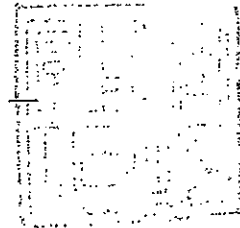


厚生労働省発食安第0521005号
平成 20 年 5 月 21 日

薬事・食品衛生審議会

会長 望月 正隆 殿

厚生労働大臣 舩添 要



諮 問 書

食品衛生法（昭和 22 年法律第 233 号）第 11 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

次に掲げる動物用医薬品の食品中の残留基準設定について

ピルリマイシン

平成 20 年 7 月 16 日

薬事・食品衛生審議会
食品衛生分科会長 吉倉 廣 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 大野 泰雄

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

平成 20 年 5 月 21 日付け厚生労働省発食安第 0521005 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 11 条第 1 項の規定に基づくピルリマイシンに係る食品規格（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。

ピルリマイシン

1. 概要

(1) 品目名：ピルリマイシン (pirlimycin)

(ピルリマイシン塩酸塩水和物 (pirlimycin hydrochloride hydrate))

(2) 用途：泌乳期の牛乳房炎の治療

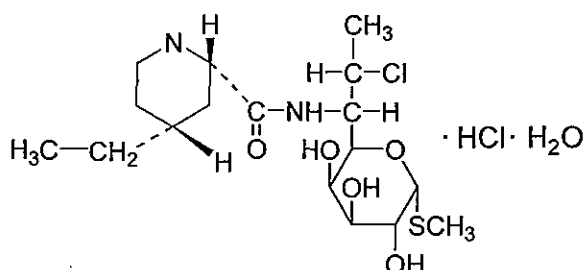
ピルリマイシンはリンコマイシン系抗生物質である。主として、グラム陽性菌に対して有効であり、作用機序は細菌細胞の70Sリボソームの50Sサブユニットに結合してペプチドトランスフェラーゼを阻害することにより、蛋白質合成を阻害するものと考えられている。一般的な乳房炎の病原菌である*Staphylococcus*属 (*S. aureus*) 及び*Streptococcus*属 (*S. agalactiae*, *S. uberis*, *S. dysgalactiae*) 等のグラム陽性菌に対して有効である。米国やEU諸国等において泌乳期の牛乳房炎の治療を目的として、乳房注入剤として使用されている。

(3) 化学名：

(2*S*-cis)-methyl 7-chloro-6,7,8-trideoxy-6-[[[4-ethyl-2-piperidiny]carbonyl]amino]-1-thio-L-threo- α -D-galactooctopyranoside (CAS)

methyl (2*S*-cis)- 7-chloro-6,7,8-trideoxy-6-[[[4-ethyl-2-piperidiny]carbonyl]amino]-1-thio-L-threo- α -D-galactooctopyranoside (IUPAC)

(4) 構造式及び物性



分子式：C₁₇H₃₁ClN₂O₅S·HCl·H₂O

分子量：465.43

常温における性状：白色の結晶性粉末

融点：210.5～212.5℃

水溶解度：70 g/L (pH 4.5), 3 g/L (pH 13)

(5) 適用方法及び用量

ピルリマイシンの使用対象動物の主な国における、用法用量及び休薬期間を以下に示す。

なお、一般の残留基準設定については、本剤が動物用医薬品として製造販売の承認

申請がなされたことに伴い、内閣府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によるものである。

各国における、ピルリマイシンの使用方法等

対象動物及び使用方法		使用国	休薬期間
牛	1日1回1分房あたり50 mgの用量を24時間間隔で2回乳房内注入投与	米国	9日
		カナダ	14日
		ニュージーランド	10日
		日本	20日
	1日1回1分房あたり50 mgの用量を24時間間隔で8回乳房内注入投与	EU	23日
泌乳牛	1日1回1分房あたり50 mgの用量を24時間間隔で2回乳房内注入投与	米国	36時間
		カナダ	48時間
		ニュージーランド	60時間
		日本	60時間
	1日1回1分房あたり50 mgの用量を24時間間隔で8回乳房内注入投与	EU	5日

2. 対象動物における分布、代謝

(1) 吸収試験

泌乳牛（12頭）に¹⁴C標識ピルリマイシンを乳房内投与（1分房当たり200 mg×4分房、24時間間隔2回）した。血液試料は第1回投与後96時間（第2回投与後72時間）まで17時点で採取された。乳房内に投与されたピルリマイシンは大部分が投与後12時間以内に排泄され、これらは血中に移行せずに排泄されたものと考えられたが、一部は血液/乳房を介して全身の組織循環に入り、2相性の薬物動態が認められた。最高血漿中濃度到達時間（Tmax）は第1回投与時が9～12時間、第2回投与時が6～12時間、最高血漿中濃度（Cmax）は第1回投与時が平均0.083 μg/mL、第2回投与時が平均0.131 μg/mLであった。第2回投与時は第1回投与時の影響があり、約1.5倍であった。消失半減期（T1/2）（α相）は平均2.89時間、T1/2（β相）は37.6時間であった。血中薬物濃度-時間曲線下面積（AUC0-120）は2.269～7.114 μg・hr/mLであった。

泌乳牛（23頭）に¹⁴C標識ピルリマイシンを乳房内投与（1分房当たり50 mg、24時間間隔2回）し、最終投与後6、10、14、18日までそれぞれ5頭（14日のみ8頭）について乳汁を12時間間隔、糞尿を24時間間隔で採取し、乳汁中、尿中及び糞中への回収率が測定された。総投与量に対する回収量の比率は、乳汁中が50.7%、尿中が12.7%、糞中が27.6%であった。

(2) 代謝試験

泌乳牛（12頭）に¹⁴C標識ピルリマイシンを乳房内投与（1分房当たり200 mg×4分房、24時間間隔で2回）した。第2回投与後4、6、14、28日に各3頭を用いた肝臓、腎臓、筋肉及び脂肪中の残留量が総放射活性により測定されている。組織中濃度は調査されたいずれの時点においても肝臓で最も高く、ついで腎臓、脂肪、筋肉の順であったが経時的に減少した。

泌乳牛（12頭）に¹⁴C標識ピルリマイシンを乳房内投与（1分房当たり200 mg×4分

房、24時間間隔で2回)した。第2回投与後4、6、14、28日に各3頭を用いて組織を採取した。また、それまでの間乳汁を12時間間隔、糞尿を24時間間隔で採取した。採取された総サンプルの尿、糞、乳汁、肝臓中それぞれの代謝物の平均存在比は、尿中では、ピルリマイシン未変化体が80.6%、ピルリマイシンスルホキシドが8.0%、未同定の極性物質1が3.8%、2が6.7%、その他0.4%であった。糞中ではピルリマイシン未変化体が44.6%、ピルリマイシンスルホキシドが1.5%、未同定の極性物質1が32.2%、未同定の極性物質2が17.8%、その他2.6%であった。肝臓中ではピルリマイシン未変化体が21.9%、ピルリマイシンスルホキシドが76.5%であった。乳汁ではピルリマイシン未変化体が90.0%以上を占めていた。

3. 残留試験結果

(1) 分析の概要

① 分析対象の化合物：ピルリマイシン（肝臓についてはピルリマイシン及びその代謝物であるピルリマイシンスルホキシド）

② 分析法の概要

バイオアッセイ法及びHPLC/MS（液体クロマトグラフィー質量分析）法が、乳及び組織において用いられている。

肝臓の場合には、肝臓酵素による代謝により代謝物成分に部分的な変化が起こり、ピルリマイシンスルホキシドがピルリマイシン親化合物へと可逆的な変化が起こることから、37℃で24時間放置する操作を行い、ピルリマイシンスルホキシドをピルリマイシンに変換した後、分析に供した。

(2) 組織における残留

① 牛にピルリマイシンとして1分房当たり50mgを4分房全てに24時間間隔で2回乳房内投与した。最終投与後7日の筋肉、脂肪、肝臓、腎臓及び乳房におけるピルリマイシン濃度（HPLC/MS法により測定）を以下に示す。

ピルリマイシンとして、50 mg/分房を4分房全てに乳房内投与した時の食用組織中のピルリマイシン濃度 (ppm)

試験日 (投与後日数)	筋肉	脂肪	肝臓	腎臓	乳房
7	<0.025(3),0.070	<0.025	0.608±0.188	0.058±0.010	0.148±0.114

数値は、分析値又は、平均値±標準偏差で示し、括弧内は検体数を示す。

定量限界：0.025 ppm

② 牛にピルリマイシンとして1分房当たり50mgを4分房全てに24時間間隔で2回乳房内投与した。最終投与後7日における筋肉、脂肪、肝臓、腎臓及び小腸のピルリマイシン濃度（バイオアッセイ法により測定）を以下に示す。

ピルリマイシンとして、50 mg/分房を4分房全てに乳房内投与した時の食用組織中のピルリマイシン濃度 (ppm)

試験日 (投与後日数)	筋肉	脂肪	肝臓	腎臓	小腸
7	<0.05	<0.02	0.78±0.41	<0.05,0.07(2), 0.10	<0.02,0.03(3)

数値は、分析値又は、平均値±標準偏差で示し、括弧内は検体数を示す。

定量限界：筋肉、肝臓及び腎臓 0.05 ppm、脂肪及び小腸 0.02 ppm

(3) 乳における残留

- ① 泌乳牛に1分房当たりピルリマイシン 50mg を4分房全てに24時間間隔で2回乳房内投与した。最終投与後36時間の乳中のピルリマイシン濃度 (バイオアッセイ法及びHPLC/MS法) を以下に示す。

ピルリマイシンとして、50 mg/分房を4分房全てに乳房内投与した時の乳中のピルリマイシン濃度 (ppm)

試験日 (投与後時間)	バイオアッセイ法	HPLC/MS法
36	0.22±0.23	0.21±0.31

数値は、平均値±標準偏差で示す。
定量限界：0.02 ppm

- ② 泌乳牛に1分房当たりピルリマイシン 50mg を4分房全てに24時間間隔で2回乳房内投与した。最終投与後12から96時間の乳中のピルリマイシン濃度 (バイオアッセイ法) を以下に示す。

ピルリマイシンとして、50 mg/分房を4分房全てに乳房内投与した時の乳中のピルリマイシン濃度 (ppm)

試験日 (投与後時間)	乳
36	0.13±0.03

数値は、平均値±標準偏差で示す。
定量限界：0.04 ppm

実施された残留試験成績の結果の詳細については、別紙1を参照

4. 許容一日摂取量 (ADI) 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、平成20年2月12日付け厚生労働省発食安第0212006号により、食品安全委員会委員長あて意見を求めたピルリマイシンに係る食品健康影響評価について、以下のとおり評価されている。

ピルリマイシンの食品健康影響評価については、ADIとして次の値を採用することが適当と考えられる。

ピルリマイシン 0.008mg/kg 体重/日

5. 諸外国における使用状況

米国、EU、豪州、カナダ、ニュージーランドを調査したところ、米国、EU等で泌乳期の乳牛に使用が承認されている。

なお、FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議 (JECFA) において評価されており、ADI として 0.008 mg/kg 体重/日が設定されている。

6. 残留基準値

(1) 残留の規制対象：ピルリマイシン（肝臓についてはピルリマイシン及びその代謝物であるピルリマイシンスルホキシド）

(2) 残留基準値

残留基準値は別紙2のとおりである。

本剤については、食品、添加物等の規格基準 第1 食品 A 食品一般の成分規格の一般規則6において基準値が設定されているところである。

(3) ADI比

各食品において基準値の上限まで本剤が残留したと仮定した場合、国民栄養調査結果に基づき試算される、1日当たり摂取する本剤の量（理論最大摂取量（TMDI））のADIに対する比は、以下のとおりである。

	TMDI/ADI (%)
国民平均	10.6
幼小児（1～6歳）	47.6
妊婦	12.9
高齢者（65歳以上）*	10.4

* 高齢者については畜水産物の摂取量データがないため、国民平均の摂取量を参考とした。

なお、詳細の暴露評価については、別紙3のとおりである。

(4) 本剤については、残留基準値の欄に記載のない食品及び表中にない食品に関して、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 食品一般の成分規則の項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。

(別紙 1)

対象動物におけるピルリマイシンの残留試験

- ① 牛にピルリマイシンとして1分房当たり 50mg を4分房全てに24時間間隔で2回乳房内投与した。最終投与後2、7、14、21及び28日の筋肉、脂肪、肝臓、腎臓及び乳房におけるピルリマイシン濃度 (HPLC/MS 法により測定) を以下に示す。

ピルリマイシンとして、50 mg/分房を4分房全てに乳房内投与した時の食用組織中のピルリマイシン濃度 (ppm)

試験日 (投与後日数)	筋肉	脂肪	肝臓	腎臓	乳房
2	<0.025(2),0.040, 0.050	<0.025	1.690±0.206	0.455±0.071	1.035±0.356
7	<0.025(3),0.070	<0.025	0.608±0.188	0.058±0.010	0.148±0.114
14	<0.025	<0.025	0.205±0.115	<0.025	<0.025(3),0.040
21	<0.025	<0.025	<0.025(1),0.030, 0.070,0.150	<0.025	<0.025
28	<0.025	<0.025	<0.025(3),0.140	<0.025	<0.025

数値は、分析値又は、平均値±標準偏差で示し、括弧内は検体数を示す。

定量限界：0.025 ppm

- ② 牛にピルリマイシンとして1分房当たり 50mg を4分房全てに24時間間隔で2回乳房内投与した。最終投与後1、2、7及び14日における筋肉、脂肪、肝臓、腎臓及び小腸のピルリマイシン濃度 (バイオアッセイ法により測定) を以下に示す。

ピルリマイシンとして、50 mg/分房を4分房全てに乳房内投与した時の食用組織中のピルリマイシン濃度 (ppm)

試験日 (投与後日数)	筋肉	脂肪	肝臓	腎臓	小腸
1	<0.05(2),0.05, 0.07	<0.02(2),0.03, 0.13	2.15±0.34	1.15±0.50	0.30±0.13
2	<0.05	<0.02(3),0.08	1.78±0.17	0.46±0.11	0.18±0.05
7	<0.05	<0.02	0.78±0.41	<0.05,0.07(2), 0.10	<0.02,0.03(3)
14	<0.05	<0.02	0.28±0.07	<0.05	<0.02

数値は、分析値又は、平均値±標準偏差で示し、括弧内は検体数を示す。

定量限界：筋肉、肝臓及び腎臓 0.05 ppm、脂肪及び小腸 0.02 ppm

- ③ 泌乳牛に1分房当たりピルリマイシン 50mg を4分房全てに24時間間隔で2回乳房内投与した。最終投与後12から96時間の乳中のピルリマイシン濃度 (バイオアッセイ法及びHPLC/MS 法) を以下に示す。

ピルリマイシンとして、50 mg/分房を4分房全てに乳房内投与した時の乳中のピルリマイシン濃度 (ppm)

試験日 (投与後時間)	バイオアッセイ法	HPLC/MS 法
12	13.6±7.18	10.4±4.99
24	0.77±0.86	0.82±0.76
36	0.22±0.23	0.21±0.31
48	0.10±0.06	0.11±0.07
60	0.05±0.02	0.07±0.02
72	<0.02(5),0.02(3)0.03,0.04(5)0.05,0.06	0.05±0.02
84	<0.02(2),0.02(4),0.03(7)0.04(3)	<0.02(2),0.02(3),0.03(6),0.04(4),0.05
96	<0.02(6),0.02(7),0.03(2),0.04	<0.02(4),0.02(8),0.03(2),0.04(2)

数値は、分析値又は、平均値±標準偏差で示し、括弧内は検体数を示す。
定量限界：0.02 ppm

- ④ 泌乳牛に1分房当たりピルリマイシン50mgを4分房全てに24時間間隔で2回乳房内投与した。最終投与後12から96時間の乳中のピルリマイシン濃度(バイオアッセイ法)を以下に示す。

ピルリマイシンとして、50 mg/分房を4分房全てに乳房内投与した時の乳中のピルリマイシン濃度 (ppm)

試験日 (投与後時間)	乳
12	8.02±1.89
24	0.63±0.19
36	0.13±0.03
48	0.08±0.02
60	<0.04(3),0.04(4),0.05(7),0.06(2),0.07,0.08,0.09(2)
72	<0.04(13),0.04(2),0.05(3),0.06,0.07
84	<0.04(16),0.05(3),0.06
96	<0.04(18),0.04(2)

数値は、分析値又は、平均値±標準偏差で示し、括弧内は検体数を示す。
定量限界：0.04 ppm

(別紙2)

ピルリマイシン

食品名	基準値現行 ppm	国際基準 ppm	米国 ppm	EU ppm	カナダ ppm	NZ ^{*1} ppm
牛の筋肉	0.1	0.1	0.3	0.1	0.3	0.05
牛の脂肪	0.1	0.1		0.1		0.05
牛の肝臓	1	.1	0.5	1	0.5	0.5
牛の腎臓	0.4	0.4		0.4		0.1
牛の食用部分 ^{*2}	0.4					
乳	0.3	0.2	0.4	0.1	0.4	0.1

注：本剤については、表中にない食品に関して、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 食品一般の成分規則の項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。

*1：ピルリマイシン、ピルリマイシンスルホン及びピルリマイシンスルホキシドの和として

*2：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。

(別紙3)

ピルリマイシン推定摂取量 (単位: µg/人/日)

食品名	基準値 (ppm)	国民平均 TMDI	幼小児 (1~6歳) TMDI	妊婦 TMDI	高齢者*3 (65 歳以上) TMDI
牛の筋肉	0.1	2.0*1	0.9*1	1.9*1	2.0*1
牛の脂肪	0.1				
牛の肝臓	1	0.1	0.1	0.1*2	0.1
牛の腎臓	0.4	0.2	0.1	0.3	0.2
牛の食用部分	0.4	0.2	0.02	0.1	0.2
乳	0.3	59.1	59.1	54.9	59.1
計		45.2	60.2	57.4	45.2
ADI 比 (%)		10.6	47.6	12.9	10.4

*1: 脂肪の基準値×筋肉及び脂肪の摂取量

*2: 妊婦の摂取量データがないため、国民平均の摂取量を参考にした。

*3: 高齢者については畜水産物の摂取量データがないため、国民平均の摂取量を参考とした。

(参考)

これまでの経緯

平成16年12月3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
平成16年12月9日	第73回食品安全委員会(要請事項説明)
平成17年1月18日	第22回動物用医薬品専門調査会
平成17年2月3日	食品安全委員会における食品健康影響評価(案)の公表
平成17年2月22日	薬事・食品衛生審議会へ諮問
平成17年3月2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
平成17年3月10日	第85回食品安全委員会(報告) 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
平成17年3月28日	薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会
平成17年7月20日	残留基準の告示
平成20年2月12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
平成20年2月14日	第226回食品安全委員会(要請事項説明)
平成20年2月29日	第89回動物用医薬品専門調査会
平成20年3月27日	第231回食品安全委員会(報告) 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
平成20年5月21日	薬事・食品衛生審議会へ諮問
平成20年5月23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

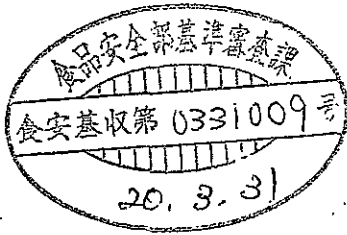
[委員]

青木 宙	東京海洋大学大学院海洋科学技術研究科教授
井上 松久	北里大学副学長
○大野 泰雄	国立医薬品食品衛生研究所副所長
尾崎 博	東京大学大学院農学生命科学研究科教授
加藤 保博	財団法人残留農薬研究所理事
斉藤 貢一	星薬科大学薬品分析化学教室准教授
佐々木 久美子	元国立医薬品食品衛生研究所食品部第一室長
志賀 正和	元独立行政法人農業技術研究機構中央農業総合研究センター虫害防除部長
豊田 正武	実践女子大学生活科学部生活基礎化学研究室教授
山内 明子	日本生活協同組合連合会組織推進本部 本部長
山添 康	東北大学大学院薬学研究科医療薬学講座薬物動態学分野教授
吉池 信男	青森県立保健大学健康科学部栄養学科教授
鰐淵 英機	大阪市立大学大学院医学研究科都市環境病理学教授

(○: 部会長)

(答申案)

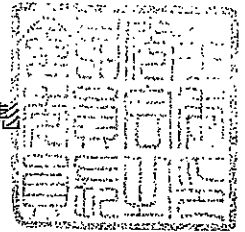
ピルリマイシンについては、現行の食品規格（食品中の動物用医薬品の残留基準）を変更しないことが適当である。



府食第 327号
平成 20年 3月 27日

厚生労働大臣
舛添 要一 殿

食品安全委員会
委員長 見上 彪



食品健康影響評価の結果の通知について

平成 20年 2月 12日 付け 厚生労働省 発 食安第 0212006号 をもって 貴省 から 当委員会 に 意見を 求められた ピルリマイシン 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

ピルリマイシンの一日摂取許容量を 0.008 mg/kg体重/日とする。

動物用医薬品評価書

ピルリマイシン

(第2版)

2008年3月

食品安全委員会

目次

	頁
○審議の経緯	3
○食品安全委員会委員名簿	4
○食品安全委員会動物用医薬品専門調査会専門委員名簿	4
○要約	5
I. 評価対象動物用医薬品の概要	6
1. 用途	6
2. 有効成分名の一般名	6
3. 化学名	6
4. 分子式	6
5. 分子量	6
6. 構造式	6
7. 開発の経緯等	6
II. 安全性に係る試験の概要	7
1. 吸収・分布・代謝・排泄試験	7
(1) 吸収・排泄試験	7
① 経口投与試験（ラット）	7
② 経口投与試験（ヒトボランティア）	7
③ 乳房内投与試験（泌乳牛）	8
④ 静脈投与試験（泌乳牛）	8
(2) 代謝試験	8
① 体内分布（ラット）	8
② 体内分布（泌乳牛）	9
③ 乳汁、肝臓、尿、糞中の代謝物（泌乳牛）	9
(3) 残留試験（泌乳牛）	9
① 国内における乳汁中残留試験	9
② 米国における乳汁中残留試験	10
③ 国内における組織中残留試験	11
④ 米国における組織中残留試験	11
2. 急性毒性試験	12
3. 亜急性毒性試験	12
(1) 30日間亜急性毒性試験（ラット）	12
(2) 3ヶ月間亜急性毒性試験（ラット）	13
(3) 30日間亜急性毒性試験（イヌ）	14
(4) 3ヶ月間亜急性毒性試験（イヌ）	14
4. 慢性毒性試験	15

5. 生殖発生毒性試験	15
(1) 2世代繁殖試験(ラット)	15
(2) 発生毒性試験(ラット)	16
(3) 発生毒性試験(マウス)	16
(4) 発生毒性試験(ウサギ)	17
6. 遺伝毒性試験	18
7. 微生物学的影響に関する特殊試験	19
(1) ヒトの腸内細菌に対する最小発育阻止濃度(MIC) ①	19
(2) ヒトの腸内細菌に対する最小発育阻止濃度(MIC) ②	20
(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)	20
(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)	21
(5) ヒトの腸内細菌の連続培養 <i>in vitro</i> 試験	22
(6) 偽膜性大腸炎のげっ歯類モデルを用いた <i>in vivo</i> 試験	22
(7) ヒトボランティアにおける微生物学的影響	22
8. ヒトにおける知見について	23
(1) ヒトにおけるリンコサミドの毒性影響	23
(2) 薬剤耐性菌について	23
Ⅲ. 食品健康影響評価	24
1. 毒性学的影響について	24
(1) 亜急性毒性試験について	24
(2) 生殖発生毒性試験について	24
(3) 遺伝毒性/発がん性について	24
(4) 毒性学的 ADI について	25
2. 微生物学的 ADI について	25
(1) 微生物学的 ADI について	25
3. 一日摂取許容量(ADI)の設定について	26
4. 食品健康影響評価について	27
・別紙1: 検査値等略称	28
・参照	29

〈審議の経緯〉

第1版関係

- 2004年12月3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1203002号）、関係書類の接受
- 2004年12月9日 第73回食品安全委員会（要請事項説明）
- 2005年1月18日 第22回動物用医薬品専門調査会
- 2005年2月3日 第80回食品安全委員会（報告）
- 2005年2月3日 より2005年3月2日 国民からの御意見・情報の募集
- 2005年3月9日 動物用医薬品専門調査会座長より食品安全委員会委員長へ報告
- 2005年3月10日 第85回食品安全委員会（報告）
（同日付で厚生労働大臣に通知）

第2版関係

- 2008年2月12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0212006号）、関係書類の接受
- 2008年2月14日 第226回食品安全委員会（要請事項説明）
- 2008年2月29日 第89回動物用医薬品専門調査会
- 2008年3月25日 動物用医薬品専門調査会座長より食品安全委員会委員長へ報告
- 2008年3月27日 第231回食品安全委員会（報告）
（同日付で厚生労働大臣に通知）

〈食品安全委員会委員名簿〉

(2006年6月30日まで)

寺田 雅昭 (委員長)
 寺尾 允男 (委員長代理)
 小泉 直子
 坂本 元子
 中村 靖彦
 本間 清一
 見上 彪

(2006年12月20日まで)

寺田 雅昭 (委員長)
 見上 彪 (委員長代理)
 小泉 直子
 長尾 拓
 野村 一正
 畑江 敬子
 本間 清一

(2006年12月21日から)

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

〈食品安全委員会動物用医薬品専門調査会専門委員名簿〉

(2005年9月30日まで)

三森 国敏 (座長)
 井上 松久 (座長代理)
 青木 宙 寺本 昭二
 明石 博臣 長尾 美奈子
 江馬 眞 中村 政幸
 大野 泰雄 林 眞
 菅野 純 藤田 正一
 嶋田 甚五郎
 鈴木 勝士
 津田 洋幸

(2007年2月11日まで)

三森 国敏 (座長)
 井上 松久 (座長代理)
 青木 宙 津田 修治
 明石 博臣 寺本 昭二
 江馬 眞 長尾 美奈子
 大野 泰雄 中村 政幸
 小川 久美子 林 眞
 渋谷 淳 藤田 正一
 嶋田 甚五郎 吉田 緑
 鈴木 勝士

(2007年9月30日まで)

三森 国敏 (座長)
 井上 松久 (座長代理)
 青木 宙 寺本 昭二
 明石 博臣 長尾 美奈子
 江馬 眞 中村 政幸
 小川 久美子 林 眞
 渋谷 淳 平塚 明
 嶋田 甚五郎 藤田 正一
 鈴木 勝士 吉田 緑
 津田 修治

(2007年10月1日から)

三森 国敏 (座長)
 井上 松久 (座長代理)
 青木 宙 寺本 昭二
 今井 俊夫 頭金 正博
 今田 由美子 戸塚 恭一
 江馬 眞 中村 政幸
 小川 久美子 林 眞
 下位 香代子 山崎 浩史
 津田 修治 吉田 緑
 寺岡 宏樹

要約

リンコマイシン系抗生物質であるピルリマイシン(CAS No.79548-73-5)について、動物用医薬品申請書資料を用いて食品健康影響評価を実施した。

評価に供した試験成績は、投与試験（ラット、牛及びヒト）、残留試験（牛）、急性毒性試験（ラット）、亜急性毒性試験（ラット及びイヌ）、慢性毒性試験及び発がん性試験は実施されていない。生殖発生毒性試験（ラット、マウス及びウサギ）、遺伝毒性試験及び微生物学的影響に関する特殊試験等である。

遺伝毒性試験においては *in vitro* 及び *in vivo* いずれも陰性であったことから、生体にとって問題となる遺伝毒性を示す可能性はないと考えられた。また、ピルリマイシン投与による繁殖能に対する影響、催奇形性は認められなかった。慢性毒性試験及び発がん性試験は実施されていないが、ピルリマイシンが遺伝毒性物質ではないこと、又、ヒト用医薬品として長い使用歴があり、リンコマイシン系の抗生物質については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一日摂取許容量（ADI）の設定は可能であると考えられた。各毒性試験の無影響量の最小値はラットを用いた亜急性毒性試験において NOAEL が 10 mg/kg 体重/日であり、安全係数 1,000 を適用した毒性学的 ADI は 0.1 mg/kg 体重/日であった。一方、微生物学的 ADI は、ヒトボランティアにおける経口摂取に関する知見から、最低用量の 50 mg/ヒトに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 NOEL 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 0.008 mg/kg 体重/日と設定される。

以上により、ピルリマイシンの食品健康影響評価については、一日摂取許容量（ADI）として 0.008 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. 有効成分名の一般名 (参照 1)

和名：ピルリマイシン塩酸塩水和物

英名：Pirlimycin hydrochloride hydrate

3. 化学名

(ピルリマイシン)

CAS (No.79548-73-5)

英名：(2*S*-*cis*)-Methyl 7-chloro-6,7,8-trideoxy-6-[[[(4-ethyl-2-piperidiny]lcarbonyl] amino]-1-thio-L-threo- α -D-galactooctopyranoside

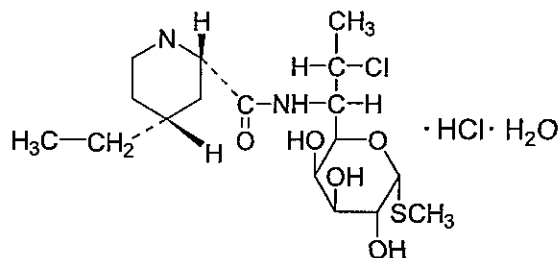
4. 分子式 (参照 1)

$C_{17}H_{31}ClN_2O_5S \cdot HCl \cdot H_2O$

5. 分子量 (参照 1)

465.43

6. 構造式 (参照 1)



7. 開発の経緯等 (参照 2)

ピルリマイシンは、リンコサミド¹を含むMLS抗生物質²の一群で、同系統の薬物としてはリンコマイシン、クリンダマイシン等がある。主としてグラム陽性菌に対して有効であり、作用機序は細菌細胞の70Sリボソームの50Sサブユニットに結合してペプチドトランスフェラーゼを阻害することにより、蛋白質合成を阻害するものと考えられている。一

¹ リンコサミン(6-amino-6,8-dideoxyoctose)を含む抗生物質の一群。

² Macrolide, Lincosamide and Streptogramin の略。これらは構造的に異なるが、すべて70Sリボソームの50Sサブユニットに作用する。

般的な乳房炎³の病原菌である *Staphylococcus* 属 (*S. aureus*) および *Streptococcus* 属 (*S. agalactiae*, *S. uberis*, *S. dysgalactiae*) 等のグラム陽性菌に対して有効であることから、動物用医薬品としては、乳房炎の治療に用いられている。

本剤は、国内における承認はないが、米国、ニュージーランド等では泌乳期の乳牛の潜在性⁴および臨床型乳房炎の治療、EU(英国、ドイツ、フランス等)では、泌乳期の乳牛の潜在性乳房炎の治療を目的として使用されている。米国・ニュージーランドにおける用法・用量は、乳牛の1分房当たりピルリマイシンとして50 mgの用量を24時間間隔、2回の乳房内注入投与で、休薬期間は米国では牛：9日、牛乳：36時間、ニュージーランドでは牛：10日、牛乳：60時間である。EUにおける用法・用量は、乳牛の1分房当たりピルリマイシンとして50 mgの用量を24時間間隔、8回の乳房内注入投与で、休薬期間は牛：23日、牛乳：5日である。なお、FDA(1993年)、EMEA(1998年)、JECFA(2004年)においてすでに評価されており、それぞれ10、6、8 µg/kg 体重/日(2004年)のADIが設定されている。

II. 安全性に係る試験の概要

1. 吸収・分布・代謝・排泄試験

(1) 吸収・排泄試験

① 経口投与試験(ラット)(参照4)

Sprague-Dawley系ラット(雌雄各6匹)に¹⁴C標識ピルリマイシンを経口投与(29mg/kg体重、5日間)し、尿中、糞中への回収率を測定した。

総投与量に対する回収量の比率は、尿中が約5%(雄4.5%、雌6.4%)、糞中が約60%(雄62.8%、雌58.8%)であった。

② 経口投与試験(ヒトボランティア)(参照5、6)

5名の健常ボランティア男性における経口投与(50、125、250、500 mg/ヒト)において、50mgの投与では血漿中からピルリマイシンは検出できなかったが、その他の用量におけるT_{max}は投与量にかかわらず4時間、C_{max}はそれぞれ、0.1、0.2、0.6 µg/mLであった。投与後24時間までの尿中から2.8~6.9%が、72時間までの糞中から29~34%が回収された。(参照5)

健常男性におけるカプセルあるいは溶液を用いた経口投与(125 mg/ヒト;各5名)において、C_{max}はカプセルで0.11 µg/mL、溶液で0.18 µg/mLであった。48時間までの尿中回収率はカプセルで4.4%、溶液で7.3%であった。(参照6)

³ 乳腺の炎症。ほとんどは細菌の感染による。臨床徴候としては、乳腺の疼痛、発熱、腫脹、乳の異常が含まれる。(参照3)

⁴ 乳汁中の細胞数異常、臨床病理学的数値の異常によってのみ認められる乳房炎。(参照3)

③ 乳房内投与試験（泌乳牛）（参照 7、8）

泌乳牛(12 頭)を用いた ^{14}C 標識ピルリマイシンの乳房内投与(1 分房当たり 200 mg×4 分房、24 時間間隔 2 回)における C_{\max} 、 T_{\max} 、 $T_{1/2}$ 、AUC は次の通りであった。血液試料は第 1 回投与後 96 時間（第 2 回投与後 72 時間）まで 17 時点で採取された。

乳房内に投与されたピルリマイシンは大部分が投与後 12 時間以内に排泄され、これらは血中に移行せずに排泄されたものと考えられたが、一部は血液/乳房を介して全身の組織循環に入り、2 相性の薬物動態が認められた。 T_{\max} は第 1 回投与時が 9~12 時間、第 2 回投与時が 6~12 時間、 C_{\max} は第 1 回投与時が平均 0.083 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、第 2 回投与時が平均 0.131 $\mu\text{g}/\text{mL}$ であった。第 2 回投与時は第 1 回投与時の影響があり、約 1.5 倍であった。 $T_{1/2}(\alpha \text{ 相})$ は平均 2.89 時間、 $T_{1/2}(\beta \text{ 相})$ は 37.6 時間であった。血中薬物濃度-時間曲線下面積 (AUC₀₋₁₂₀) は 2.269~7.114 $\mu\text{g}\cdot\text{hr}/\text{mL}$ であった。

最終投与後 4、6、14 及び 28 日休薬し、その間それぞれ 3 頭について乳汁を 12 時間間隔、糞尿を 24 時間間隔で採取し、乳汁中、尿中及び糞中への回収率が測定された。

総回収率には休薬による明確な差は認められず、平均総回収率は乳汁に約 50%、尿中に約 10%、糞中に約 24% であった。(参照 7)

泌乳牛(23 頭)に ^{14}C 標識ピルリマイシンを乳房内投与(1 分房当たり 50 mg、24 時間間隔 2 回)し、最終投与後 6、10、14、18 日までそれぞれ 5 頭(14 日のみ 8 頭)について乳汁を 12 時間間隔、糞尿を 24 時間間隔で採取し、乳汁中、尿中及び糞中への回収率が測定された。

総投与量に対する回収量の比率は、乳汁中が 50.7%、尿中が 12.7%、糞中が 27.6% であった。(参照 8)

④ 静脈投与試験（泌乳牛）（参照 9）

泌乳牛(3 頭)を用いた ^{14}C 標識ピルリマイシンの単回静脈内投与(800 mg/頭)における $T_{1/2}(\alpha \text{ 相})$ は 0.16~0.27 時間、 $T_{1/2}(\beta \text{ 相})$ は 10.8~23.1 時間であった。

総投与量に対する回収量の比率は、乳汁中が 4.3%、尿中が 26.5%、糞中が 47.0% であった。

(2) 代謝試験

① 体内分布（ラット）（参照 4）

Sprague-Dawley 系ラット(雌雄各 6 匹)を用いた ^{14}C 標識ピルリマイシンの経口投与(29 mg/kg 体重、5 日間)において、投与終了時(投与終了後 2-4 時間)の組織中濃度は肝臓で最も高く、ついで腎臓、筋肉、脂肪であった。肝臓中の放射活性に対する化合物の割合は、ピルリマイシンが(雄 57%、雌 76%)、ピルリマイシンスルホキシドが(雄 42%、雌 21%)で代謝物の割合は雄でより高かった。

② 体内分布（泌乳牛）（参照 7、8）

¹⁴C 標識ピルリマイシン（1 分房当たり 200 mg×4 分房）を 24 時間間隔で 2 回、泌乳牛（12 頭）に乳房内投与し、第 2 回投与後 4、6、14、28 日に各 3 頭を用いた肝臓、腎臓、筋肉、脂肪中の残留量が総放射活性により測定されている。組織中濃度は調査されたいずれの時点においても肝臓で最も高く、ついで腎臓、脂肪、筋肉の順であったが経時的に減少した。（参照 7）

¹⁴C 標識ピルリマイシン（1 分房当たり 50 mg×4 分房）を 24 時間間隔で 2 回、泌乳牛（23 頭）に乳房内投与し、第 2 回投与後 6、10、14、18 日に 5 頭（14 日のみ 8 頭）を用いて肝臓、腎臓、筋肉、脂肪中の残留量が総放射活性により測定されている。組織中濃度は肝臓で最も高く、ついで腎臓であった。最終投与後 18 日の時点の筋肉、脂肪中の濃度は 0.005 µg-eq/g であった。（参照 8）

③ 乳汁、肝臓、尿、糞中の代謝物（泌乳牛）（参照 10、11）

¹⁴C 標識ピルリマイシン（1 分房当たり 200 mg×4 分房）を 24 時間間隔で 2 回、泌乳牛（12 頭）に乳房内投与し、第 2 回投与後 4、6、14、28 日に各 3 頭を用いて組織を採取した。また、それまでの間乳汁を 12 時間間隔、糞尿を 24 時間間隔で採取した。採取された総サンプルの尿、糞、乳汁、肝臓中それぞれの代謝物の平均存在比は次のとおりであった。

尿中では、ピルリマイシン未変化体が 80.6%、ピルリマイシンスルホキシドが 8.0%、未同定の極性物質 1 が 3.8%、2 が 6.7%、その他 0.4% であった。糞中ではピルリマイシン未変化体が 44.6%、ピルリマイシンスルホキシドが 1.5%、未同定の極性物質 1 が 32.2%、2 が 17.8%、その他 2.6% であった。肝臓中ではピルリマイシン未変化体が 21.9%、ピルリマイシンスルホキシドが 76.5% であった。乳汁ではピルリマイシン未変化体が 90.0% 以上を占めていた。（参照 10）

未同定の極性物質について、MS 及び NMR を用いて同定が試みられ、これらはピルリマイシン又はピルリマイシンスルホキシドのリボヌクレオチド付加体であると結論されている。著者は、これら極性物質は主として糞中から検出されていることから、消化管中の微生物による代謝によって生成され、尿中からの検出については採取時に混入したものと推測している。（参照 11）

（3）残留試験（泌乳牛）

① 国内における乳汁中残留試験（参照 4 2）

泌乳期の乳牛（20 頭）を用いてピルリマイシンの 1 日 1 回 2 日間（24 時間間隔）の乳房内投与（常用量：50 mg（力価）/分房×4 分房）試験が実施された。乳汁試料は経時的（2 回目投与 12、24、36、48、60、72、84、96 時間後）に採取され、乳汁中ピルリマ

イシン濃度を微生物学的定量法で測定した。

試料分析の結果は、表1のとおりである。

測定の結果、2回目投与12時間後に平均8.0 µg(力価)/mLが検出されたが、2回目投与24時間後は0.63 µg(力価)/mLであった。その後も経時的に減少し、2回目投与96時間後には、20例中2例が定量限界値(0.04 µg(力価)/mL)を示すのみで、他は定量限界未満となった。

② 米国における乳汁中残留試験 (参照43)

泌乳期の乳牛(20頭)を用いてピルリマイシンの1日1回2日間(24時間間隔)の乳房内投与(常用量:50 mg(力価)/分房×4分房)試験が実施された。乳汁試料は経時的(1回目投与12、24時間後、2回目投与12、24、36、48、60、72、84、96時間後)に採取され、乳汁中ピルリマイシン濃度を微生物学的定量法で測定した。

試料分析の結果は、表1のとおりである。

測定の結果、2回目投与12時間後に平均13.6 µg(力価)/mLが検出されたが、2回目投与24時間後は平均0.77 µg(力価)/mLであった。その後も経時的に減少し、2回目投与96時間後には、16例中10例で平均0.02 µg(力価)/mLを示し、他は定量限界(0.02 µg(力価)/mL)未満となった。

表1 乳房内投与後の乳汁中平均ピルリマイシン濃度(µg(力価)/mL)

試料採取時期 (投与後の時間)	乳汁中ピルリマイシン濃度	
	日本における試験 (定量限界=0.04 µg(力価)/mL)	米国における試験 (定量限界=0.02 µg(力価)/mL)
	平均±標準偏差 (n=20)	平均±標準偏差 (n=16-20) ⁵⁾
1回目・12時間		10.3±4.43
1回目・24時間		0.82±1.20
2回目・12時間	8.0±1.9	13.6±7.18
2回目・24時間	0.63±0.19	0.77±0.86
2回目・36時間	0.13±0.03	0.22±0.23
2回目・48時間	0.08±0.02	0.10±0.06
2回目・60時間	— ¹⁾	0.05±0.02
2回目・72時間	— ²⁾	0.03±0.02 ⁶⁾
2回目・84時間	— ³⁾	0.03±0.01 ⁷⁾
2回目・96時間	— ⁴⁾	0.02±0.01 ⁸⁾

1): 未算出(20例中3例が定量限界未満。)

2): 未算出(20例中13例が定量限界未満。)

3): 未算出(20例中16例が定量限界未満。)

4): 未算出(20例中2例が定量限界値。)

5): 2回目投与60時間後からn=16

6): 16例中5例で定量限界未満

7): 16例中2例で定量限界未満

8): 16例中6例で定量限界未満

③ 国内における組織中残留試験 (参照44)

泌乳期の乳牛(4頭/時点)を用いてピルリマイシンの1日1回2日間(24時間間隔)の乳房内投与(常用量:50 mg(力価)/分房×4分房)試験が実施された。組織(肝臓、腎臓、筋肉、脂肪及び小腸)試料は経時的(2回目投与1、2、7及び14日後)に採取され、ピルリマイシンの組織中濃度を微生物学的定量法で測定した。

試料分析の結果は、表2のとおりである。

最終投与1日後において、筋肉及び脂肪では4例中2例で定量限界(筋肉:0.05 µg(力価)/mL、脂肪:0.02 µg(力価)/mL)未満であったが、その他の部位においては全例にピルリマイシンの残留が認められた。最終投与2日後には筋肉、7日後には脂肪、14日後には腎臓及び小腸の全例が定量限界(腎臓:0.05 µg(力価)/mL、小腸:0.02 µg(力価)/mL)未満となったが、肝臓では最終投与14日後においても全例にピルリマイシンが検出されている。

④ 米国における組織中残留試験 (参照45)

泌乳期の乳牛(4頭/群)を用いてピルリマイシンの1日1回2日間(24時間間隔)の乳房内投与(常用量:50 mg(力価)/分房×4分房)試験が実施された。組織(肝臓、腎臓、筋肉、脂肪及び乳房)試料は経時的(2回目投与2、7、14、21及び28日後)に採取され、ピルリマイシンの組織中濃度をHPLC/TSP/MS法で測定した。

試料分析の結果は、表2のとおりである。

最終投与2日後において、筋肉では4例中2例、脂肪では4例中3例が定量限界(0.025 µg(力価)/mL)未満であったが、その他の部位においては全例にピルリマイシンの残留が認められた。最終投与7日後には脂肪、最終投与14日後には腎臓及び筋肉、最終投与21日には乳房の全例が定量限界未満となった。肝臓については、最終投与28日後に1例のみ0.14µg(力価)/mLであったが、4例中3例は定量限界(0.025 µg(力価)/mL)未満であった。

表2 乳房内投与後の組織中平均ピルリマイシン濃度 (µg(力価)/g) (n=4)

	定量限界 (µg(力価)/g)	試料 部位	最終投与後日数(日)					
			1	2	7	14	21	28
日本	0.05	肝臓	2.2	1.8	0.78	0.28	/	
		腎臓	1.1	0.46	0.05 ³⁾	<0.05		
		筋肉	0.06 ⁴⁾	<0.05	<0.05	<0.05		
	0.02	脂肪	0.06 ⁴⁾	0.08 ⁵⁾	<0.02	<0.02		
		小腸	0.30	0.18	0.03 ³⁾	<0.02		
米国 ¹⁾	0.025	肝臓 ²⁾	/	1.69±0.21	0.61±0.19	0.21±0.12	0.06±0.06	0.14 ⁵⁾
		腎臓		0.46±0.07	0.06±0.01	<0.025	<0.025	<0.025
		筋肉		0.05 ⁴⁾	<0.025	<0.025	<0.025	<0.025
		脂肪		<0.025	<0.025	<0.025	<0.025	<0.025
		乳房		1.04±0.35	0.15±0.11	0.04 ⁵⁾	<0.025	<0.025

1): 平均値±標準偏差

- 2) : 肝臓酵素による代謝により代謝物成分に部分的な変化が起こり、ピルリマイシンスルホキシドがピルリマイシン親化合物へと可逆的な変化が起こることから、37℃で24時間インキュベーション後に分析
- 3) : 4例中1例で定量限界未満
- 4) : 4例中2例で定量限界未満
- 5) : 4例中3例で定量限界未満

2. 急性毒性試験 (参照12、13)

Sprague-Dawley 系ラット(雌;各3匹)を用いた試験において、経口投与では2,000 mg/kg 体重までの2回の塩酸ピルリマイシンの投与で死亡は認められなかった。腹腔内投与では300 mg/kg 体重では2回の投与で死亡は認められなかったが、2,000 mg/kg 体重では全例が死亡した。これらより、概略のLD₅₀値は経口投与で5,000 mg/kg 体重、腹腔内投与で500 mg/kg 体重と推定された。

3. 亜急性毒性試験

(1) 30日間亜急性毒性試験(ラット)(参照14)

5~6週齢のSprague-Dawley 系ラット(雌雄各10匹/群)を用いた胃挿管による強制経口(0、50、160、500 mg/kg 体重/日)投与における30日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。

一般的な臨床症状観察では、特に投与に起因した異常は認められなかった。また、160 mg 投与群の雌雄各1例が死亡したが、この他投与に起因した死亡例は認められなかった。

体重変化は対照群と概ね同様であったが、雌の50 mg 投与群の14日以降、500 mg 投与群の21日以降では軽度増加していた。摂餌量も対照群と概ね同様であったが、全ての投与群で雄の21-28日、雌の7-21日の間、軽度な増加がみられた。

血液学的検査では、雄の全ての投与群で用量依存性はなかったが白血球数の減少が認められた。500 mg 投与群の雄でMCH、雌で単球の増加が認められた。

血液生化学的検査では、雄の全ての投与群でBUNの増加、雌の全ての投与群でALTの上昇が認められた。雄の160 mg 以上の投与群で無機リン酸の増加、雄の500 mg 投与群でAST、ALT及びアドレナリンの上昇が認められた。

臓器重量では、500 mg 投与群の雄で副腎重量の軽度な増加が認められた。

剖検及び病理組織学的検査は、500 mg 投与群と対照群について実施されたが、500 mg で明確な病変が認められた胃については160 mg 投与群についても実施されている。500 mg 投与群では雌雄で表層及び深部の粘膜層に限局性の炎症病変が認められた。非腺胃部の病変は、通常腺胃部の近傍で認められ、角質層の境界面に限局した多形核貪食細胞の集合や、時折初期膿疱の形成が認められた。上皮は肥厚し、まれにびらんが認められ、

病変部位の境界縁⁵は伸長していた。真皮には単球及び好酸球の浸潤が認められた。腺胃部では主として単球と好酸球の粘膜下織への浸潤であった。また、肝臓の電子顕微鏡検査(各群雌雄3例ずつ実施)では、500 mg 投与群で肝細胞のミエリン小体⁶の存在およびリソゾームの増加が認められた。

本試験における NOAEL は求められなかった。

(2) 3ヶ月間亜急性毒性試験(ラット)(参照15)

約5週齢のSprague-Dawley系ラット(雌雄各20匹/群)を用いた胃挿管による強制経口(10、30、100、300 mg/kg 体重/日)投与における91日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。

一般的な臨床症状観察、体重変化では、特に異常は認められなかった。また、100 mg 投与群の雄1例及び300 mg 投与群の雄2例が失技のため死亡したが、この他投与に起因した死亡例は認められなかった。また、雄として群分けされていた30 mg 投与群の1例が、投与1週に雌であることが判明したため、試験から除かれた。

体重変化では、300 mg 投与群の雌で一時的な体重の増加が認められたが、この間の増体重に変化は無く、最終体重にも変化は認められなかった。

摂餌量では、300 mg 投与群の雌において対照群と比べて試験期間を通じて、100 mg 投与群の雌においてほとんどの期間で有意な増加が認められたが、体重変化との間に明確な相関関係はなかった。雄の全ての投与群と30 mg 投与群の雌においても散発的な摂餌量の増加が認められた。

眼検査には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、30 mg 以上投与群の雄でMCHの増加、100 mg 以上投与群ではMCVの増加が認められた。

血液生化学的検査では、30 mg 以上の投与群の雄で総タンパク質、グロブリンの低下が認められた。アルブミンについては30及び300 mg 投与群の雄で低下が認められ、100 mg 投与群の雄でも低下が認められたが、統計学的には有意でなかった。総タンパク質量の低下は100 mg 投与群の雌でも認められた。100 mg 以上投与群の雄及び300 mg 投与群の雌でBUNの増加が認められた。ALTの上昇は雄の300 mg 投与群のみで認められた。また、300 mg 投与群の雄でカルシウムの減少が認められた。

尿検査では300 mg 投与群の雄で尿量の増加、雌でpHの低下が認められた。

臓器重量では、100 mg 以上の投与群の雄で肝臓の絶対重量の減少、30 mg 以上投与群の雄で肝臓の比重量⁷の減少が認められた。雌では300 mg 投与群で腎臓の絶対重量の増加が認められた。

⁵ 前胃と腺胃の境界。境界縁は前胃粘膜の隆起であるが、これにより前胃と腺胃は明瞭に区分できる。

⁶ リソゾーム内に脂質が蓄積したもの。

⁷ 体重比重量を比重量という。

剖検および病理組織学的検査では、100 mg 投与群の雌 1 匹で乳房腺がんが認められたが、用量相関性はなく、投与に起因するものではないと考えられた。他に異常は認められなかった。

本試験における NOAEL は 10 mg/kg 体重/日と考えられた。

(3) 30 日間亜急性毒性試験 (イヌ) (参照 1 6)

13~17 ヶ月齢のビーグル犬(雌雄各 2 匹/群)を用いた強制経口投与(30、100、300 mg/kg 体重/日；半量ずつ 1 日 2 回投与)による 30 日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、投与はゼラチンカプセルを用いて行い、対照群には乳糖 (300 mg/kg 体重) 入りのカプセルを同様に投与した。

一般的な臨床症状観察では、300 mg 投与群の雌で嘔吐、流涎が認められたが、同用量投与群の雄やその他の群では認められなかった。また、嘔吐、流涎が認められた雌の 1 頭は状態が悪化したため、投与 17 日に試験が打ち切られた。

体重変化では、嘔吐、流涎が認められた 300 mg 投与群の雌で体重減少が認められた。

血液学的検査では、300 mg 投与群の雄の 1 頭で Ht の低下が認められた。また、雌の投与群の多くで対照群と比較して異染性好中球の分葉核球存在比の低下が認められたが、個々の動物について投与開始前の値と 28 日後の値を比較したところ有意差は認められなかった。

血液生化学的検査では、300 mg 投与群の雌雄で AST の上昇が認められ、雄では ALT の上昇も認められた。17 日目に試験を打ち切った 300 mg 投与群の雌 1 例 においては AP の上昇も認められた。

尿検査には特に異常は認められなかった。

臓器重量では、特に投与に起因した異常は認められなかった。

剖検及び病理組織学的検査では、次の所見が報告された。

肝臓の染色切片の観察で 100mg 以上投与群の雌雄の肝細胞に小葉中心性水腫性変性(電子顕微鏡検査で肝細胞ライソゾーム内のミエリン小体として観察)が認められた。300 mg 投与群の雌雄各 1 頭で、胆嚢の粘膜細胞の空胞化が認められた。17 日目に試験を打ち切った雌 1 の例では、胃粘膜にうっ血および微小出血が確認された。30 mg 投与群では著変は認められなかった。

本試験における NOAEL は 30 mg/kg 体重/日と考えられた。

(4) 3 ヶ月間亜急性毒性試験 (イヌ) (参照 1 4)

4~6 ヶ月齢のビーグル犬(雌雄各 5 頭/群)を用いた強制経口投与(4、16、40、160 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、投与はゼラチンカプセルを用いて行い、対照群には空のカプセルを同様に投与した。

試験期間中、死亡例は認められなかった。

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) ¹⁾	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 10^7 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 30)

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 10^5 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 31)

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シドについて、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シド
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シドとも、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シドの 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 $\mu\text{g/mL}$)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 $\mu\text{g/mL}$

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年の間の数十億回回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

シンの残留基準を設定するに際しての ADI としては、0.008 mg/kg 体重/日と設定することが適当であると考えられる。

4. 食品健康影響評価について

以上より、ピルリマイシンの食品健康影響評価については、ADI として次の値を採用することが適当と考えられる。

ピルリマイシン 0.008 mg/kg 体重/日

ただし、本評価については、薬剤耐性菌を介した影響について考慮する必要があり、これについては検討中である。

<別紙1:検査値等略称>

ADI	一日許容摂取量
ALT	アラニンアミノトランスフェラーゼ (=グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ)
AP	アルカリフォスファターゼ
AST	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (=グルタミン酸オキサロ酢酸トランスアミナーゼ)
AUC	血中薬物濃度-時間曲線下面積
BUN	血液尿素窒素
CHL	チャイニーズハムスター肺由来細胞株
CHO	チャイニーズハムスター卵巣由来細胞株
C _{max}	最高血(漿)中濃度
Ht	ヘマトクリット
LD ₅₀	半数致死量
MCH	平均赤血球血色素量
MCV	平均赤血球容積
MIC	最小発育阻止濃度
NOAEL	無毒性量
NOEL	無作用量
T _{1/2}	消失半減期
T _{max}	最高血(漿)中濃度到達時間

<参照>

- 1 Pirlimycin MRL in bovine milk and tissues : JECFA Toxicology Dossier (Unpublished) ; ファイザー社 社内資料
- 2 Prescott J.F. (2000) Lincosamides, macrolides, and pleuromutiline. : Antimicrobial therapy in veterinary medicine. Third edition. ; Prescott J.F. et. al., Editor, Iowa State University Press
- 3 獣医学大事典 株式会社 チクサン出版社 2000
- 4 Comparative metabolism of pirlimycin hydrochloride (U-57,930E) in rats (oral gavage) and bovine (udder infusion) (Unpublished study # 782-9760-89-001) ; ファイザー社 社内資料
- 5 Single dose placebo-controlled tolerance and ADME study of oral pirlimycin HCL (U-57930E) compared to oral clindamycin HCl at four dose levels (Unpublished study # 7254-83-042) ; ファイザー社 社内資料
- 6 Single-dose oral bioavailability comparison of pirlimycin HCL (U-57930E) capsule formulation and oral solution with clindamycin HCl capsules (Unpublished study # 7254-83-043) ; ファイザー社 社内資料
- 7 Absorption, distribution, metabolism, and excretion of ¹⁴C-pirlimycin hydrochloride (U-57,930E) in the lactating daily cow, Part I. Distribution and pharmacokinetics (Unpublished study # 782-9760-88-001) ; ファイザー社 社内資料
- 8 Residue studies of ¹⁴C-pirlimycin hydrochloride (U-57,930E) in the lactating daily cow treated twice in all four quarters at 24-hour interval with 50 mg/quarter of pirlimycin free base equivalents (Unpublished study # 782-9726-92-002) ; ファイザー社 社内資料
- 9 Pharmacokinetics of pirlimycin in the lactating daily cow following single dose intravenous and intramammary of ¹⁴C-pirlimycin hydrochloride (U-57,930E) at a dose rate of 800 mg pirlimycin free base equivalents per administration (Unpublished study # 782-9726-93-003) ; ファイザー社 社内資料
- 10 Absorption, distribution, metabolism, and excretion of ¹⁴C-pirlimycin hydrochloride (U-57,930E) in the lactating daily cow, Part II. Metabolite profiles (Unpublished study # 782-9760-88-002) ; ファイザー社 社内資料
- 11 Absorption, distribution, metabolism, and excretion of ¹⁴C-pirlimycin hydrochloride (U-57,930E) in the lactating daily cow, Part III. Isolation and identification of excreta metabolites (Unpublished study # 782-9760-89-004) ; ファイザー社 社内資料
- 12 PNU-57,930E のラットを用いる経口投与による急性毒性試験 (Unpublished study # 1470N-06-04-274) ; ファイザー社 社内資料
- 13 PNU-57,930E のラットを用いる腹腔内投与による急性毒性試験 (Unpublished study # 1470N-06-04-275) ; ファイザー社 社内資料
- 14 U-57,930E, 30-day oral toxicity test in the rat (Unpublished study # 7254-81-7263-010) ; ファイザー社 社内資料

- 15 13-week oral toxicity study in Sprague Dawley rats with U-57,930E (Unpublished study # 7220-88-043) ; ファイザー社 社内資料
- 16 U-57,930E, 30-day oral toxicity test in the dog (Unpublished study # 7254-81-7263-004) ; ファイザー社 社内資料
- 17 U-57,930E; 90-day oral toxicity and safety study in the beagle dog (Unpublished study # 7220-89-006) ; ファイザー社 社内資料
- 18 A two-generation reproduction study (oral) in rats given U-57,930E (Unpublished study # 7227-88-010) ; ファイザー社 社内資料
- 19 A segment II teratology study (oral) of U-57,930E in rats (Unpublished study # 7220-88-129) ; ファイザー社 社内資料
- 20 U-57,930E: a segment II teratology study (oral) in mice (Unpublished study # 7224-93-067) ; ファイザー社 社内資料
- 21 PNU-57,930E: oral embryo-fetal development study in the female rabbit (Unpublished study # 2002-0653) ; ファイザー社 社内資料
- 22 Evaluation of U-57,930E (pirlimycin) in the Salmonera/microsome (Ames) assay (Unpublished study # 7268-83-025) ; ファイザー社 社内資料
- 23 Evaluation of U-57,930E pirlimycin in the Salmonera/microsome test (Ames assay) ; (Unpublished study # 7227-89-030) ; ファイザー社 社内資料
- 24 PNU-57,930E の細菌を用いる復帰変異試験 (Unpublished study # 1470N-06-04-273) ; ファイザー社 社内資料
- 25 The V79 mammalian cell mutation assay with pirlimycin (U-57,930E) with and without an S9 metabolic activation system (Unpublished study # 7263-84-003) ; ファイザー社 社内資料
- 26 Evaluation of U-57,930E in the AS52/XPRT and CHO/HPRT mammalian cell forward gene mutation assays (Unpublished study # 7228-89-023) ; ファイザー社 社内資料
- 27 Evaluation of U-57,930E in the micronucleus test in mouse bone marrow (Unpublished study # 7227-89-077) ; ファイザー社 社内資料
- 28 The micronucleus test with U-57,930E (pirlimycin) (Unpublished study # 7268-83-029) ; ファイザー社 社内資料
- 29 In vitro activity of pirlimycin against bacterial species found in the human gastrointestinal tract (Unpublished study # 782-7922-95-001) ; ファイザー社 社内資料
- 30 In vitro activity of pirlimycin (U-57,930E) and pirlimycin sulfoxide hydrochloride against Bifidobacterium spp. and Eubacterium spp. from human gastrointestinal tract (Unpublished study # 705-7923-91-016) ; ファイザー社 社内資料
- 31 Results of 2004 Bovine Mastitis Pathogen Susceptibility Monitoring Program for Ceftiofur, Lincomycin/Neomycin, Penicillin/Novobiocin, and Pirlimycin (Unpublished study # 1631R-60-04-447) ; ファイザー社 社内資料

- 32 Minimal inhibitory concentration (MIC) determination of pirlimycin (U-57,930E) and its adenylate and sulfoxide derivatives for organisms commonly found in the environment (Unpublished # 782-7922-90-001) ; ファイザー社 社内資料
- 33 Greening, R.C., Baker, K.D. & Kotarski, S.F. (1995) : Effect of Pirlimycin on the Viability of Anaerobic Bacterial Species Found in the Human Gastrointestinal Tract. ; Unpublished Report no. 782-7922-95-002 from The Upjohn Company. ; ファイザー社 社内資料
- 34 Stapert, D., Hamel, J.C., Lee, J.C., Yancey, R.J., Jr., Ford, C.W., (15 October 1991) : "The hamster model of antibiotic-associated pseudomembranous colitis, an update," ; The Upjohn Company Technical Report No. 7252-91-054. (Unpublished) ; ファイザー社 社内資料
- 35 Gerard, G.C., Lummis, W.L., Hall, L.T., Patel, R.K., Spiro, T.E., 30 August 1982. : "The analysis of pirlimycin and clindamycin concentrations in human serum, urine, and feces for infectious disease Protocol #4601". ; The Upjohn Company Technical Report No. 7262-82-7262-027. (Unpublished) ; ファイザー社 社内資料
- 36 Kotarski, S.F. (1995) : Safety Evaluation of the Lincosaminides: Gut Flora Effects. ; Unpublished expert report from The Upjohn Company. Submitted to WHO by Upjohn & Pharmacia, Kalamazoo, Michigan, USA. (Unpublished) ; ファイザー社 社内資料
- 37 Hoffman 2001 ; 抗微生物薬 グッドマン・ギルマン 薬理書(下) 薬物治療の基礎と臨床 第10版 ; 廣川書店
- 38 WHO : Food Additives Series 45, 2000. Lincomycin
- 39 WHO : Technical Report Series 893, 2000.
- 40 VICH : General approach to Establish a Microbiological ADI (Step 7), 2004.
- 41 WHO TRS 799 (1990)
- 42 ファイザー株式会社, 動物用医薬品製造販売承認申請書 添付資料40 : PC-5140 の搾乳牛における乳汁中残留試験
- 43 ファイザー株式会社, 動物用医薬品製造販売承認申請書 添付資料42 : 乳汁中及び組織中の残留ピルリマイシン親化合物の消長 第1部
- 44 ファイザー株式会社, 動物用医薬品製造販売承認申請書 添付資料41 : PC-5140 の搾乳牛における臓器・組織中残留試験
- 45 ファイザー株式会社, 動物用医薬品製造販売承認申請書 添付資料43 : 乳汁中及び組織中の残留ピルリマイシン親化合物の消長 第2部