

0.5 から 48 日までの間に摘出した組織中の未変化体と総残留物の比率の平均は肝が 0.40、腎臓が 0.62、投与部位が 0.77、筋肉が 0.71、残留マーカ―と総残留物の比率は順に肝が 0.61、腎臓が 0.78、脂肪が 0.46、筋肉が 0.79 であった。注射部位については投与直後(0.5 日)の時点では最も高い残留が認められたが、5 日以降は肝臓より低くなり、その後経時的に減少した。

【ブタにおける体内分布】⁽¹¹⁾

ブタ(約 2-3 カ月齢の雌及び去勢雄計 18 頭⁹⁾)に ¹⁴C 標識ツラスロマイシン 2.5mg/kg 体重を単回筋肉内投与し、最長 36 日までの筋肉、皮膚/脂肪、肝臓、腎臓及び注射部位について組織が採取され、総放射活性、未変化体、残留マーカ―¹の測定が実施されている。組織中濃度は注射部位を除き調査されたいずれの時点においても腎臓で最も高く、ついで肝臓、皮膚/脂肪、筋肉の順であったが経時的に減少し、皮膚/脂肪、筋肉については 36 日の時点で検出限界未満となったが、腎臓及び肝臓ではそれぞれ未変化体が 0.255 mg/kg 及び 0.210 mg/kg 残留していた。未変化体と総残留物の比率は順に肝が 0.96、腎臓が 1.02、筋肉が 0.96、皮膚/脂肪が 0.18、残留マーカ―と総残留物の比率は順に肝が 0.94、腎臓が 0.83、筋肉が 0.86、皮膚/脂肪が 0.28 であった。注射部位については 4 日の時点を除き最も高い残留が認められたが、経時的に減少した。

【ウシにおける代謝物】⁽¹²⁾

体内分布試験⁵⁾ ⁽¹⁰⁾で検討された各組織及び胆汁、尿及び糞中の代謝物の同定が実施されている。いずれの試料においても主要な残留放射活性は未変化体によるものであり、筋肉、肝臓で約 66%、腎臓で約 77%、脂肪では約 36%を占めた。主な代謝物はツラスロマイシンの脱クラディノース環体であったが、その含有量は最大で糞中の約 8.76%であった。胆汁中で認められたツラスロマイシンの脱プロピル体(約 16.3%)を除き、その他の代謝物の割合はいずれも低かった。

【ブタにおける代謝物】⁽¹²⁾

体内分布試験⁹⁾ ⁽¹¹⁾で検討された各組織及び胆汁、尿及び糞中の代謝物の同定が実施されている。いずれの試料においても主要な残留放射活性は未変化体によるものであり、6-9 割を占めた。その他の代謝物の割合はいずれも低かった。

2-2. 毒性試験

(1) 急性毒性試験

Sprague-Dawley 系ラット(雌雄各 3 匹/群)を用いた試験において、経口投与では 2000 mg/kg 体重までの単回投与で死亡は認められなかった。静脈内投与では 11.3 mg/kg 体重では単回投与で死亡は認められなかったが、33.8 mg/kg 体重では全例が死亡した。⁽¹³⁾

ビーグル犬(雌雄各 2 匹/群)を用いた試験において、経口投与では 1000 mg/kg 体重まで、静脈内投与では 30 mg/kg 体重までの単回投与で死亡は認められなかった。⁽¹⁴⁾

⁹ 未処理対照群 2 頭を含む

¹ 組織の酸消化によってツラスロマイシン及びその主な代謝物から生じる共通のフラグメントを残留マーカ―としている

⁵ 構造異性体 Cas. No. 217500-96-4 を投与

¹ 30mg/kg 体重の静脈投与については 1 頭

(2) 亜急性毒性試験

【ラットを用いた1ヵ月間亜急性毒性試験】⁽¹⁵⁾

Sprague-Dawley 系ラット(雌雄各 10 匹/群)を用いた強制経口(0、10、50、200 mg/kg 体重/日)投与^uにおける1ヵ月間の亜急性毒性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。対照群にはクエン酸緩衝水が投与された。なお、試験期間中に死亡例は認められなかった。

一般的な臨床症状観察、体重変化、摂餌量では、特に投与に起因した異常は認められなかった。

血液学的検査では、200mg 投与群で単球及び好酸球の増加が認められた。

臓器重量では、200mg 投与群の雄で相対肝臓重量の低値が認められた。

血液生化学的検査では、200mg 投与群の雄で AST、ALT の高値が認められた。

尿検査、眼検査、剖検及び病理組織学的検査では特に投与に起因した異常は認められなかった。

本試験における NOAEL は 50mg/kg 体重/日であった。

【ラットを用いた3ヶ月間亜急性毒性試験】⁽¹⁶⁾

Sprague-Dawley 系ラット(雌雄各 20 匹/群)を用いた強制経口(0、5、15、100mg/kg 体重/日)投与における3ヵ月間の亜急性毒性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。対照群にはクエン酸緩衝脱イオン水が投与された。なお、試験期間中に死亡例は認められなかった。

一般的な臨床症状観察、体重変化、摂餌量、血液学的検査では、特に投与に起因した異常は認められなかった。

血液生化学的検査では、15mg 投与群雄で AST、ALT、の高値、100mg 投与群の雌雄で AST、ALT、雌でコハク酸脱水素酵素(SDH)の高値、雄で総たん白質、アルブミン及びグロブリンの低値が認められた。

尿検査、眼検査、臓器重量、剖検及び病理組織学的検査では特に投与に起因した異常は認められなかった。100mg 投与群について8種類の肝チトクロム P450 系酵素の活性が測定されたが、いずれも対照群と差は認められなかった。

本試験における NOAEL は 5mg/kg 体重/日であった。

また、本試験の衛星群^vを用いて、肺組織中のツラスロマイシン濃度が測定されている。肺組織中のツラスロマイシン濃度は高投与量でより高い値が認められた。経時的には投与開始後 30 日までの増加率が高く、その後試験終了時までの増加は緩やかであった。

【イヌを用いた1ヵ月間亜急性毒性試験】⁽¹⁷⁾

ビーグル犬(雌雄各4頭/群)を用いた強制経口投与(0、5、15、50mg/kg 体重/日)による1ヵ月間の亜急性毒性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。対照群にはクエン酸緩衝脱イオン水が投与された。

一般的な臨床症状観察では、対照群を含めて軟便が認められたが、50 mg 投与群の3頭で頻度が高かった。

体重変化、摂餌量、血液学的検査では、特に投与に起因した異常は認められなかった。

血液生化学的検査では、50 mg 投与群の雌雄で ALT、雄で AST の上昇が認められ、雄では総たん白質、グロブリンの軽度な低値が認められた。

^u 構造異性体 Cas. No. 217500-96-4 を投与

^v 予備的に本試験群と平行して同様に被験物質処理された群。

尿検査には特に異常は認められなかった。

臓器重量では、50 mg 投与群の雌で絶対及び相対腎臓重量に高値が認められた。

血圧が 50 mg 投与群の雌で低下した。

心拍数、呼吸数、体温、心電図、眼検査、臓器重量、剖検及び病理組織学的検査では特に投与に起因した異常は認められなかった。

本試験における NOAEL は 15 mg/kg 体重/日であった。

【イヌを用いた 3 ヶ月間亜急性毒性試験】⁽¹⁸⁾

ビーグル犬 (雌雄各 4 頭/群)を用いた強制経口投与(0、5.7、17.0、56.7 mg/kg 体重/日) による 3 ヶ月間の亜急性毒性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。なお、対照群にはクエン酸緩衝脱イオン水が投与された。

試験期間中、56.7mg 投与群の 1 頭が誤投与により死亡した他に死亡例は認められなかった。

一般的な臨床症状観察では、対照群を含めて軟便が認められたが、56.7 mg 投与群の雌雄で頻度が高かった。

体重変化、摂餌量、血液学的検査では、特に投与に起因した異常は認められなかった。

血液生化学的検査では、17mg 投与群の雌 1 頭で AST、56.7 mg 投与群の雌雄で ALT、AST の上昇が認められた。

尿検査には特に異常は認められなかった。

心拍数、呼吸数、体温、血圧、心電図に特に投与に起因した異常は認められなかった。

眼検査では 17mg 投与群の雌雄各 1 例で、限局性で片側性の小さな銀色点が複数、網膜の壁紙(タペタム)結合部付近に認められた。この所見に対応する病理組織学的異常は認められなかった。また、この変化は対照群を含め、他の投与群では認められなかった。

臓器重量、剖検及び病理組織学的検査では特に投与に起因した異常は認められなかった。投与終了後、9 種類の肝チトクロム P450 系酵素の活性が測定されたが、いずれも対照群と差は認められなかった。投与終了時の肺組織中のツラスロマイシン濃度は、高用量群でより高かった。

本試験における NOAEL は 5.7mg/kg 体重/日であった。

(3)慢性毒性試験

【イヌを用いた 1 年間慢性毒性試験】⁽¹⁹⁾

ビーグル犬 (雌雄各 4 頭/群)を用いた強制経口投与(0、2、5、25 mg/kg 体重/日)による 1 年間の慢性毒性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。なお、対照群にはクエン酸緩衝脱イオン水が投与された。なお、試験期間中により死亡例は認められなかった。

一般的な臨床症状観察では、投与群で散発的な流涎が認められたが、5 mg 以上投与群でわずかに頻度が高く、特に雌で顕著であった。

体重変化、摂餌量、血液学的検査では、特に投与に起因した異常は認められなかった。

血液生化学的検査は投与 12、31、85、176、273、357 日目に行われており、25 mg 投与群の雌で ALT、AST の上昇が認められた。雄においては AST が 85 日目以降に上昇傾向を示し、176 日目で有意であった。

尿検査には特に異常は認められなかった。

心拍数、呼吸数、体温、血圧、心電図、眼検査に特に投与に起因した異常は認められなかった。

臓器重量では 25mg 投与群で精巣の絶対重量の増加が認められた。

剖検及び病理組織学的検査では特に投与に起因した異常は認められなかった。

本試験における NOEL は 2mg/kg 体重/日であった。

なお、25mg 投与群の初回投与及び 1 年間の投与終了後 24 時間の AUC の比較では、1 年間の投与終了時で 6 倍程度高い値が認められ、長期投与による蓄積が認められたが、2mg 投与群では初回及び 1 年間の投与終了後の血漿中濃度はともに低く、蓄積は確認されなかった。投与終了時の肺組織中のツラスロマイシン濃度は、投与量順に 0.75、4.02、321µg/g で高投与量群でより高かったが、先の 3 カ月間亜急性毒性試験の知見と比較してさらなる蓄積は認められなかった。

(4)発がん性試験

発がん性試験については実施されていなかった。

(5)繁殖毒性試験及び催奇形性試験

【ラットを用いた 2 世代繁殖試験】⁽²⁰⁾

Sprague-Dawley 系ラットを用いた強制経口 (0、15、50、100 mg/kg 体重/日)投与による 2 世代繁殖試験が実施されている。被験物質の投与及び交配は次の要領で実施された。

F₀ 世代では、雌雄各 30 匹/群に交配開始前に最低 70 日投与し、さらに交配、妊娠、ほ育期間を通じ、F₁ 離乳後の剖検時まで投与した。F₁ 世代は離乳時に雌雄各 30 匹/群を交配のため選抜した。F₁ 動物には F₀ と同様に交配開始前に最低 70 日投与し、さらに交配、妊娠、ほ育期間を通じ、F₂ 離乳後の剖検時まで投与した。F₂ 児動物は離乳時に剖検された。

一般的な臨床症状観察では、特に被験物質の投与に伴う異常は認められなかった。体重増加抑制が F₀ および F₁ 世代の 100 mg 投与群の雄で散発的に認められ、雌では F₁ 世代の 50mg 投与群で妊娠 0-4 日、100mg 投与群で妊娠 0-20 日に認められた。摂餌量は F₀ および F₁ 世代の 100 mg 投与群の雄で散発的に低下が認められた。血液生化学的検査は F₀ 世代の 9 週と 18 週で実施されたが、総たん白質の低値が 50mg 以上投与群の雄の 9 及び 18 週、AST の高値が 50mg 以上投与群の雄の 18 週、及び BUN の低値が 50mg 以上投与群の雄の 9 週と雌の 18 週及び 15mg 以上の全投与群の雄の 18 週で認められた。肝臓の絶対及び相対重量の減少が F₀ 世代雌雄の 15mg 以上の全投与群にみられ、F₁ 世代においても相対重量が雄の 15mg 以上の全投与群と雌の 50mg 以上投与群で減少した。病理組織学的検査では、肝臓を含め検査したいずれの臓器にも異常は認められなかった。

繁殖に関する影響のパラメーター(受胎率、交尾率、同居から交尾までの日数、妊娠率、分娩率、発情周期)には、F₀、F₁ ともに投与の影響は認められなかった。

F₁ 及び F₂ 新生児の性比、生存出生児数、分娩後生存率、性成熟までの日数に被験物質投与の影響は認められなかった。離乳時の F₁、F₂ 児の剖検及び臓器重量に被験物質の投与による影響は認められなかった。

本試験における親動物の一般毒性に対する LOAEL は 15 mg/kg 体重/日であり、生殖発生毒性に対する NOAEL は 100mg/kg 体重/日以上であった。

【ラットを用いた催奇形性試験】⁽²¹⁾

Sprague-Dawley 系ラット(22 匹/群)を用いた強制経口 (0、15、100、200mg/kg 体重/日)投与による催奇形性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。被験物質の投与は、妊娠 6 日から 17 日の間行い、

妊娠 20 日に帝王切開した。対照群にはクエン酸媒体を投与した。

母動物に死亡は認められず、一般的な臨床症状観察でも被験物質の投与に伴う影響は認められなかった。100mg 以上の投与群で、体重減少はみられなかったが、妊娠 6-9 及び 9-12 日の間で摂餌量の減少が認められた。

試験実施機関の背景データの範囲内の変化ではあったが、100mg 以上投与群で、総吸収胚率、着床後胚死亡率の有意の増加、腹当たり生存胎児率の有意の低下が認められた。15mg 以上投与群で雌雄の胎児体重の有意の低下がみられた。黄体数、着床前胚死亡数、着床数および性比に投与の影響は認められなかった。また、胎児の外表、内臓および骨格観察においても奇形や変異の発現率に影響は認められなかった。

以上の結果から、本試験の母動物に対する NOAEL は 15 mg/kg 体重/日、胎児に対する LOAEL は 15 mg/kg 体重/日であった。また、催奇形性は認められなかった。

【ウサギを用いた催奇形性試験】⁽²²⁾

ニュージーランドホワイト種のウサギ(22 匹/群)を用いた強制経口 (0、5、15、50mg/kg 体重/日)投与による催奇形性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。被験物質の投与は、妊娠 7 日から 20 日の間行い、妊娠 29 日に帝王切開した。対照群にはクエン酸媒体を投与した。

一般的な臨床症状観察では被験物質の投与による影響は認められなかった。50mg 投与群で、体重減少はみられなかったが、妊娠 7-10 日の間で摂餌量の減少が認められた。

生存胎児数、早期/後期吸収胚数、着床数、黄体数、胎児体重及び胎盤重量に投与の影響は認められなかった。また、胎児の外表、内臓および骨格観察においても奇形や変異の発現率に影響は認められなかった。

以上の結果から、本試験の母動物に対する NOAEL は 15 mg/kg 体重/日、胎児に対する NOAEL は 50 mg/kg 体重/日であった。また、催奇形性は認められなかった。

(6) 遺伝毒性試験

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

【変異原性に関する各種試験の結果一覧】

in vitro 試験

試験	対象	投与量	結果
Ames 試験	<i>S. typhimurium</i> TA1535, TA1537, TA98, TA100, <i>E. coli</i> WP2 <i>uvrA</i> (23)	0.02~50 µg/plate(-S9)	陰性 ¹
		0.02~50 µg/plate(+S9)	陰性 ²
		0.05~15 µg/plate(-S9)	陰性 ³
		0.05~50 µg/plate(+S9)	陰性 ⁴
染色体異常試験	ヒト末梢血リンパ球 (24)	608~1810 µg/mL (-S9 ; 3hr+21hr)	陰性 ⁵
		1450~3520 µg/mL (+S9 ; 3hr+21hr)	陰性 ⁶
		198~1084 µg/mL (-S9 ; 24hr)	陰性 ⁷
前進突然変異試験	CHO(K1-BH4/Hprt) (25)	500, 1000, 2000, 3000, 4000, 5000 µg/mL	陰性 ⁸

		(-S9 ; 5hr+7days)	
		500, 1000, 2000, 3000, 4000, 5000 µg/mL (+S9 ; 5hr+7days)	陰性 ⁹
		500, 1000, 2000, 3000, 4000, 5000 µg/mL (+S9 ; 5hr+7days)	陰性 ⁹
		5000, 6000 µg/mL (+S9 ; 5hr+7days)	陰性 ⁹
	L5178Y マウスリンパ腫細胞(Tk) (26)	100~300 µg/mL(-S9)	陰性 ¹⁰
		300~500 µg/mL(-S9)	陰性 ¹¹
		400~1000 µg/mL(+S9)	陰性 ¹²

- 1 2µg/plate(TA1535)、5µg/plate(TA1537、TA98、TA100)、10µg/plate(*E. coli*)以上の用量で菌の生育阻害が認められた。
2 5µg/plate(TA1535、TA100)、10µg/plate(TA1537、TA98)、50µg/plate(*E. coli*)以上の用量で菌の生育阻害が認められた。
3 5µg/plate(TA1535、TA1537、TA98、TA100)、15µg/plate(*E. coli*)以上の用量で菌の生育阻害が認められた。
4 5µg/plate(TA1535、TA100)、15µg/plate(TA1537、TA98、*E. coli*)以上の用量で菌の生育阻害が認められた。
5 1810µg/mL では溶媒対照と比較して細胞生存率が50%に低下した。
6 3520µg/mL では溶媒対照と比較して細胞生存率が56%に低下した。
7 1084µg/mL では溶媒対照と比較して細胞生存率が66%に低下した。
8 2000µg/mL 以上では細胞毒性が認められた。
9 いずれの用量においても細胞毒性は認められなかった。
10 300µg/mL では溶媒対照と比較して細胞生存率が50%に低下した。
11 425µg/mL 以上では溶媒対照と比較して細胞生存率の著しい低下が認められた。
12 800µg/mL 以上では溶媒対照と比較して細胞生存率の著しい低下が認められた。

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

in vivo 試験

試験系	試験対象	投与量	結果
小核試験	ラット骨髄	500, 1000, 2000mg/kg 体重 /日 ^w , 強制経口 3 日間	陰性 (27)

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

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

(7) その他特殊試験

【皮膚感作性試験】

モルモット(10 匹)にプロピレングリコールに溶解した5%のツラスロマイシン、プロピレングリコール溶解 5%ツラスロマイシンとフロイント完全アジュバントのエマルジョン、フロイント完全アジュバントのみをそれぞれ皮下接種し、1 週間後にプロピレングリコールで湿らせたツラスロマイシンを投与部位をカバーするようにパッチで1 日間局所投与した。さらに2 週間後にプロピレングリコールで湿らせたツラスロマイシン、もしくはプロピレングリコールのみで投与部位とは別の部位を攻撃した。24、48

^w 構造異性体 Cas. No. 217500-96-4 を投与

時間後の評価時点で、9/10 で陽性反応が認められ、ツラスロマイシンはモルモットにおいて接触感作性物質であることが示唆された。⁽²⁸⁾

このモルモットの皮膚で認められたアレルギー反応は細胞性免疫に関するものであるが、食物アレルギーで主として問題となるのは液性免疫で、特にアナフィラキシー等の重篤な障害をもたらす I 型アレルギーとは性質が異なっている。

経口投与におけるアレルギーについては、動物における種々の経口投与の毒性試験の知見が報告されているが、特にアレルギー様反応は認められていない。ただし、一般に動物におけるアレルギー反応の知見をそのままヒトに外挿することは難しいと考えられている。一方、マクロライド系抗生物質については、ヒト臨床における比較的長い使用歴がある。臨床におけるアレルギー様の副作用として、エリスロマイシンの例では発疹、掻痒、じんましん、血管浮腫等が知られているが、その頻度はまれであると報告されている⁽²⁹⁾。さらに、マクロライド間の比較では 15 員環のマクロライドはエリスロマイシンよりもまれと報告されている⁽³⁰⁾。アレルギーの惹起は用量依存的であると考えられるが、臨床使用と比較して食品を介した暴露量は著しく少ないことが想定され、食品を介して生体にとって問題となるアレルギー反応が生じる可能性は無視できる程度であると考えられる。

(8) 微生物学的影響に関する特殊試験

①ヒトの腸内細菌に対する最小発育阻止濃度 (MIC)⁽³¹⁾

ヒトの腸内細菌叢を構成する細菌種のうち、*Escherichia coli*、*Proteus mirabilis*、*Enterococcus* spp.、*Lactobacillus* spp.、*Bacteroides* spp.、*Fusobacterium* spp.、*Peptostreptococcus* spp.、*Bifidobacterium* spp.、*Clostridium* spp.、*Eubacterium lentum* それぞれ 10 菌株について測定されたツラスロマイシンに対する MIC は次の通りであった。

MIC の要約

		1/100 接種濃度 ($10^{4.7}$ CFU/spot)		標準接種濃度 ($10^{6.9}$ CFU/spot)	
		MIC ₅₀	MIC ₉₀	MIC ₅₀	MIC ₉₀
<i>Escherichia coli</i>	10	2	4	4	4
<i>Proteus mirabilis</i>	10	>128	>128	>128	>128
<i>Enterococcus</i> spp	10	1	4	2	8
<i>Lactobacillus</i> spp.	10	4	128	4	128
<i>Bacteroides</i> spp	10	64	>128	64	>128
<i>Fusobacterium</i> spp	10	2	4	2	4
<i>Peptostreptococcus</i> spp.	10	16	128	32	>128
<i>Bifidobacterium</i> spp.	10	0.5	8	1	16
<i>Clostridium</i> spp	10	16	32	32	32
<i>Eubacterium lentum</i>	10	16	>128	32	>128

調査された範囲では *Bifidobacterium* spp. が最も感受性が高い細菌種であり、その $10^{6.8}$ CFU/spot における MIC₅₀ 値は 1 µg/mL であった。

② *in vitro* gut model における感受性細菌の最小発育阻止濃度 (MIC)^{(32),(33)}

2~20 µg/mL のツラスロマイシンを Cooked meat 培地に加え、適当な塩濃度、約 pH2 の条件下でペプシン処理し、さらに約 pH7 に調整し、胆汁酸塩及びパンクレアチン処理することにより、ヒト消化管内の食物の通過をシミュレートした溶液に、*Bifidobacterium*、*Fusobacterium* (それぞれ 2 菌株) を約 $10^{5.6}$ cfu/mL で加え、約

35°Cで 18 時間培養したときの菌の生存状態が検討されている。この擬似消化管溶液中においては、20µg/mL までのツラスロマイシンは細菌の増殖に影響を与えなかった。

③ヒト糞便に対するツラスロマイシンの結合活性の検討

6名(男女各3名)から採取された糞便を混合し0.01MのCaCl₂に1/150~1/5で希釈して滅菌した溶液に、25ppmの¹⁴C標識ツラスロマイシンを添加した時の糞便に対するツラスロマイシンの結合活性が検討されている。混合液を遠心分離した上清に回収された放射活性は1/150希釈では約88%であったが濃度とともに減少し、1/5希釈では47%に低下した。1/5希釈における吸着係数はK_d=8.5と計算されている。⁽²⁴⁾

また、別の試験において、健常男性4名から採取された糞便を混合し0.01MのCaCl₂で1/10に希釈して滅菌した溶液に、¹⁴C標識ツラスロマイシンを添加した時の糞便に対するツラスロマイシンの結合活性が検討されている。この試験においてはさらに20及び37°Cにおける結合活性の差も検討された。混合液を遠心分離した上清に回収された放射活性は20°Cで約37~43%^xでK_d=17、37°Cで24~28%でK_d=32とされている。⁽²⁵⁾

この条件では、ツラスロマイシンはヒトの体温に近い37°Cでよりヒト糞便溶液に対しより高い結合活性を示した。

④糞便とpHの細菌の増殖に対する影響

マイクロタイターブロス法(0.031~128µg/mLのツラスロマイシンを含み、約pH7.1または7.4及び約pH6.5に調整された培養培地または3%糞便懸濁培地を96穴マイクロタイタープレートに満たし、5×10⁵cfu/mL菌液を各穴に添加し培養)により、種々の濃度のツラスロマイシンを含んだ培地及び糞便懸濁培地で3種(*E. coli*、*Enterococcus*、*Bifidobacterium*;各4菌株)の細菌を培養し、MICを測定した。さらに各プレート穴中の培養液を寒天培地に移植し、寒天培地上にコロニーが得られなかった元のタイタープレートに添加されていたツラスロマイシン濃度を増殖阻止濃度(CPG)とした。CPGはタイタープレートにおける培養によって静菌的な作用によって増殖が認められなかった場合でも、抗菌剤を含まない寒天培地における培養によって発育することが想定され、MICよりも高い値となると考えられる。

	<i>Escherichia coli</i>		<i>Enterococcus</i>		<i>Bifidobacterium</i>	
	平均	範囲	平均	範囲	平均	範囲
MIC(pH7.1 or 7.4)	5	4-8	6	4-8	4.3	≤0.031-16
MIC(pH6.5)	128	128->128	128	128->128	16.3	0.062-64
培地 CPG(pH7.1 or 7.4)	68	8->128	14	4-32	7.0	0.125-16
培地 CPG(pH6.5)	128	128->128	128	128->128	18.3	0.125-64
糞便懸濁培地 CPG(pH7.1 or 7.4)	128	128->128	128	128->128	40.5	2->128
糞便懸濁培地 CPG(pH6.5)	128	>128	128	>128	40.0	8->128

*平均 CPG の算出に際しては>128 は 128 として扱われた

全ての菌で培地培養後の CPG よりも糞便懸濁培地培養後の CPG が高い値を示し、糞便懸濁培地では抗菌活性が低下することが示唆された。特に、先の MIC₅₀ 検討試験において最も感受性の高かった *Bifidobacterium* については MIC が 0.5、0.5、2、8 であった 4 菌株が使用されたが、培地培養後の CPG に対する糞便懸濁培地培養後の CPG は平均値で約 2-6 倍、個別の比較では 2-16 倍高い値を示し、糞便に対する結合により抗菌活性が低下することが示唆された。

^x 4, 20, 24 時間時点の 3 点の値。

また、*Bifidobacterium* の pH については 7 よりも 6.5 において、*in vitro* の MIC が 4 倍程度の活性低下を示した⁽³⁶⁾。

Fusobacterium については 10 菌株について pH の影響が検討されたが、MIC₅₀ は 2(pH7)から 8(pH6.6)に変化し、4 倍の低下が認められた⁽³⁷⁾。

マクロライド系の抗生物質は非イオン型の時に細菌細胞によく取り込まれることが知られており、一般にアルカリ性で抗菌作用が増強される。逆に酸性側の pH においては抗菌作用が低下することが知られており、ツラスロマイシンは NH 基を 2 つ有するため、この傾向が強いと推定されている。

⑤ブタにおける *in vivo* の知見

Salmonella enterica serovar Typhimurium でブタを攻撃後、10 または 15mg/kg 体重のツラスロマイシンを筋肉内に単回投与し、28 日までの糞を採取した。本試験の ST 株の MIC は 1.56μg/mL であったが、各投与群とも対照群との間で糞中のサルモネラ排出量に影響は認められなかった⁽³⁸⁾。投与後 3 日間のブタの糞中のツラスロマイシン濃度は 2.5mg/kg 体重の筋肉内投与において 10~70μg/g であることが確認されており⁽⁹⁾、ツラスロマイシンはブタの消化管内では著しく抗菌活性が低下することが示唆された。

これらのように、*in vitro* の試験において、ツラスロマイシンは糞便等への吸着が示唆され、実際 *in vitro* の抗菌活性は糞便等の存在下では低下した。pH についても、特性上、生体内の pH 条件下では *in vitro* の MIC 測定試験で認められたものよりも抗菌活性が低下する可能性が高いと思われる。さらに、ブタの試験において、攻撃試験時の *Salmonella* 排泄に *in vitro* で求められた MIC より数十倍と推定される濃度のツラスロマイシン存在下でも影響は認められておらず、*in vitro* において示された種々の要因による抗菌活性低下は *in vivo* においても認められることが示唆された。

(9)ヒトにおける知見について

【ヒトにおけるマクロライドの毒性影響】⁽³⁹⁾

ツラスロマイシンのヒト臨床における使用歴はないが、マクロライド系の抗生物質は古くからヒト臨床において利用されている。

マクロライド系の抗生物質による重篤な副作用はまれにしか起こらないとされているが、エリスロマイシンでは胆汁うっ滞性肝炎があるとされ、初期の特徴は悪心、嘔吐、腹痛とされている。その他、経口、静脈投与で特に高用量の場合には腹痛、悪心、嘔吐、下痢を呈することがあるとされる。エリスロマイシンについては米国 NTP においてマウスを用いた発がん性試験が実施されているが、発がん性は認められなかったとされている。

また、ツラスロマイシンと同じ 15 員環マクロライドであるアジスロマイシンの臨床試験及び市販後の副作用調査で頻度が高かったのは血液検査値(特に肝酵素)の変動、消化管への影響(下痢、軟便等)であった。

^{(40),(41),(42)}

3. 食品健康影響評価について

【薬物動態について】

ツラスロマイシンの対象動物における血漿中半減期は 58-99 時間と比較的緩やかな減少を示し、イヌの 1 年間慢性毒性試験においては 25mg/kg 体重/日の投与では投与終了時に投与開始時と比較して AUC の高値が認められ、5mg の投与では投与開始時との比較は出来なかったが AUC の上昇が示唆された。