

一般的な臨床症状観察では、40 mg 以上投与群の雌雄で流涎、嘔吐が認められた。症状の程度は高用量でより顕著であった。16 mg の雄でも1週目にのみ嘔吐(2/5)が認められたがそれ以降は同様の症状は認められず、偶発的なものと考えられた。160 mg 投与群の雄では元気消失が認められた。

体重変化、飼料摂取量、眼検査、血液学的検査、尿検査では、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、160 mg 投与群の雌雄でAST、ALTの上昇が認められた。

臓器重量では投与に起因した異常は認められなかった。

剖検では40 mg 投与群(1/5)及び160 mg 投与群(3/5)の雄で小型の前立腺が認められたが、病理組織学的に変化が認められなかった。また、病理組織学的検査用の前立腺標本を用いた最大直径を測定した結果においても差は認められなかった。また、解剖時年齢において前立腺が未成熟段階であることから、前立腺の小型化については、投与と関連性のない変化であると考えられた。

病理組織学的検査では、発生頻度に有意差はなかったが40 mg 以上投与群の雌における胃粘膜の慢性炎症および胃のリンパ系細胞増生の度合いは対照群に比べて重度であった。

本試験におけるNOAELは16 mg/kg 体重/日と考えられた。

4. 慢性毒性試験

慢性毒性試験及び発がん性試験は実施されていない。

5. 生殖発生毒性試験

(1) 2世代繁殖試験(ラット)(参照18)

Sprague-Dawley系ラットを用いた胃挿管による強制経口(100、200、400 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、ピルリマイシン水溶液を雄(30匹)には交配開始前60日から交配終了まで、雌(30匹)には交配14日前から分娩後21日まで投与した。分娩後、各腹雌雄4匹ずつを無作為に選抜し、21日までほ育させた。分娩後21日に各同腹児から雌雄各1匹のF₁動物を交配のため選抜した。F₁動物には各濃度のピルリマイシン水溶液を離乳時から雄には交配終了まで、雌には分娩後21日まで投与した。雌は分娩後21日までF₂児動物をほ育させた。

一般的な臨床症状観察では、鼻分泌物がF₀世代及びF₁世代の400 mg 投与群の雌雄に、泌尿/生殖器周囲の汚れがF₀世代の200 mg 投与群の雌と400 mg 投与群の雌雄及びF₁世代の400 mg 投与群の雌で認められた。そのほかに流涎がF₀世代の全投与群の雌雄とF₁世代の400 mg 投与群の雌雄にみられたが、毒性学的影響というより被験物質投与液の味覚刺激によるものであった。また、体重増加抑制がF₀およびF₁世代の400

mg 投与群の雄で認められた。剖検および病理組織学的検査では、投与に起因する異常は認められなかった。

発情周期に投与の影響は認められなかった。妊娠期間の軽度な延長が F₀ 世代の 400 mg 投与群で認められたが、F₁ 世代では対照群とほぼ同じであった。着床数は F₀ 母動物の 400 mg 投与群では対照群と比較して減少が認められたが、F₁ 母動物では対照群とほぼ同じであった。

F₁ 及び F₂ 新生児の雌雄比、死産児数、着床後死亡数、出生後 0 日の出生児体重については、投与群と対照群の間に差はみられなかった。

F₁ 及び F₂ 出生児の分娩後 1~21 日の生存率 (生存児数)、体重に異常は認められなかった。F₁ または F₂ の出生時の肉眼的検査で外表に異常は認められず、出生後 0 から 4 日に死亡した出生児について実施した骨格検査においても、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 100 mg/kg 体重/日であった。

(2) 発生毒性試験 (ラット) (参照 19)

Sprague-Dawley 系ラット(24 匹/群)を用いた胃挿管による強制経口 (200、400、800mg/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 15 日の間行った。

母動物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、400 mg 以上の投与群で軟便、泌尿生殖器周囲の汚れ、投与後の流涎が観察された。体重増加抑制が 800 mg 投与群で認められた。また、16-20 日の体重増加が 400 mg 以上の投与群で抑制された。

着床数のわずかな低値が 400 mg 以上の投与群に、生存胎児数のわずかな低値が 800 mg 投与群にみられたが、これらは統計学的に有意ではなく、当該試験実施施設での背景データの範囲内であった。また、吸収胚数の増加が 800 mg 投与群で見られたが、偶発的に見られた早期全胚吸収の 1 例を計算から除外すると、対照群と差は認められなくなった。この他、黄体数、死亡胎児数、胎児体重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 200 mg/kg 体重/日であり、胎児に対する NOAEL は 800 mg/kg 体重/日以上と考えられた。

(3) 発生毒性試験 (マウス) (参照 20)

ICR 系マウス(44 匹⁸/群)を用いた胃挿管による強制経口 (100、400、1,600 mg/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

⁸ 当初 24 匹/群で開始されたが、受胎率が低く十分な数の胎児が得られなかったため、20 匹が追加された。

験物質の投与は、妊娠6日から15日の間行った。

1,600 mg 投与群では下痢あるいは軟便が認められ、試験期間中に1,600 mg 投与群の2例が死亡し、1例が瀕死となったため安楽死処分された。これらの例では、剖検で腸管内に液体の充満が認められた。体重変化にはいずれの投与群にも投与の影響は認められなかった。

生存胎児体重の減少が1,600 mg 投与群で認められた他には黄体数、着床数、生存胎児数、死亡胎児数、早期または後期吸収胚数、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、本試験の母動物及び胎児動物に対するNOAELは400 mg/kg 体重/日と考えられた。

(4) 発生毒性試験 (ウサギ) (参照21)

ニュージーランドホワイト種のウサギ(20匹/群)を用いた胃挿管による強制経口(0.1、1.0、5.0 mg/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20日の間行った。

5 mg 投与群で高頻度に流産が発生した(13/19)。1 mg 以上投与群で糞便量減少、橙色尿、被毛粗剛が、5 mg 投与群ではさらに赤色排泄物、無糞便、淡褐色便、粘液便、軟便あるいは液状便、乾燥便、限局性脱毛、るい瘦、脱水症、流涙、膈周囲の赤色物が認められた。1 mg 投与群では体重増加抑制が認められ、5 mg 投与群では体重の減少が認められた。摂餌量は1 mg 以上の投与群で減少した。

剖検では投与に関連した影響は認められなかった。

5 mg 投与群では総吸収胚数及び後期吸収胚数の増加、腹あたり胚吸収率の増加、同腹児数及び生存胎児数の減少が認められた。雌雄を合わせた平均胎児重量及び雌胎児重量は統計学的に有意ではないが、背景データと比較して低値を示していた。この他、黄体数、着床数、雄胎児生存率に投与による影響は認められなかった。

骨格変異及び骨化遅延の発現率の上昇が5 mg 投与群でのみ認められた。観察された変化は、胸椎数増加および腰椎数減少を伴う肋骨数過剰の発現率の増加、前肢指節骨骨化数の減少であった。

以上の結果から、本試験における母動物に対するNOAELは0.1 mg /kg 体重/日、胎児に対するNOAELは1 mg/kg 体重/日と考えられた。

6. 遺伝毒性試験

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

表1 *in vitro* 試験

試験	対象	投与量	結果
Ames 試験	<i>Salmonella typhimurium</i> TA1535、 TA1537、 TA1538、 TA98、 TA100	250~2,000 µg/plate(±S9)	陰性 (参照 2 2)
	<i>S. typhimurium</i> TA97、 TA98、 TA100、 TA102、 TA1535	625~5,000 µg/plate(±S9)	陰性 (参照 2 3)
	<i>S. typhimurium</i> TA1537、 <i>Escherichia coli</i> WP2 <i>uvrA</i>	156~5,000 µg/plate(±S9) ⁷⁾	陰性 (参照 2 4)
前進突然変異試験	CHL(V79/ <i>Hprt</i>) (参照 2 5)	0.25、0.50、1.00 mg/mL ²⁾ (-S9 ; 2h)	陰性
		0.40、0.80、1.60 mg/mL ³⁾ (+S9 ; 2hr)	陰性
	CHO(K1-BH4/ <i>Hprt</i>) (参照 2 6)	50、100、250、500、750、 1,000、1,250、1,500 µg/mL ⁴⁾ (-S9 ; 5+19hr)	陰性
		50、100、250、500、1,000、 1,500、2,000、2,500 µg/mL ⁵⁾ (+S9 ; 5+19hr)	陰性
	CHO(AS52/ <i>Xprt</i>) (参照 2 6)	50、100、250、500、750、 1,000、1,250、1,500 µg/mL ⁶⁾ (-S9 ; 5+19hr)	陰性
		50、100、250、500、1,000、 1,500、2,000、2,500 µg/mL ⁷⁾ (+S9 ; 5+19hr)	陰性

1) 5,000µg/plate で菌の生育阻害が認められた。

2) 細胞毒性試験において2.0g/mL で 24h 以内に 90%の細胞死が確認されている。

3) 1.5mg/mL で 50%の細胞の消失が確認されている。

4) 1,250µg/mL 以上では著しい細胞毒性が認められた。

5) 2,000µg/mL 以上では著しい細胞毒性が認められた。

6) 1,000µg/mL 以上では著しい細胞毒性が認められた。

7) 1,500µg/mL 以上では著しい細胞毒性が認められた。

上記のように、*in vitro* の試験においては Ames 試験、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。

表2 *in vivo* 試験

試験系	試験対象	投与量	結果
小核試験	マウス骨髄細胞	175、250、375 mg/kg 体重、 単回腹腔内 ¹⁾	陰性 (参照27)
	ラット骨髄細胞	50、100、200 mg/kg 体重/日、 腹腔内2日間 ²⁾	陰性 (参照28)

1) 陽性対照としてトリメチレンメラミンを使用。

2) 陽性対照としてシクロフォスファミドを使用。

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、ピルリマイシンは遺伝毒性を有さないものと考えられる。

7. 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) ① (参照29)

ヒトの腸内細菌叢の構成する細菌種のうち、*Bacteroides* spp. (7種15株)、*Bifidobacterium* spp. (5種13株)、*Clostridium* spp. (7種8株)、*Coprococcus comes* (1株)、*Enterococcus* spp. (2種10株)、*Escherichia coli* (13株)、*Eubacterium* spp. (6種10株)、*Fusobacterium prausnitzii* (6株)、*Lactobacillus* spp. (6種11株)、*Peptostreptococcus* / *Peptococcus* spp. (5種16株)、*Veillonella parvula* (1株)について測定されたピルリマイシンに対するMICは次の通りであった。

表3 MICの要約

		標準接種濃度 (10 ⁵ CFU/spot)		高接種濃度 (10 ⁷ CFU/spot)	
		MIC ₅₀	範囲	MIC ₅₀	範囲
<i>Bacteroides</i> spp.	15	0.25	0.03-4	0.25	0.12-4
<i>Bifidobacterium</i> spp.	13	0.03	≤0.016-0.25	0.12	≤0.016-0.25
<i>Clostridium</i> spp.	8	1	0.12-8	2	0.25-8
<i>Enterococcus</i> spp.	10	8	0.5- >128	16	2- >128
<i>Escherichia coli</i>	13	>128	>128	>128	>128
<i>Eubacterium</i> spp.	10	0.25	≤0.016-0.5	0.5	≤0.016-4
<i>Fusobacterium prausnitzii</i>	6	0.06	0.03-0.25	0.5	≤0.016-4
<i>Lactobacillus</i> spp.	11	0.50	0.06-2	2	0.12-64
<i>Peptococcus</i> / <i>Peptostreptococcus</i> spp.	16	0.06	≤0.016-1	0.12	≤0.016-2
<i>Coprococcus comes</i>	1		1		2
<i>Veillonella parvula</i>	1		0.06		0.06

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 10⁷ CFU/spot における MIC₅₀ 値は 0.12 µg/mL であった。

(2) ヒトの腸内細菌に対する最小発育阻止濃度 (MIC) ② (参照 3 0)

ピルリマイシンおよびピルリマイシンの主要な代謝物であるピルリマイシンスルホキシドについて、ヒトの腸内細菌である *Bifidobacterium* spp. (4種 15株)、*Eubacterium* spp. (6種 13株) および *Bacteroides fragilis* (2株) について測定された MIC は次の通りであった。

表 4 MIC の要約

菌種	株数	ピルリマイシン			ピルリマイシンスルホキシド		
		MIC ₅₀	MIC ₉₀	範囲	MIC ₅₀	MIC ₉₀	範囲
<i>Bifidobacterium</i> spp.	15	≤0.06	0.13	≤0.06-0.25	4.0	8.0	1.0-16.0
<i>Eubacterium</i> spp.	13	≤0.06	2.0	≤0.06-2.0	2.0	>128.0	1.0->128.0
<i>Bacteroides fragilis</i>	2	0.13	0.25	0.13-0.25	4.0	32.0	4.0~32.0

ピルリマイシンスルホキシドの 10⁵ CFU/spot における MIC₅₀ 値は *Bifidobacterium* spp. では 4.0 µg/mL、*Eubacterium* spp. では 2.0 µg/mL であり、ピルリマイシンに比べて抗菌活性は低かった。

(3) 牛の乳房炎由来野外分離菌に対する最小発育阻止濃度 (MIC) (参照 3 1)

2004 年に米国およびカナダの 11 カ所の大学病院において乳房炎の牛から分離された菌について測定されたピルリマイシンに対する MIC は次の通りであった。

表 5 MIC の要約

菌名	株数	最小発育阻止濃度 (µg/mL)		
		MIC ₅₀	MIC ₉₀	範囲
グラム陽性細菌				
<i>Staphylococcus aureus</i>	132	0.25	0.50	≤0.06~>64.0
<i>Staphylococcus</i> spp.	119	0.12	0.25	≤0.06 ~>64.0
<i>Streptococcus agalactiae</i>	32	0.12	>64.0	≤0.06~>64.0
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	125	≤0.06	4.0	≤0.06~>64.0
<i>Streptococcus uberis</i>	104	0.12	8.0	≤0.06~>64.0
<i>Streptococcus</i> spp.(other)	24	≤0.06	4.0	≤0.06~>64.0
<i>Enterococcus</i> spp.	42	8.0	64.0	0.12~>64.0

グラム陰性細菌				
<i>Escherichia coli</i>	147	>64.0	>64.0	>64.0
<i>Klebsiella spp.</i>	74	>64.0	>64.0	>64.0
<i>Serratia spp.</i>	23	>64.0	>64.0	>64.0
<i>Enterobacter spp.</i>	20	>64.0	>64.0	>64.0

ピルリマイシンはグラム陰性菌に対してはほとんど抗菌活性を示さなかった。

(4) 環境中にみられる真菌および細菌に対する最小発育阻止濃度 (MIC) (参照3 2)

ピルリマイシンおよびピルリマイシンの主要な代謝物であるピルリマイシンスルホキンドについて、環境中にみられる真菌 (計 5 株) および細菌 (計 9 株) について測定された 10^4 CFU/spot における MIC は次の通りであった。

表6 MICの要約

	最小発育阻止濃度 (μg/mL)	
	ピルリマイシン	ピルリマイシンスルホキンド
真菌		
<i>Aspergillus carbonarius</i>	>1,000	>1,000
<i>Chaetomium cochliodes</i>	>1,000	>1,000
<i>Fusarium roseum</i>	>1,000	>1,000
<i>Penicillium notatum</i>	>1,000	>1,000
<i>Trichoderma virde</i>	>1,000	>1,000
細菌		
<i>Streptomyces albus</i>	>100	>1000
<i>Arthrobacter globiformis</i>	1	64
<i>Azotobacter vinelandii</i>	4	>1,024
<i>Bacillus cereus</i>	1	256
<i>Bacillus subtilis</i>	0.25	32
<i>Celluomonas sp.</i>	4	>1,024
<i>Cytophaga johnsonae</i>	1	512
<i>Flavobacterium heparinium</i>	0.13	32
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	>1,024	>1,024

ピルリマイシン、ピルリマイシンスルホキンドとも、真菌について抗菌活性を示さなかった。また、細菌に対するピルリマイシンスルホキンドの MIC は、ピルリマイシンに比べて高かった。

(5) ヒトの腸内細菌の連続培養 *in vitro* 試験 (参照 3 3)

ヒト腸内細菌 (*Bacteroides* spp., *Bifidobacterium* spp., *Clostridium* spp., *Eubacterium* spp., *F.prausnitzii*, *Lactobacillus* spp., *Peptococcus* / *Peptostreptococcus* spp. ; 計 31 菌種 39 菌株) 培養懸濁液 (10^{8-9} CFU/mL) にピルリマイシン (0, 3, 6 μ g/mL)⁹ を添加し、12 時間培養後の細菌の生存能に及ぼす影響が検討されている。このうち、 10^7 CFU が得られなかった、もしくは対照培地で生存率が低下した 3 菌株については結果の検討から除外された。生存率の低下度合いは概ね 10 倍未満であったが、36 菌株のうち 3 菌株については 12 時間の培養の間にピルリマイシンの濃度依存的に 10 倍を超える生存率の低下が認められた。最も影響が大きかったのは *F. prausnitzii* の 2 菌株であったが、同菌種の他の菌株では影響は認められなかった。

(6) 偽膜性大腸炎のげっ歯類モデルを用いた *in vivo* 試験 (参照 3 4)

リンコサミドのヒト臨床使用における副作用のひとつとして、偽膜性大腸炎¹⁰が知られているが、リンコサミドに属するクリンダマイシンによって誘導される偽膜性大腸炎の発生プロセスには *Clostridium difficile* の産生する毒素が関与するとされている。

げっ歯類(ゴールデンシリアンハムスター)を用いた偽膜性大腸炎のモデル系として、*C. difficile* (5×10^6) の経口投与 5 時間後に各種の抗生物質を皮下投与したときの CID_{50} ¹¹ が求められている。リンコサミド(クリンダマイシン、リンコマイシン、ピルリマイシン)はこの試験系において最も高い感受性を示した。ピルリマイシンの皮下投与における CID_{50} は 2.6mg/kg 体重であった。

(7) ヒトボランティアにおける微生物学的影響 (参照 5、3 5、3 6)

5 名の健常男性ボランティアについて、4 用量 (50、125、250、500 mg) を 1 週間のインターバルをおいて経口投与し、投与前日及び投与 2 日後の糞便中の *C. difficile* 及び *C. difficile* toxin を調べた結果は次のとおりであった。

表 7 ヒトボランティアにおける微生物学的影響

	50mg				125mg				250mg				500mg				最終投与 後 6 日	
	前		後		前		後		前		後		前		後			
	C	Tox	C	Tox	C	Tox	C	Tox	C	Tox	C	Tox	C	Tox	C	Tox	C	Tox
PL	0/5	—	0/5	0/1	0/4	0/1	0/5	—	0/5	—	1/5	0/2	0/5	—	0/4	0/1	0/5	0/2
PR	0/5	0/1	1/5	0/1	2/4	0/2	3/5	0/3	2/5	1/2	5/5	1/4	1/4	1/1	3/5	1/5	2/5	1/4

PL : プラセボ、PR : ピルリマイシン、C : *C. difficile*、Tox : *C. difficile* toxin

⁹ *Peptococcus* / *Peptostreptococcus* spp. については 0、5、6.7 μ g/mL

¹⁰ 偽膜物質の形成と便中への排泄を伴う腸炎。*Clostridium difficile* が産生する壊死性外毒素により起こるとされる。

¹¹ 致死性の偽膜性大腸炎を 50% のハムスターに誘導するのに必要な量

プラセボとピルリマイシンの各用量における *C. difficile* の検出率に統計学的有意差は認められなかったが、検出例総数の比較では有意となった。

8. ヒトにおける知見について

(1) ヒトにおけるリンコサミドの毒性影響 (参照37、38)

ピルリマイシンのヒト臨床における使用歴はないが、同系統に属するリンコマイシン及びその誘導体であるクリンダマイシンは1960あるいは1970年代から広くヒト臨床において利用されている。

臨床で認められた副作用の主要なものは消化器系への影響で、クリンダマイシンの投与に関連した下痢の発生頻度は2~20%、さらに0.01%~10%で *C. difficile* 産生毒素による偽膜性大腸炎が発生したとする報告がある。また、別の報告ではクリンダマイシンあるいはリンコマイシンを投与された患者において、下痢が2.6~31%、腸炎が0~2.5%認められたとされている。偽膜性大腸炎は腹痛、下痢、発熱、粘血便を呈し、致命的になる場合があるとされる。

この他、皮疹がクリンダマイシンを投与された患者の約10%で認められたとされている。さらにまれではあるが、AST、ALTの可逆的上昇、血小板減少症、顆粒球減少症といった血液学的パラメーターへの影響、アナフィラキシー、スティーブンス・ジョンソン症候群等のアレルギー反応が、静脈内投与では局所に血栓性静脈炎が臨床用量で認められたことがあると報告されている。また、神経筋伝達を阻害し、神経筋遮断薬が併用された場合その作用を増強することがあるとされている。

感作性については、市場調査(proprietary reports)において、1965~74年の間の数十億回用の経口投与に対して62例のアレルギー反応が認められたとする報告がある。一方、ヒトにおけるリンコマイシンの職業暴露や動物実験では、感作性は認められなかったとする報告がある。公表文献の多くは、リンコマイシンは低感作性であるとしている。

また、クリンダマイシン、リンコマイシンは胎盤を通過し、母乳中にも認められるが、リンコマイシンを服用した妊婦において有害影響の報告は認められていないとされている。

(2) 薬剤耐性菌について

ピルリマイシンのヒト臨床における使用は現在のところないが、交差耐性を有する可能性のある薬剤はいずれもヒト臨床においても使用されている。

ピルリマイシンは細菌の70Sリボゾームの50Sサブユニットに選択的に結合し、蛋白質合成を阻害することにより静菌的に作用する。構造的に相関のあるリンコマイシン系抗生物質(リンコサミン、クリンダマイシン等)とは交差耐性が生じると考えられる。また、構造的な相関はないが他の50Sサブユニットを標的とする抗生物質(クロラムフェニコール系、マクロライド系、ストレプトグラミン系)のうち、特定の耐性機構(リボゾー

ムのメチル化等)を介する場合、交差耐性を生じる可能性がある。

Ⅲ. 食品健康影響評価

1. 毒性学的影響について

(1) 亜急性毒性試験について

亜急性毒性試験については、ラット及びイヌを用いた 30 日及び 3 ヶ月間の試験が実施されている。最も低い NOAEL はラットを用いた 3 ヶ月間亜急性毒性試験で得られた 10mg/kg 体重/日であった。

(2) 生殖発生毒性試験について

生殖発生毒性試験については、ラットを用いた 2 世代繁殖試験、げっ歯類 2 種及びウサギを用いた催奇形性試験が実施されている。

ラット及びマウスにおいてはそれぞれ 800 mg/kg 体重/日、1,600 mg/kg 体重/日の用量までの試験が実施され、いずれも母体毒性は観察されたが、最高用量でも催奇形作用は認められなかった。(参照 19、20) 最も低い NOAEL はラットを用いた 2 世代繁殖試験で得られた 100 mg/kg 体重/日であった。

ウサギを用いた試験においては、5 mg/kg 体重/日の最高用量で胚致死作用、胎児の骨格変異及び骨化遅延の発現率の上昇がみられ、母体においては高頻度の流産、消化器系異常、るい瘦、摂餌量・体重の減少等の種々の毒性が観察されたが、いずれの投与量においても催奇形性は認められなかった。(参照 21)

ウサギはある種の抗生物質や消化管の障害に対する感受性が高く、この種の化学物質の毒性評価に用いる動物種として不向きであることが知られている。特にリンコマイシン系の抗生物質はウサギに *Clostridium* spp. による腸炎を起こすとされる。これらのことから、本薬の毒性学的 ADI の設定にあたりウサギ催奇形性試験の知見を採用することは適切でないと考えられる。

(3) 遺伝毒性/発がん性について

慢性毒性/発がん性試験については実施されていない。

しかしながら、ピルリマイシンは *in vitro* の Ames 試験、前進突然変異試験(*Hprt*、*Xprt*)、*in vivo* の小核誘導試験(マウス、ラット骨髄)のいずれにおいても陰性であり、遺伝毒性はないと考えられる。また、90 日の試験においては腫瘍の発生頻度の増加は報告されていない(参照 15、17)。さらに、リンコマイシン系の抗生物質については比較的長いヒト臨床における使用歴があるが、副作用として腫瘍の発生は知られていない。

これらのことから、発がん性試験を欠いていても ADI の設定は可能であるが、慢性毒性の知見がないことから、毒性の評価にあたってはこれを考慮する必要があると判断された。

(4) 毒性学的ADIについて

ピルリマイシンについては慢性毒性/発がん性試験が実施されていないが、ヒト臨床におけるリンコマイシン系抗生物質の使用歴及び遺伝毒性試験の結果から遺伝毒性発がん性を示さないと考えられ、ADIを設定することが可能である。

毒性学的影響について最も低い用量で被験物質投与の影響が認められたと考えられる指標は、ラットを用いた3ヶ月間亜急性毒性試験においてNOAEL10 mg/kg 体重/日であった。この知見からADIを設定するにあたっては、種差10、個体差10に加えて慢性毒性試験を欠くことについてさらに10の安全係数1,000を考慮し、0.01 mg/kg 体重/日とすることが適当であると考えられる。

2. 微生物学的影響について

(1) 微生物学的ADIについて

微生物学的影響の評価についてはJECFAにより決定樹が示されており、毒性学的に求められたADIと比較してより低い濃度でヒト腸内細菌に影響を与える可能性がある場合は微生物学的なADIを求めることとし、そのADIの設定にあたっては薬剤耐性菌、腸内細菌叢のかく乱、ヒトの有害作用に関連する酵素活性の変化を総合的に考慮するとされている(参照39)。また、VICHのガイドラインにおいては複数の試験等の知見から最も適切と考えられるものを選択することとされている(参照40)。ヒトの腸内細菌叢への影響を十分に反映できる単独の試験法が確立されていない現状を考慮すると、これらのように複数の知見から最も適切と考えられるものを用いて微生物学的ADIを設定する手法が、現時点において最も妥当な手法であると考えられる。

ピルリマイシンについての微生物学的影響については、*in vitro*の知見としてMIC₅₀、連続培養試験における細菌生存能があり、*in vivo*の知見としてリンコサミン系抗生物質のヒト臨床上的使用経験における有害影響、ヒトボランティアにおける単回経口投与(用量漸増)による臨床観察と*Clostridium difficile*及びその毒素の検出試験がある。

MIC₅₀はヒト腸内細菌叢を構成する細菌種11種104菌株について求められているが、その中では*Bifidobacterium* spp. が最も感受性が高い細菌種であり、そのMIC₅₀値は0.12 µg/mLであった(参照29)。一方、連続培養試験においては最も影響を受けた菌株は*Fusobacterium prausnitzii*の2菌株であったが、同菌種の他の菌株では影響は認められなかった。また、平均MIC₅₀が最も低かった*Bifidobacterium* spp. については、対照培地で十分な増菌が得られなかった1菌株を除き、6µg/mLの濃度までのピルリマイシンの添加は12時間までの生存率の低下にはほとんど影響を及ぼさなかった(参照33)。

ピルリマイシンはヒトに対して用いられていないが、リンコマイシン系の抗生物質についてはヒト臨床において比較的長い使用経験がある。臨床における有害影響は、薬剤耐性菌による治療効果の減弱よりも最も主要な副作用である消化器系への影響と考えられる。高頻度(2~20%)で重度の下痢、さらに0.01%~10%で重篤な影響が懸念される*Clostridium difficile* 産生毒素による偽膜性大腸炎が認められたとする報告がある(参照37)。クリンダマイシンについては、臨床データ(2-12ヶ月間、合計99例)か

らヒト腸内細菌叢かく乱についての NOEL は 150 mg/日/ヒトであり、300 mg/日/ヒト以上の投与においては下痢や偽膜性大腸炎が認められたと報告されている（参照 3 6）。*Clostridium difficile* への影響についてはクリンダマイシン及びピルリマイシンについてヒトボランティアにおける用量漸増単回経口投与の知見が得られているが、ピルリマイシンはクリンダマイシンと比較してより強い影響が認められている。クリンダマイシンを経口摂取したボランティア糞便中からは *Clostridium difficile* はまれに検出されるのみで、対照群に対して統計学的有意差は認められなかったが、ピルリマイシンを経口摂取(50, 125, 250 mg/ヒト)したボランティア糞便中の *Clostridium difficile* 検出率は個々の用量と対照群間には差は認められなかったものの、検出例総数の比較では有意差が認められ、偽膜性腸炎の原因と考えられている *Clostridium difficile* toxin も 125mg 投与 6 日後(250 mg 投与直前)以降 1 例ずつで検出されていた（参照 3 6）。

上記の通り、*in vitro* の試験における MIC₅₀ は 11 菌種 104 菌株を用いて実施されているが、最も感受性が高い細菌種であった *Bifidobacterium* の MIC₅₀ 値は 0.12 µg/mL であった。同系統のクリンダマイシンについては *Bifidobacterium* について 0.03 µg/mL の MIC₅₀ が報告されている（参照 3 8）。*in vivo* の知見については、ピルリマイシンについての臨床データはないが、クリンダマイシンで 300 mg/日/ヒト以上の投与において下痢や偽膜性大腸炎が認められている。一方、ヒトボランティアにおける経口摂取では、クリンダマイシンよりもピルリマイシンで腸内細菌叢かく乱の影響と考えられる *Clostridium difficile* の検出が高頻度で認められていた。

これらのことを総合的に考慮すると、ピルリマイシンのヒトにおける微生物学的影響の評価にあたってはヒトボランティアにおける経口摂取に関する知見を採用することが、現時点では最も適当であると判断された。

ヒトボランティアにおける経口摂取に関する知見においては、個々の用量と対照群間で統計学的有意差は得られておらず、明確な NOAEL を決定することはできない。しかしながら、最低用量の 50 mg/ヒトにおいては、最も影響が強く認められると考えられる投与翌日において、125 mg で 3/5、250 mg で 5/5、500 mg で 3/5 で *Clostridium difficile* が検出されたのに対して、対照群でも認められた 1/5 の検出にとどまっており、毒素は検出されなかった。血液生化学パラメーター等にも影響は認められなかったことから、この投与量における影響はごく限定的なものと考えられる。ヒト試験については、安全係数として個人差 10 のみが適用されるが、この試験の対象は限られた人数の健常男性であり限定的であること、明確な NOAEL に基づいていないことを保守的に考慮して追加の安全係数 10 を適用するのが適当と判断された。体重補正として 60 kg、安全係数として個人差 10、追加 10 の合計 100 を用いた場合、ADI は 0.0083 mg/kg 体重/日と設定される。

3. 一日摂取許容量(ADI)の設定について

毒性学的データから導かれる ADI と微生物学的データから導かれる ADI を比較すると、微生物学的データから導かれた値がより小さくなる。また、現時点における国際的慣行で ADI は数的に最も意味のある 1 桁で示すことを考慮し（参照 4 1）、ピルリマイ