、純度 100 % のナラシンを静脈内投与した場合間代性痙攣を呈した。急性毒性に被験物質の純度等の違いによる大きな差異はみられなかった。(参照 5)

馬はポリエーテル系イオノフォア抗生物質の毒性影響の感受性が非常に高いことが知られており、全被験動物種の中で最低の LD<sub>50</sub> (菌糸体ナラシン: 0.8 mg (力価)/kg 体重) を示した。馬が示すナラシン臨床症状は、食欲不振、頻脈、苦痛の徴候、協調運動失調及び間欠的な多量発汗であった。腎臓、肝臓、肺、脾臓、胃、心臓及び骨格筋の病

理組織学的検査では心筋及び骨格筋に初期の筋線維変性及び壊死性変化がみられた。  
(参照 3)

## (2) 急性毒性試験 (マウス及びラット)

純度の異なるナラシン原体 (精製物及び菌糸体 : それぞれ純度 101.8 及び 13.2 %) 及び製剤 (10 及び 1 % 製剤) の経口急性毒性試験結果を表 10 に示した。

主要な臨床症状は、自発運動の低下、呼吸深大化、腹臥姿勢、立毛、全身の筋弛緩等であった。剖検では臓器に著変はみられなかった。(参照 6)

表 10 マウス及びラットにおける純度の異なるナラシンの経口 LD<sub>50</sub>

ナラシン剤型	動物種	経口 LD <sub>50</sub> (mg/kg 体重)	
		雄	雌
精製物 (純度 101.8 %)	マウス	90 (63~121)	61 (52~71)
	ラット	81 (59~112)	75 (44~116)
菌糸体 (純度 13.2 %)	マウス	453 (352~589)	454 (387~534)
	ラット	420 (328~543)	470 (350~664)
10 % 製剤	マウス	654 (465~882)	500 (383~644)
	ラット	805 (585~1,338)	712 (468~1,004)
1 % 製剤	マウス	>2,000	
	ラット	>2,000	

## 5. 亜急性毒性試験

### (1) 3 か月間亜急性毒性試験 (マウス①)

マウス (ICR 系、約 30 日齢、雌雄各 15 匹/群) を用いた菌糸体ナラシン (純度 4.3 %) の 3 か月間混餌投与 (0、10、20 及び 40 ppm : 0、1.5、3 及び 6 mg (力価)/kg 体重/日) による亜急性毒性試験が実施された。眼科学的検査、血液学的検査、血液生化学的検査、臓器重量測定及び病理組織学的検査が行われた。

試験期間中、死亡はみられず、投与に起因する一般状態の変化及び体重への影響はみられなかった。

定期的な眼科学的検査でも異常は認められなかった。

血液学的検査では、全群とも正常値の範囲内であった。

血液生化学的検査では、40 ppm 投与群の雌雄で Cre が低下した。20 ppm 以上投与群の雄で T.Bil が低下し、雌では対照群に比べ有意に高かった。他の血液生化学的検査値は正常であり、投与に起因した肝障害がみられなかったために、これらの所見には毒性学的意義はないものと考えられた。

臓器重量は対照群と同程度であった。

本試験で観察された剖検及び病理組織学的所見は本系統のマウスに通常みられるものであり、投与によるものではなかった。

以上より、本試験における NOAEL は、最高用量である 40 ppm (6 mg (力価)/kg 体重/日) と考えられた。(参照 3)

## (2) 3 か月間亜急性毒性試験 (マウス②)

マウス(ICR系、約27日齢、雌雄各15匹/群)を用いた菌糸体ナラシン(純度10.16%)の3か月間混餌投与(0、60、80及び100ppm:0、9、12及び15mg(力価)/kg体重/日)による亜急性毒性試験が実施された。眼科学的検査、血液学的検査、血液生化学的検査、臓器重量測定及び病理組織学的検査が行われた。

試験期間中、死亡は100ppm投与群の雄1例のみで、投与開始57日後に死亡した。死亡動物では亀頭包皮炎症及び膀胱拡張がみられたが、1例のみの事例であること及び生存した動物に同様の所見がみられなかったことから、死亡は偶発的であり投与に起因するものではないと考えられた。

投与に起因する臨床症状はみられず、最終の眼科学的検査でも異常はみられなかった。

体重は、試験終了時に80及び100ppm投与群の雄で、対照群に対しそれぞれ26及び27%減少した。100ppm投与群の雌では、対照群に比べ14%減少した。これらの平均体重減少は、投与開始35日後に初めて観察され試験期間中持続した。

血液学的検査では、各投与群の雄の数例及びいくつかの投与群の雌数例で血液濃縮が示唆されたが、脱水の程度を反映したものであり、投与に直接関連するものではないと考えられた。

血液生化学的検査では、60ppm投与群の雄2~3例でALTが上昇したが、80ppm以上投与群ではみられないため、投与に起因するものではないと考えられた。

臓器重量では、100ppm投与群の精巣及び子宮の体重比重量(以下「比重量」という。)が増加した。雄の精巣並びに雌の脾臓及び子宮を除き臓器重量は減少した。これらの所見は、体重減少に伴うものであり、病理組織学的所見が伴わないため毒性学的意義はないと考えられた。

本試験における病理学的所見は本系統のマウスに通常みられるものであり投与によるものではなかった。

以上より、本試験における毒性学的に意味のある唯一の変化は80ppm以上投与群の雄及び100ppm投与群の雌における対照群と比較した平均体重の減少であることから、本試験のNOAELは、60ppm(9mg(力価)/kg体重/日)と考えられた。(参照3)

## (3) 3 か月間亜急性毒性試験 (マウス③)

マウス(B6C3F<sub>1</sub>、5~6週齢、雌雄各15匹/群)を用いた菌糸体ナラシン(純度15.12%)の3か月間混餌投与(0、10、20、40及び60ppm)による亜急性毒性試験が実施され、一般状態、体重、血液学的検査、血液生化学的検査、剖検、臓器重量及び病理組織学的検査について検討された。

毒性学的に意義のある所見は、60ppm投与群の雄及び40ppm以上投与群の雌における体重増加抑制であったが、被験物質の直接的影響と共に嗜好性の問題による摂餌量低下の影響も考えられた。

本試験におけるNOAELは20ppmであると考えられた。(参照6)



#### (4) 3か月間亜急性毒性試験 (ラット①)

ラット (Wistar 系、28~35 日齢、雌雄各 15 匹/群) を用いた菌糸体ナラシン (純度 4.3%) の 3 か月間混餌投与 (0、15、30 及び 60 ppm : 雄で 0、1.1、2.2 及び 4.7 mg (力価)/kg 体重/日に相当、雌で 0、1.1、2.6 及び 5.7 mg (力価)/kg 体重/日に相当) による亜急性毒性試験が実施された。眼科学的検査、血液学的検査、血液生化学的検査、臓器重量測定及び病理組織学的検査が行われた。

試験期間中、死亡はみられず、投与に起因した臨床症状は観察されなかった。

試験終了時、対照群と比較し食餌効率は 15 ppm 投与群の雌雄では同等か又はわずかに上昇し、60 ppm 投与群の雄では 21% 低下し、30 及び 60 ppm 投与群の雌ではそれぞれ 16 及び 46% 低下した。

体重は、60 ppm 投与群の雌雄で対照群と比較して増加抑制 (雌雄それぞれ 40 及び 25%) がみられた。30 ppm 以上投与群の雌雄で平均体重が減少し、60 ppm 投与群の平均体重は、対照群と比較し雄で 18% に、雌で 21% に減少した (雌では統計学的に有意)。

血液学的検査では、投与群の雄の RBC、Ht 及び Hb が有意に増加し、血液濃縮が示唆されたが、脱水の程度を反映したものであり、投与とは直接関連がないと考えられた。

血液生化学的検査では、15 ppm 投与群の雌 1 例に ALT の上昇が、全投与群の雌及び 30 ppm 投与群の雄で Glu の上昇及び投与群の雌雄で BUN の低下がみられた。これらの所見は、用量相関性がなく、試験施設での正常値の範囲内であり、投与に関連した病理組織学的所見も認められないことから、投与に起因するものとは考えられなかった。

試験終了時の体重データから、投与の影響が示唆された (60 ppm 投与群の雌では統計学的に有意)。臓器重量では、60 ppm 投与群の精巣及び卵巣の比重量が対照群と比較して増加し、雌では腎臓、心臓、脾臓、甲状腺及び副腎の比重量も有意に高かった。これらの変化は体重減少との関連が示唆され、投与に関連した病変がみられなかったために、毒性学的意義はないと考えられた。

30 ppm 以上投与群における食餌効率、平均体重及び平均体重増加に対する影響に基づき、本試験の NOAEL は 15 ppm (1.1 mg (力価)/kg 体重/日) と考えられた。(参照 3)

#### (5) 3か月間亜急性毒性試験 (ラット②)

ラット (SD 系、雌雄各 10 匹/群) を用いた精製ナラシン (純度 99.3%) の 91 日間混餌投与 (0、15、30 及び 60 ppm) による亜急性毒性試験が実施された。さらに、別の群 (雌雄各 10 匹/群) を設け、菌糸体ナラシン (純度 12.3%) を混餌投与 (0 及び 60 ppm) した。対照群には基礎飼料を、菌糸体投与のプラセボ群にはナラシンを除去した菌糸体を投与した。

試験期間中、死亡はみられなかった。

臨床症状では、精製ナラシン 60 ppm 投与群の雌 5 例並びに菌糸体ナラシン 60 ppm 投与群の雄 1 例及び雌 9 例に消瘦がみられた。

体重では、精製及び菌糸体ナラシン 60 ppm 投与群の雌雄に摂餌量低下を伴う増加抑制がみられ、菌糸体ナラシン投与群でより顕著であった。