

(案)

## 動物用医薬品評価書

### ミロサマイシン

2008年6月

食品安全委員会動物用医薬品専門調査会



## 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	6
II. 安全性に係る試験の概要	7
1. 体内動態（吸収・分布・代謝・排泄）	7
(1) 薬物動態試験（雌ラット）	7
(2) 薬物動態試験（豚）	8
(3) 薬物動態試験（鶏）	10
2. 残留試験	12
(1) 残留試験（豚）①	12
(2) 残留試験（豚）②	12
(3) 残留試験（豚）③	13
(4) はちみつ中の残留試験	13
3. 急性毒性試験	13
4. 亜急性毒性試験	14
(1) 28日間亜急性毒性試験（ラット）	14
(2) 6ヶ月間亜急性毒性試験（ラット）	15
5. 慢性毒性試験及び発がん性試験	16
6. 生殖発生毒性試験	16
(1) 胎児の器官形成期投与試験（ラット）	16
(2) 催奇形性試験（ウサギ）	17
7. 遺伝毒性試験	17
8. その他の試験	18
(1) 抗原性試験及び皮膚感作性試験	18
(2) 局所刺激性試験	19
9. 微生物学的影響に関する特殊試験	20

Ⅲ. 食品健康影響評価 .....	21
1. 毒性学的影響について .....	21
(1) 亜急性毒性試験 .....	21
(2) 生殖発生毒性試験 .....	21
(3) 遺伝毒性／発がん性試験 .....	21
(4) 毒性学的影響のエンドポイントについて .....	21
2. 微生物学的影響について .....	22
3. 一日摂取許容量 (ADI) の設定について .....	22
4. 食品健康影響評価について .....	23
・別紙 1 : 動物用医薬品の用法・用量 .....	24
・別紙 2 : 検査値等の略称 .....	25
・参照 .....	26

〈審議の経緯〉

- 2004年12月3日 農林水産大臣より「ミロサマイシンを有効成分とするみつばちの飼料添加剤（みつばち用アピテン）」の再審査に係る食品健康影響評価について要請（16消安第6970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）
- 2004年12月21日 第21回動物用医薬品専門調査会
- 2005年8月5日 農林水産大臣より「ミロサマイシンを有効成分とする豚の注射剤（マイプラビン注100）」の製造承認に係る食品健康影響評価について要請（17消安第4663号）、関係書類の接受
- 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0805005号）、関係書類の接受
- 2005年8月25日 第108回食品安全委員会（要請事項説明）
- 2005年9月26日 第35回動物用医薬品専門調査会
- 2005年11月29日 暫定基準告示（参照1）
- 2006年7月18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0718015号）、関係書類の接受
- 2006年7月20日 第153回食品安全委員会（要請事項説明）
- 2008年1月29日 第88回動物用医薬品専門調査会
- 2008年2月29日 第89回動物用医薬品専門調査会
- 2008年6月26日 第244回食品安全委員会（報告）

〈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日まで)

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

(2008年4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 能美 健彦  
下位 香代子 山崎 浩史  
津田 修治 吉田 緑  
寺岡 宏樹

## 要約

マクロライド系抗生物質である「ミロサマイシン (CAS No.73684-69-2)」について、各種評価書等（動物用医薬品再審査申請時の添付資料等）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、体内動態（雌ラット、豚及び鶏）、残留（豚及びはちみつ）、急性毒性（マウス及びラット）、亜急性毒性（ラット）、生殖発生毒性（ラット及びウサギ）、遺伝毒性及び微生物学的影響に関する特殊試験等である。

試験の結果から、ミロサマイシン投与による影響は、体重増加抑制、脾臓重量の低下、雄のWBCの低値などであった。

慢性毒性試験及び発がん性試験は実施されていないが、EMEAにより同じ16員環マクロライド系抗生物質であるタイロシンのげっ歯類を用いた発がん性試験は陰性であることが確認されており、また、本剤のラットへの6ヶ月投与において明らかな細胞障害性及び増殖性を示唆する毒性学的影響は得られていないこと及び遺伝毒性試験の結果、ミロサマイシンが生体にとって特段問題となる遺伝毒性を示さないことから、慢性毒性試験及び発がん性試験を欠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。

各毒性試験の無毒性量または作用量の最小値は、ラットの器官形成期投与試験から得られた無毒性量40 mg/kg体重/日であった。生殖発生毒性試験のデータが不十分であること、慢性毒性試験及び発がん性試験がないことを踏まえて、安全係数1,000を適用した毒性学的ADIは0.04 mg/kg体重/日であった。一方、微生物学的ADIは、VICHの算出式に基づいて0.004 mg/kg体重/日と設定した。

以上によりミロサマイシンの食品健康影響評価については、ADIとして0.004 mg/kg体重/日を設定した。

# I 評価対象動物用医薬品の概要

## 1. 用途

抗菌剤

## 2. 有効成分の一般名

和名：ミロサマイシン

英名：Mirosamicin

## 3. 化学名

IUPAC

英名：(1R,2S,3R,6E,8S,9S,10S,12R,14E,16R)-9-[(2S,3R,4S,6R)-4-dimethylamino-3-hydroxy-6-methyloxan-2-yl]oxy-3-ethyl-2-hydroxy-2-[[[(2R,3R,4R,5R,6R)-5-hydroxy-3,4-dimethoxy-6-methyloxan-2-yl]oxymethyl]-8,10,12-trimethyl-4,17-dioxabicyclo[14.1.0]heptadeca-6,14-diene-5,13-dione

CAS (No.73684-69-2)

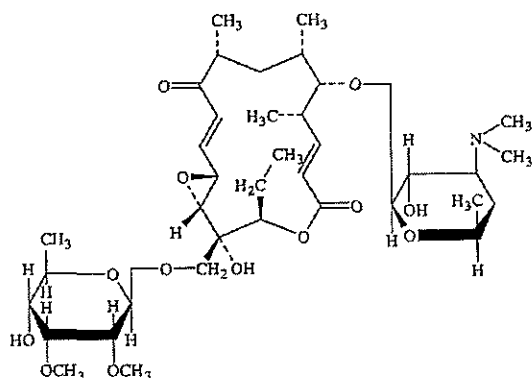
## 4. 分子式

$C_{37}H_{61}NO_{13}$

## 5. 分子量

727.89

## 6. 構造式



## 7. 開発の経緯

ミロサマイシンはグラム陽性菌、一部のグラム陰性菌及びマイコプラズマに対して抗菌力を有するマクロライド系抗生物質である。ミロサマイシンの日本医薬品一般名称 (Japanese Accepted Names for Pharmaceuticals) は、当初、ミポラマイシンと定められたが (1986年)、その後、国際的一般名称 (International Nonproprietary Name)



がミロサマイシンと決定された。(1989年) ことを受け、1990年にミロサマイシンに変更した。

1978年に *Micromonospora griseorubida* sp. nov. の培養ろ液から、マクロライド系抗生物質であるミシナマイシン群が発見され、この中から主要な成分である 16 員環のミロサマイシンを単離することに成功したことから、動物用医薬品としての開発が着手された。ミロサマイシンは、1988年3月に鶏の呼吸器性マイコプラズマ病及び伝染性コリーザの治療薬(飼料添加剤)として承認され、その後、豚の胸膜肺炎及びマイコプラズマ肺炎の治療薬(飼料添加剤)及びみつばちのアメリカ腐疽病の予防薬(飼料添加剤)として承認された。今回、新たに豚のマイコプラズマ肺炎を適応症とする注射剤としての承認申請がなされている。なお、今日までミロサマイシンはヒト用医薬品としての使用はない。

休薬期間については、豚(飼料添加剤)は、食用に供するためにと殺する前7日間、鶏(飼料添加剤)は食用に供するためにと殺する前5日間、みつばち(飼料添加剤)14日間である。

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

## II 安全性に係る試験の概要

### 1. 体内動態(吸収・分布・代謝・排泄)

#### (1) 薬物動態試験(雌ラット)

##### ① 血清中濃度及び体内動態(参照2)

Wistar系ラット(8週齢、雌、35匹/群)にミロサマイシン30及び60mg(力価)/kg体重を単回強制経口投与し、投与30分、1、2、4、6、8及び10時間後の血清中濃度が微生物学的定量法で測定されている。最高血清中濃度については、30mg(力価)/kg体重投与群で2時間後に0.53µg/mLとなり、8時間後には検出限界(0.05µg(力価)/mL)未満となった。60mg(力価)/kg体重投与群では、2時間後に2.2µg/mLとなり、投与10時間後には0.11µg/mLが検出された。薬物動態パラメーターでは、30及び60mg(力価)/kg体重投与群でそれぞれ $T_{1/2}$ は1.42及び1.28時間、 $K_e$ (消失速度定数)は0.49及び0.54 $hr^{-1}$ 、AUCは2.01及び6.85µg·hr/mLであり、消失速度に投与量による相違は認められなかった。

##### ② 分布(雌ラット)(参照3)

Wistar系ラット(12週齢、雌、15匹/群)にミロサマイシン20及び30mg(力価)/kg体重を単回強制経口投与し、投与1時間後における組織中(脳、心臓、肺、肝臓、腎臓、脾臓、膵臓、小腸壁、脂肪、筋肉、卵巣、子宮及び血清)の体内分布が微生物学的定量法で調べられている。ミロサマイシンはラットの体内に広く分布し、20及び30mg(力価)/kg体重投与群ともに肺(各々平均0.64及び2.05µg/g)、肝臓(1.52及び4.21µg/g)、腎臓(0.99及び2.75µg/g)及び脾臓(0.75及び1.68µg/g)では血清(0.11及び0.30µg/mL)と比べて高濃度の分布が認められ、臓器親和性の高い薬物であること

<sup>1</sup> 平成17年厚生労働省告示第499号によって新たに定められた残留基準値

が示唆された。

## (2) 薬物動態試験 (豚)

### ① 分布 (参照 4)

LWD 種豚 (概ね 3 ヶ月齢、雌 : 6 頭、去勢雄 : 3 頭) にミロサマイシン製剤をミロサマイシンとして 5mg (力価) /kg 体重を単回筋肉内投与し、経時的に組織中の分布について検討されている。(微生物学的定量法)

経時的な分布の結果は表 1 のとおりである。ミロサマイシンは投与 30 分及び 1 時間後に広範囲の組織に分布が確認され、投与 4 時間後においても脂肪を除く全組織に分布が認められた。

表. 1 各測定時点におけるミロサマイシンの組織内平均濃度 n=3

採材部位	組織内濃度 (µg(力価)/g(mL))		
	投与 0.5 時間後	投与 1 時間後	投与 4 時間後
血漿	1.2	1.0	0.21
筋肉	0.39	0.40	0.10
脂肪	0.08	0.10	<0.05
肝臓	3.3	4.5	0.87
腎臓	7.6	9.8	4.2
小腸	2.2	1.8	0.28
肺	2.0	2.3	1.3
脾臓	4.3	4.4	1.5
胆汁	225	263	71
注射部位筋肉	285	153	28
周辺筋肉	84	28	1.8

検出限界 : 0.05 µg(力価)/g(mL)

### ② 吸収及び排泄 (参照 5)

LWD 種豚 (概ね 3 ヶ月齢、去勢雄、3 頭) にミロサマイシン製剤をミロサマイシンとして 5mg (力価) /kg 体重を単回筋肉内投与し、経時的に血漿 (投与前日、投与 30 分、1、2、4、8、12 及び 12 時間後)、糞及び尿 (投与前日~投与直前、投与後 0~4、4~8 時間、8~12 時間、12~24 時間、48~72 及び 72~96 時間) を採取してミロサマイシンの吸収及び排泄について検討されている。(微生物学的定量法)

吸収試験の結果は、表 2 のとおりであった。ミロサマイシンの血漿中濃度は投与後急速に上昇し、平均 AUC<sub>t</sub> は 2.43 µg (力価) · 時間/g、平均 C<sub>max</sub> は 1.1 µg (力価) /g、平均 T<sub>1/2</sub> は 1.4 時間であった。

表. 2 単回筋肉内投与後の平均血漿中濃度

血漿中濃度 (1.1µg (力価) /g) n=3							AUC <sub>t</sub> *	C <sub>max</sub> **	T <sub>1/2</sub> ***
投与後経過時間 (時間)									
投与前	0.5	1	2	4	8	12			
<0.05	0.98	0.96	0.51	0.22	0.05	<0.05	2.43	1.1	1.4

単位：\* $[\mu\text{g}(\text{力価}) \cdot \text{時間}/\text{g}]$ 、\*\* $[\mu\text{g}(\text{力価})/\text{g}]$ 、\*\*\* $[\text{時間}]$ 、検出限界：0.05  $\mu\text{g}(\text{力価})/\text{mL}$

糞中への排泄は、投与後 0~4 時間から認められ、投与後 12~24 時間または 24~48 時間で最高排泄率を示した後、急激に減少したが、投与後 72~96 時間においても排泄が観察された。尿中への排泄は、投与後 0~4 時間に最高排泄率を示した後、急激に減少したが、投与後 72~96 時間においても排泄が観察された。投与後 96 時間以内の投与量に対する平均総排泄率は、糞中 6.8%、尿中 12.5%、糞尿中 19.4%であった。(表 3)

表.3 単回筋肉内投与後 96 時間以内の排泄量及び排泄率 (微生物学的定量法) n=3

	総排泄量 (mg(力価))	投与量 (mg(力価))	投与量に対する排泄率(%)
糞	17.8	260	6.8
尿	32.5	260	12.5
糞尿	50.4	260	19.4

検出限界：0.05  $\mu\text{g}(\text{力価})/\text{g}(\text{mL})$

### ③ 代謝 (参照 6)

WL 種豚 (体重約 20kg、5 頭) にミロサマイシン 30mg (力価) /kg 体重を単回強制経口投与し、投与 2 時間後の組織中のミロサマイシン及び代謝物の組成比率について検討された。(HPLC 法)

未変化体の組成比率は血清、腎臓、肺でそれぞれ平均 73%、72%、75%と高い比率で存在していたが、胆汁及び肝臓中ではそれぞれ平均 54%、59%と他の組織と比べ低い比率であった。

また、代謝物 A (3'-N-デメチルミロサマイシン) は血清中に 17%、肺に 11%、腎臓に 10%、肝臓に 19%、胆汁中に 34%と高い組成比率で検出された。代謝物 D (10,11-ジヒドロミロサマイシン) は肝臓で 6%検出されたが、その他の組織ではわずかであった。これらのことから、ミロサマイシンは主に肝臓で代謝されると推定され、主な代謝物は代謝物 A であると考えられた。(表 4)

表.4 投与 2 時間後の生体内でのミロサマイシン及び代謝物の平均組成比率 (%) n=5

投与条件	試料	ミロサマイシン	代謝物 (組成比率)
30 mg/kg 体重 単回	血清	73.2	代謝物A(16.7)、代謝物B,C(4.3)、代謝物D(1.0)、代謝物E,F(-)、代謝物G(0.3)、その他(4.5)
	胆汁	53.5	代謝物A(34.1)、代謝物B,C(5.1)、代謝物D(1.0)、代謝物E,F(0.2)、代謝物G(1.1)、その他(5.0)
	肝臓	58.9	代謝物A(19.0)、代謝物B,C(5.1)、代謝物D(6.0)、代謝物E,F(1.1)、代謝物G(1.3)、その他(8.6)
	腎臓	72.3	代謝物A(9.8)、代謝物B,C(4.2)、代謝物D(2.8)、代謝物E,F(0.5)、代謝物G(0.6)、その他(9.8)
	肺	75.4	代謝物A(11.4)、代謝物B,C(5.0)、代謝物D(1.3)、代謝物E,F(-)、代謝物G(0.6)、その他(6.3)

—：ピークが検出されず、ピーク面積を 0 として算出した。

- 代謝物 A : 3"-N-デメチルミロサマイシン
- 代謝物 B : 3"-O-デメチルミロサマイシン
- 代謝物 C : 2"-O-デメチルミロサマイシン
- 代謝物 D : 10,11-ジヒドロミロサマイシン
- 代謝物 E : 3"-O-デメチル-10,11-ジヒドロミロサマイシン
- 代謝物 F : 2"-O-デメチル-10,11-ジヒドロミロサマイシン
- 代謝物 G : 3"-N-オキサイドミロサマイシン

#### ④ 排泄 (参照 7)

豚 (体重 20.4kg/頭、約 2 ヶ月齢、雄 3 頭) にミロサマイシン 30mg (力価) /kg 体重を単回強制経口投与し、経時的に糞及び尿 (投与後 0~4、4~8、8~12、12~24、24~48、48~72 及び 72~96 時間) を採取してミロサマイシンの排泄について検討された。

微生物学的定量法における糞中の排泄率は、投与後 24~48 時間が 7.0% と最も多く、投与後 96 時間の累積排泄率は 11.4% であった。また、尿中の排泄率は投与後 12 時間の累積排泄率が 13.1% であり、その後の排泄はわずかで、投与後 96 時間の累積排泄率は 15.3% であった。

HPLC 法における尿中の累積排泄率は、投与後 12 時間が 6.9% であり、その後の排泄はわずかで、投与後 48 時間で 7.9% であった。投与後 48 時間以降は未変化体の検出は不能となった。

表.5 単回経口投与後 96 時間の平均累積排泄量及び排泄率 (微生物学的定量法) n=3

	平均投与量 (mg (力価)/頭)	累積排泄量 (mg (力価))	投与量に対する排泄率 (%)
糞	610	68.7	11.4
尿	610	93.4	15.3

#### (3) 薬物動態試験 (鶏)

##### ① 代謝 (参照 8)

鶏 (ブロイラー、3 羽/群) を用いてミロサマイシンの単回強制経口投与 (20 mg/kg 体重) 試験が実施され、経時的に体内における組織中のミロサマイシン及び代謝物について検討されている。

HPLC 法により測定した結果は表 6 のとおりである。測定した各時点においてすべての組織でミロサマイシンが主成分として存在したが、肝臓、胆汁中でミロサマイシン含有組成比が約 50% と低い値であった。また、代謝物は肝臓中で代謝物 A が 14.3~17.8% 及び代謝物 D が 11.0~14.0%、胆汁中では代謝物 A が 25.6~30.7% の組成比で存在していたが、それ以外はいずれもわずかな比率で代謝物が測定されたにすぎなかった。

表.6 鶏の生体内でのミロサマイシン及び代謝物の平均組成比率 (%) n=3

投与量 (mg/kg 体重)	試料*	ミロサマイシン 及び代謝物**	経過時間 (時間)			
			2	4	6	8
		ミロサマイシン	80.0	81.8	82.5	77.8

20	血液	代謝物 A	10.1	4.1	5.0	5.9
		代謝物 B	0.5	1.0	0.7	1.0
		代謝物 C	2.2	4.7	3.2	3.7
		代謝物 D	2.4	3.3	3.3	3.6
	胆汁	ミロサマイシン	46.6	45.4	53.4	46.7
		代謝物 A	30.1	30.7	25.6	28.8
		代謝物 B	1.9	2.5	2.3	3.1
		代謝物 C	3.2	4.4	3.3	4.4
		代謝物 D	2.3	3.0	3.7	2.8
	肝臓	ミロサマイシン	50.7	51.5	53.5	53.2
		代謝物 A	15.9	14.3	17.0	17.8
		代謝物 B	1.9	1.0	0.7	0.2
		代謝物 C	2.6	1.5	3.4	3.2
		代謝物 D	14.0	11.3	11.8	11.0
	腎臓	ミロサマイシン	67.7	69.4	67.2	70.8
		代謝物 A	7.3	6.3	7.0	5.0
代謝物 B		0.9	0.7	0.8	0.6	
代謝物 C		3.3	7.1	6.3	6.0	
代謝物 D		7.5	7.6	8.6	7.8	

\* : 他に肺及び糞尿混合物のデータ有り。血液、腎臓と同様の結果を示した。

\*\* : 他に代謝物 E 及び代謝物 F、代謝物 G、その他のデータ有り。いずれも量的に少なかった。

代謝物 A : 3'-N-デメチルミロサマイシン

代謝物 B : 3'-O-デメチルミロサマイシン

代謝物 C : 2'-O-デメチルミロサマイシン

代謝物 D : 10,11-ジヒドロミロサマイシン

代謝物 E : 3'-O-デメチル-10,11-ジヒドロミロサマイシン

代謝物 F : 2'-O-デメチル-10,11-ジヒドロミロサマイシン

代謝物 G : 3'-N-オキサイドミロサマイシン

## ② 排泄 (糞尿混合) (参照 9)

鶏 (ブロイラー:アーバーエーカー、約 9 週齢、雄、9 羽/群) を用いてミロサマイシン製剤の単回強制経口 (ミロサマイシンとして 10 及び 20 mg (力価)/kg 体重) 投与し、経時的に糞尿混合物を採取してミロサマイシンの排泄について検討された。

微生物学的定量法によりミロサマイシン濃度を測定した結果は表 7 のとおりである。10 及び 20 mg (力価)/kg 体重投与群における投与後 24 時間の糞尿中の平均累積排泄率はそれぞれ 19.7 及び 22.9%であった。

表.7 糞尿混合物中平均累積排泄率 (%) (微生物学的定量法) n=9

投与量 (mg(力価)/kg 体重)	経過時間 (時間)						
	1	2	4	6	8	10	24
10	0.4	1.7	4.7	8.9	12.1	14.3	19.7
20	2.0	7.2	11.0	15.3	17.5	19.4	22.9

### ③ 排泄（糞尿別）（参照 10）

鶏（採卵鶏、約 60 週齢、5 羽、人工肛門を外科的に設着）にミロサマイシン製剤を単回強制経口（ミロサマイシンとして 10 mg(力価)/kg 体重）投与し、経時的に糞と尿を別々に採取してミロサマイシンの排泄について検討されている。（糞・尿：微生物学的定量法、尿：HPLC 法）

糞及び尿中のミロサマイシン濃度を測定した結果は表 8、9 のとおりである。投与後 24 時間のミロサマイシンの糞中における累積排泄率は 11.1%であった。また、尿中の累積排泄率は微生物学的定量法で 5.1%、HPLC 法で 4.9%であった。

表.8 糞尿別平均累積排泄率 (%) (微生物学定量法) n=5

試料	投与量 (mg(力価)/kg 体重)	経過時間 (時間)			
		4	8	12	24
尿	10	2.5	3.8	4.4	5.1
糞		3.7	8.0	9.5	11.1

表.9 尿中の累積排泄率 (%) (HPLC 法) n=5

試料	投与量 (mg(力価)/kg 体重)	経過時間 (時間)			
		4	8	12	24
尿	10	2.8	4.1	4.4	4.9

## 2. 残留試験

### (1) 残留試験 (豚) ① (参照 11)

LWD 種豚 (58~64 日齢、雌、18 頭/群) にミロサマイシン 5 及び 10 mg (力価) /kg を 1 日 1 回、3 日間筋肉内投与し、最終投与 15、20、23、25、28 及び 30 日後の計 6 時点に血清、筋肉、肝臓、腎臓、小腸、脂肪、最終注射部位筋肉、最終注射部位周囲筋肉中濃度を微生物学的定量法で測定した。いずれの時点においても、各組織のミロサマイシンは検出限界 (0.05 µg (力価) /g) 未満であった。

### (2) 残留試験 (豚) ② (参照 12)

交雑種の豚 (去勢雄、約 2 ヶ月齢) を用いて本製剤の 1 日 1 回 3 日間連続筋肉内投与 (ミロサマイシンとして、0、常用予定量 : 5 mg(力価)/kg 及び 10 mg(力価)/kg、常用最高予定量の 2 倍量 : 20 mg(力価)/kg) 試験が実施された。各投与群の供試豚数はそれぞれ 1、18、18、24 頭であった。被験動物は経時的 (最終投与 5、15、20、25、30、35、60、90 日後) に組織内のミロサマイシンの残留性について *Micrococcus luteus* ATCC9341 を検定菌とする微生物学的定量法により検討された。

本製剤の筋肉内投与における残留期間は、各投与群ともに注射部位筋肉 > 肝臓、腎臓、小腸 > 血清、筋肉、脂肪、注射部位周辺筋肉の順であった。5 mg(力価)/kg 投与群では、最終投与 15 日後に 3 例中 2 例の注射部位筋肉で検出限界 (0.05 µg(力価)/g) をわずかに上回って (0.05 及び 0.07 µg(力価)/g) いたが、最終投与 20 日後には全例が検出限界未満となった。また、10 mg(力価)/kg 投与群及び 20 mg(力価)/kg 投与群ではそれぞれ最

終投与 25 日及び 30 日後に全例が検出限界未満となった。

### (3) 残留試験 (豚) ③ (参照 13)

LWD 系の豚 (去勢雄、2 ヶ月齢) を用いて、本製剤の 1 日 1 回 3 日間連続筋肉内投与 (ミロサマイシンとして、0、常用量 : 5 mg(力価)/kg、2 倍量 : 10 mg(力価)/kg) 試験が実施された。各投与群の供試豚数はそれぞれ 1、15、18 頭であった。経時的 (最終投与 5、15、20、25、28、30 日後) に組織内のミロサマイシンの残留性について (2) と同様の微生物学的定量法で検討された。

本製剤の筋肉内投与における残留期間は 5 mg(力価)/kg 投与群で注射部位周辺筋肉 > 肝臓、腎臓、小腸、注射部位筋肉 > 血清、筋肉、脂肪の順で、10 mg(力価)/kg 投与群では注射部位筋肉 > 肝臓、腎臓、小腸、注射部位周辺筋肉 > 血清、筋肉、脂肪の順であった。5 mg(力価)/kg 投与群では、最終投与 15 日後に 3 例中 1 例 (0.06 µg(力価)/kg) を除く全例が検出限界 (0.05 µg(力価)/g(mL)) 未満となり、この 1 例及び 10 mg(力価)/kg 投与群の全例が最終投与 20 日後に検出限界未満となった。

### (4) はちみつ中の残留試験 (参照 14)

西洋みつばち (ゴールデン種雑種、10 巣箱) にミロサマイシン (0、常用量 : 75 mg (力価) /週/巣箱、2 倍量 : 150 mg (力価) /週/巣箱) を含むペースト状飼料を 7 日間連続投与し、投与前及び投与終了 3、7、10、14 及び 21 日後の 6 時点におけるはちみつ中濃度を微生物学的定量法で測定した。なお、150 mg 投与群では 1 巣箱でのみ最終投与 10 日後に定量限界以上の数値 (0.076 µg (力価) /g) が認められたが、それ以外の検体では投与期間を通じて、いずれの投与群においてもミロサマイシンは検出されなかった (定量限界 : 0.05 µg (力価) /g)。1 巣箱のみミロサマイシンが定量限界以上認められたのは、採蜜量が少なかったことに起因すると考えられた。

また、同じ試験を異なるみつばち (西洋みつばち、ゴールデン種雑種、10 巣箱) で行ったところ、対照群、常用量 (75 mg (力価) /週/巣箱) 投与群及び 2 倍量 (150 mg (力価) /週/巣箱) 投与群のすべての検体において、全試験期間を通じてはちみつ中にミロサマイシンの残留は認められなかった。

## 3. 急性毒性試験 (参照 15)

ddY 系マウス及び Wistar 系ラット (5 週齢、いずれも雌雄各 10 匹/群) にミロサマイシンを経口、皮下及び静脈内投与した。経口投与では投与限界用量でも死亡は認められず、LD<sub>50</sub> は雌雄ともにマウス > 2,500 mg/kg 体重、ラット > 2,000 mg/kg 体重であった。また、マウス及びラットともに LD<sub>50</sub> は静脈内 < 皮下 < 経口投与の順に高くなり、いずれの投与経路でも性差や種差は認められなかった。(表 10)

表 10. ミロサマイシン投与によるマウス及びラットの LD<sub>50</sub>

動物種	投与経路	LD <sub>50</sub> (mg/kg 体重) (95%信頼限界)	
		雄	雌
	経口	>2,500	>2,500

マウス	皮下	596 (554~642)	508 (456~547)
	静脈内	171 (159~185)	196 (184~210)
ラット	経口	>2,000	>2,000
	皮下	527 (499~557)	461 (441~482)
	静脈内	243 (236~251)	250 (243~258)

一般的な臨床症状観察では、マウス及びラットともにほぼ同様の経過を示し、経口投与で異常は認められなかった。皮下投与では投与部位の腫脹、皮下充出血、脱毛、硬結、痂皮形成等がみられ、病理組織学的には好中球浸潤による急性炎症像や肉芽組織形成が認められ、ミロサマイシンは粘膜刺激性を有することが報告されていることから、皮下投与における投与部位の反応はミロサマイシンに起因するものと思われる。死亡例では投与部位の腫脹の他、運動抑制やチアノーゼが認められた。静脈内投与では投与直後に死亡例がみられ、死亡例では運動抑制、呼吸抑制または停止、振戦、痙攣等が認められたが、回復例ではその後異常は認められなかった。なお、ミロサマイシン投与による死因は呼吸抑制、チアノーゼ、更に、呼吸停止の後に心拍の停止がみられることから、呼吸機能麻痺と推定された。

ミロサマイシンの微量成分、分解物及び代謝物についても同様に調べた結果、ミロサマイシンとほぼ等しい毒性発現を示した。

#### 4. 亜急性毒性試験

##### (1) 28日間亜急性毒性試験(ラット)(参照16)

Wistar系ラット(5~6週齢、雌雄各10匹/群)を用いた混餌(0, 3,200, 8,000, 20,000, 50,000 ppm: 雄 0, 273, 721, 1,738, 3,405 mg/kg 体重/日、雌 0, 288, 773, 1,856, 3,611 mg/kg 体重/日)投与における28日間の亜急性毒性試験で認められた毒性所見は以下のとおりであった。また、各群5匹の回復群を別に設けて投与終了後28日間の観察と検査を行なった。

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では、50,000 ppm投与群で雌雄ともに投与6日目から粗毛、後半では削瘦が認められた。いずれも休薬期間中に回復が認められた。

体重変化では、20,000ppm投与群の雄で体重増加抑制が見られ、50,000 ppm投与群の雌雄で投与直後から明らかな体重増加抑制が認められた。また、摂餌量及び摂水量にも低値が認められた。いずれも休薬期間中に回復が認められたが、体重は対照群の水準まで達しなかった。

血液学的検査では、50,000 ppm投与群の雌雄でRBC、Ht、Hb及び血小板数の低値がみられ、更に、雄においてはWBCの低値が認められた。RBC、Ht、Hbの低値は20,000 ppm投与群の雄でもみられた。回復試験では、雄のWBCの減少に有意差が認められたがいずれも標準範囲内の変化であった。

血液生化学的検査では、50,000 ppm投与群の雌雄で総タンパク、アルブミン及びトリグリセライドの低値が、雄では更にグルコースの低値及びT.Cholの高値が認められた。20,000 ppm投与群においてもトリグリセライドの低値が雌雄で、アルブミンの低値が



雄で認められた。また、3,200ppm 以上投与群の雌雄で GOT 及びクレアチニンの低値が認められたが腎臓及び肝臓に関連する変化が認められなかったこと、及びこれらの変化が毒性影響の場合は増加する指標であることから、毒性による影響とは考えなかった。回復群でも、雌雄ともにクレアチニン及びトリグリセライドの低値、雌では GOT の有意な低値が認められたが、いずれも背景データ範囲内の変化であり投与との関連性はないと考えられた。

尿検査では、50,000 ppm 投与群の雌雄で尿量、ナトリウム、カリウム、クロライドの低値、雄で定量試験におけるタンパク質の低値、雌で浸透圧の高値に統計学的な有意差が認められた。20,000ppm 以上投与群の雌雄及び 3,200 ppm 群の一部で観察されたクロライド、ナトリウムあるいはカリウムの変化については、生化学的及び病理学的に腎臓への影響が認められなかったことから腎臓毒性を反映しているものではなく、抗生物質投与による水吸収や粘液等の高分子の分解に関与する腸内細菌叢の変動により、盲腸内に水及び電解質が停滞することに起因する二次的影響と考えられた。また、pH の高値が雄の 3,200 ppm 以上投与群で認められたが、いずれも pH7 から 9 の範囲であり、毒性学的に問題となる変化とは考えられなかった。いずれも休薬期間中に回復が認められた。

臓器重量では、3,200 ppm 以上投与群の雌雄で盲腸の絶対・比重量<sup>2</sup>の用量依存的な高値が、50,000 ppm 投与群の雌雄で肝臓、脾臓及び胸腺の絶対・比重量の低値が認められた。回復群では、3,200 ppm 以上投与群で軽度ながら盲腸重量の高値が認められたが、それ以外は回復が認められた。盲腸の絶対・比重量の高値は、抗菌剤投与による二次的影響であり、毒性影響とは考えられなかった。

病理組織学的検査では、いずれの所見も 50,000 ppm 投与群の雌雄でみられ、休薬群では回復が認められた。脾臓では軽度な萎縮（被膜の蛇行とリンパ濾胞辺縁部のリンパ球数の減少傾向）が認められた。胸腺では軽度な萎縮傾向が、腸間膜リンパ節では傍皮質領域のリンパ球数に減少傾向が、骨髄では軽度な脂肪細胞の増加が認められた。

肝臓及び腎臓の電子顕微鏡学的検査において異常は認められなかった。

本試験の NOAEL は、雌雄とも 8,000ppm（雄：721 mg/kg 体重/日、雌：773 mg/kg 体重/日）と設定された。

## （2）6ヶ月間亜急性毒性試験（ラット）（参照 17）

Wistar 系ラット（5~6 週齢、雌雄各 20 匹/群）を用いた混餌（0、1,280、3,200、8,000、20,000 ppm：雄 0、69、176、436、1,080 mg/kg 体重/日、雌 0、82、207、519、1,280 mg/kg 体重/日）投与における 6ヶ月間の亜急性毒性試験で認められた毒性所見は以下のとおりであった。また、各群 5 匹の回復群を別に設けて投与終了後 2ヶ月間の観察と検査を行なった。

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、摂餌量、摂水量に被験物質投与に起因する異常は認められなかったが、20,000 ppm 投与群の雌雄に体重増加抑制あるいは抑制傾向がみられた。

<sup>2</sup> 体重比重量を比重量という（以下同じ）。

血液学的検査では、20,000 ppm 投与群の雄で WBC の低値が、血液生化学的検査では総タンパクの低値がみられた。

尿検査では、20,000 ppm 投与群の雌雄で尿量の低値、雄ではカリウムの低値及び浸透圧の高値が認められた。3,200 ppm 以上投与群の雄で観察されたナトリウム及びクロライドの低値、雌でみられた浸透圧の高値、8,000 ppm 以上投与群の雌雄でみられた pH の上昇、雌でのカリウムの低値については、生化学及び病理学的に腎臓への影響が認められなかったことから腎臓毒性を反映するものではなく、抗生物質投与による水吸収や粘液等の高分子の分解に関与する腸内細菌叢の変動により、盲腸内に水及び電解質が停滞することに起因する二次的影響と考えられた。回復群では、雌雄いずれも回復がみられた。なお、雌では一部の項目に有意差が認められたが、用量相関性は認められなかった。

臓器重量では、1,280 ppm 以上投与群で用量依存的に盲腸の絶対・比重量の高値が認められた。回復群では雌雄ともに回復あるいは軽減が認められた。20,000 ppm 群の雌雄で脾臓絶対及び比重量の軽度な低下(約 10%)が、同群の雌では腎臓の比重量の軽度な増加(約 5%)が認められた。盲腸の絶対・比重量の高値は、抗菌剤投与による二次的影響であり、毒性影響とは考えられなかった。

病理組織学的検査では、被験物質投与に起因する異常は認められなかった。

本試験の NOAEL は、雌雄とも 8,000 ppm (雄：436 mg/kg 体重/日、雌：519 mg/kg 体重/日) と考えられた。

## 5. 慢性毒性試験及び発がん性試験

慢性毒性試験及び発がん性試験は実施されていない。

## 6. 生殖発生毒性試験

2 世代繁殖試験は実施されていない。

### (1) 胎児の器官形成期投与試験 (ラット) (参照 18)

Wistar 系ラット (12 週齢、雌、25~26 匹/群) を用いた強制経口 (0、40、200、1,000 mg/kg 体重/日) 投与による試験において認められた毒性所見は以下のとおりであった。被験物質の投与は、妊娠 7 日から 17 日までの間 1 日 1 回行い、20 日に妊娠ラットの 2/3 を帝王切開して妊娠末期観察群として胎児 (F<sub>1</sub>) への影響を検査し、残りの 1/3 の妊娠ラットについては自然分娩群として出生児 (F<sub>1</sub>) を離乳まで哺育させた。F<sub>1</sub> 離乳児は雌雄各 1 匹/母体を選抜・飼育し、それぞれ生殖能力確認のための交配を行なうとともに次世代胎児 (F<sub>2</sub>) への影響を検査した。

母動物では被験物質投与による死亡例は認められなかった。一般的な臨床症状観察、体重変化及び剖検所見に異常は認められなかった。摂餌量の有意な低値及び摂水量の有意な高値が妊娠中の 200 mg/kg 体重/日以上投与群にみられ、摂餌量及び摂水量の有意な高値が、哺育中の 1,000 mg/kg 体重/日投与群でみられた。

F<sub>1</sub> 胎児では、200 mg/kg 体重/日以上投与群の雄で有意な体重低値がみられた以外に

影響は認められなかった。F<sub>1</sub> 出生児では、いずれの検査項目にも投与の影響はみられず、生殖能力についても異常は認められなかった。また、F<sub>2</sub> 胎児に投与の影響は認められなかった。

本試験の NOAEL は母動物で 40 mg/kg 体重/日、胎児で 40 mg/kg 体重/日、出生児では 1,000 mg/kg 体重/日と考えられた。催奇形性は認められなかった。

## (2) 催奇形性試験 (ウサギ) (参照 19)

ニュージーランドホワイト種ウサギ (4~5 ヶ月齢、雌、15 匹/群) を用いた強制経口 (0、50、100、200 mg/kg 体重/日) 投与による試験において認められた毒性所見は以下のとおりであった。被験物質の投与は、妊娠 6 日から 18 日まで行ない、妊娠 29 日に帝王切開して胎児を検査した。

母動物の一般的な臨床症状観察、体重変化、剖検所見、病理組織学的所見及び着床所見では、投与による影響は認められなかった。一方、摂餌量では、200 mg/kg 体重/日投与群の 4 例で摂餌が停止し、群平均摂餌量の低値がみられた。

胎児では、200 mg/kg 体重/日投与群で長期間摂餌停止した母動物の胎児に体重低値がみられたが、その他に異常は認められなかった。

本試験における NOAEL は、母動物及び胎児ともに 100 mg/kg 体重/日と考えられた。催奇形性は認められなかった。

## 7. 遺伝毒性試験 (参照 20)

遺伝毒性に関する各種の *in vitro* 及び *in vivo* 試験の結果を表 11,12 にまとめた。

表 11. *in vitro* 試験

試験	対象	用量	結果
Ames 試験	<i>Salmonella typhimurium</i> TA98、TA100、TA1535、 A1537、 <i>Escherichia coli</i> WP2 <i>uvrA</i>	0.1、0.5、1、5、10、 50、100、500 µg/plate(±S9) <sup>1</sup>	陰性
染色体異常試験	チャイニーズ・ハムスター肺由来 Don D-6 細胞	50、100、200、 300 µg/mL (-S9;16hr 及び 32hr)	陽性 <sup>2</sup> (16hr:200、 300 µg/mL) (32hr:200 µg/ mL)
		125、250、500、1,000 µg/mL (+S9;4hr+16hr)	陽性 <sup>3</sup> (500 µg/mL)

1. TA100、TA1535、TA98、TA1537 については 0.1、0.5、1、5、10、50 µg/plate、WP2 *uvrA* については 1、5、10、50、100、500 µg/plate。
2. 32 時間処理の 300 µg/mL では分裂中期像が認められなかった。
3. 1,000 µg/mL では分裂中期像が認められなかった。

表 12. *in vivo* 試験

試験	対象	投与量	結果
小核試験	マウス骨髄細胞	15、30、59、119、238 mg/kg 体重/日を単回腹腔内投与	陰性
小核試験	CD-1 マウス骨髄細胞	2,000 mg/kg 体重/日を 24 時 間間隔で 2 回経口投与	陰性

上記のように、細菌を用いる復帰突然変異試験ではいずれも陰性を示したが、チャイニーズハムスター肺由来 Don D-6 細胞を用いた染色体異常試験では陽性の結果であった。一方、限界用量である 2,000 mg/kg を 2 日間にわたり経口投与した CD-1 マウスを用いた小核試験では陰性の結果であった。また、腹腔内投与の小核試験においても陰性の結果が報告されており、*in vitro* で見られた染色体異常の誘発が生体内で起こる可能性は非常に低いものと考えられた。

従って、ミロサマイシンは生体にとって特段問題となる遺伝毒性はないものと考えられる。

## 8. その他の試験

### (1) 抗原性試験及び皮膚感作性試験 (参照 22)

#### ① 抗原性試験 (モルモット)

Hartley 系モルモット (雄、6 匹/群) を用いた抗原性試験の結果は以下のとおりであった。感作は週 1 回、計 3 回背部皮下注射 (I 群: 1 mg (単独感作)、II 群: 1 mg+FCA<sup>3</sup>、III 群 (陽性対照): BSA 1 mg+FCA により行った。最終感作 10 日後に採血して得られた血清を同種 PCA 反応に使用し、12 日後に ASA 反応の惹起を行なった。

ASA 反応では、ミロサマイシン単独及び FCA 併用感作群ともにアナフィラキシー症状は認められず、同種 PCA 反応では、ミロサマイシン感作血清はいずれも陰性であった。一方、陽性対照である BSA 感作群では典型的なアナフィラキシー反応を示し全例が死亡し、PCA 反応では BSA 特異抗体の産生が認められた。

#### ② 抗原性試験 (マウス)

BALB/c 系マウス (雄、6 匹/群) を用いた抗原性試験の結果は以下のとおりであった。感作は週 1 回、計 3 回腹腔内投与 (I 群: 1 µg/0.5 mL、II 群: 100 µg/0.5 mL、III 群 (陽性対照): OVA 10 µg/0.5 mL、いずれも Alum<sup>4</sup>と混合) により行った。最終感作 10 日後に採血して得られた血清はラット (SD 系、雄) を用いた異種受身皮膚アナフィラキシー (PCA) 反応に使用した。

ミロサマイシン感作血清を用いた PCA 反応は全例陰性であった。一方、陽性対照である OVA 感作血清では特異抗体の産生が認められた。

<sup>3</sup> FREUND'S complete adjuvant: FCA

<sup>4</sup> 水酸化アルミニウムゲル

### ③ 皮膚感作性試験 (Maximization test、モルモット)

Hartley 系モルモット (雄、40 匹/群) を用いた皮膚感作性試験の結果は以下のとおりであった。試験は 2 群構成とし、I 群はミロサマイシン感作群、II 群は DNCB 感作群 (陽性対照) とした。1 次感作は、各群ともに予め剃毛したモルモットの肩甲骨上部皮膚に①溶媒 (85%エタノール) +FCA、②各感作物質溶液 (ミロサマイシン: 1%、DNCB: 0.1%) +溶媒、③各感作物質溶液 (ミロサマイシン: 2%、DNCB: 0.2%) +FCA を左右対称に 0.05 mL ずつ皮内投与して行なった。6 日目に注射部位に 10%ラウリル硫酸ナトリウム含有白色ワセリンを塗布し、24 時間後にワセリンを拭き取り同一部位に各感作物質溶液 (ミロサマイシン: 1%、DNCB: 0.1%) 0.2 mL を閉塞塗布して 2 次感作とした。惹起は、2 次感作 14 日後に、剃毛した右腹側部に段階希釈した各溶液 (ミロサマイシン: 0~1.0%、DNCB: 0~0.1%) 0.1 mL を閉塞塗布し、24 時間後に適用部の紅斑の有無について肉眼的に観察した。

ミロサマイシン感作群では接触アレルギー反応は認められなかった。一方、陽性対照である DNCB 感作群では紅斑及び浮腫を伴う壊死という典型的な接触アレルギー反応が認められた。

## (2) 局所刺激性試験 (Draize 法) (参照 23)

### ① 皮膚に対する一次刺激性試験

日本白色種ウサギ (雄、6 匹) の背部皮膚を剃毛し、A~D の計 4 か所 (A、C: 健常皮膚、B、D: 擦傷皮膚) に分け、ミロサマイシン (0.5 g/0.5 mL) 溶液を各 3 匹の健常皮膚あるいは擦傷皮膚に 24 時間塗布し、塗布部位の刺激性変化 (紅斑、痂皮及び浮腫) の有無について塗布後 7 日間観察するとともに、24 及び 72 時間後の結果から一次刺激性インデックスを算出し、刺激性評価を行なった。また、7 日間の観察後、塗布部位は病理組織学的検査を実施した。対照として、生理食塩液を同様に塗布した。

ミロサマイシンを塗布した健常皮膚では軽度な紅斑、浮腫あるいは痂皮が、擦傷皮膚においても軽度な紅斑及び浮腫が認められた。刺激性インデックスは 3 となり、ミロサマイシンは中程度の刺激物に分類された。病理組織学的検査では、2 例の健常皮膚で真皮層に中程度の炎症性細胞浸潤、表皮層における軽度な出血、結合織の変性、毛嚢の萎縮及び減少、痂皮形成が、擦傷皮膚では 1 例で軽度な細胞浸潤、結合織の変性及び毛嚢の萎縮が認められた。生理食塩液塗布部では異常は認められなかった。

### ② 眼粘膜に対する刺激性試験

日本白色種ウサギ (雄、11 匹) の左眼を処理眼としてミロサマイシン 0.1 g を単回投与し、右眼は無処置対照とした。7 匹を未洗浄群、4 匹を洗浄群 (投与後 20~30 秒、微温水で 1 分間洗浄) とし、結膜、虹彩及び角膜について投与後 24 時間から 7 日まで肉眼的に観察するとともに、肉眼観察の評点をもとに刺激性評価を行なった。また、7 日目観察後、投与部位について病理組織学的検査を実施した。

肉眼的観察では、未洗浄の角膜のほぼ全例で角膜全体に渡る混濁が 24 時間~4 日後まで認められ、うち 4 例では投与後 14 日間残存した。また、1 例では角膜の突出及び血管の増

生が認められた。虹彩では出血が、結膜では発赤、浮腫及び分泌物が7日後以降の観察でも認められた。評点の結果、未洗浄群ではミロサマイシンは中程度～強度の刺激物に分類された。一方、洗浄群では、24時間後の観察において角膜で軽度な混濁が1例でのみ認められ、結膜では発赤、浮腫及び分泌物が半数例にみられたが、3日までには消退した。虹彩に異常はみられなかった。洗浄群では、ミロサマイシンは軽度な刺激物に分類された。病理組織学的検査では、未洗浄群で表層角膜炎及び結膜炎を示す変化が認められ、角膜では上皮の変性及び剥離、固有層の浮腫、血管増生及び細胞浸潤が、結膜では循環障害、浮腫及び細胞浸潤がいずれも軽微～軽度あるいは中程度に認められた。一方、洗浄群では角膜に変化はみられず、結膜でのみ軽度な炎症性変化が認められた。

### 9. 微生物学的影響に関する特殊試験（参照 24）

平成 18 年度食品安全確保総合調査・動物用抗菌性物質の微生物学的影響調査（平成 18 年 9 月～平成 19 年 3 月実施）においてヒト臨床分離株等に対するミロサマイシンの約  $5 \times 10^6$  CFU/spot における MIC が調べられている。結果は、表 13 に示されている。

表.13 ミロサマイシンの各菌種に対する MIC

菌名	株数	最小発育阻止濃度 (µg/mL)	
		Mirosamicin	
		MIC <sub>50</sub>	範囲
通性嫌気性菌			
<i>Escherichia coli</i>	30	32	32~128
<i>Enterococcus species</i>	30	64	2~>128
嫌気性菌			
<i>Bacteroides species</i>	30	16	1~ >128
<i>Fusobacterium species</i>	20	32	16~>128
<i>Bifidobacterium species</i>	30	≤0.06	≤0.06~32
<i>Eubacterium species</i>	20	≤0.06	≤0.06~0.25
<i>Clostridium species</i>	30	>128	1~ >128
<i>Peptococcus species</i> / <i>Peptostreptococcus species</i>	30	8	≤0.06~32
<i>Prevotella species</i>	20	0.12	≤0.06~0.5
<i>Lactobacillus species</i>	30	16	1~32
<i>Propionibacterium species</i>	30	32	16~64

調査された菌種のうち、最も低い MIC<sub>50</sub> が報告されているのは *Bifidobacterium species* 及び *Eubacterium species* で ≤0.06 µg/mL であり、MICcalc<sup>5</sup> は 0.000981 mg/mL であった。

<sup>5</sup> 試験薬に活性のある最も関連のある属の平均 MIC<sub>50</sub> の 90%信頼限界の下限值

### 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

亜急性毒性試験について、ラットを用いた 28 日間及び 6 ヶ月間亜急性毒性試験が実施されており、雌雄ともに体重増加抑制、軽度な貧血および白血球の減少等が観察されたが明らかな臓器毒性を示す所見は認められなかった。最も低い NOAEL は 6 ヶ月間亜急性毒性試験で得られた雄ラットの 436 mg/kg 体重/日であった。

##### (2) 生殖発生毒性試験

2 世代繁殖試験あるいは妊娠前及び妊娠初期、周産期及び授乳期投与試験の知見はない。実施された試験はラットの器官形成期投与試験及びウサギの催奇形性試験であった。これらの試験において母動物及び F<sub>1</sub> 児動物の生殖能に対する影響や催奇形性は認められず、最も低い NOAEL はラット器官形成期投与試験の母動物における摂餌量の低値及び雄胎児における体重低値に基づいた 40 mg/kg 体重/日であった。

##### (3) 遺伝毒性／発がん性試験

遺伝毒性試験については、細菌を用いる復帰突然変異試験ではいずれも陰性を示したが、染色体異常試験では陽性の結果であった。一方、限界用量である 2,000 mg/kg を 2 日間にわたり経口投与した CD-1 マウスを用いた小核試験では陰性の結果であった。また、腹腔内投与の小核試験においても陰性の結果が報告されており、*in vitro* で見られた染色体異常の誘発が生体内で起こる可能性は非常に低いものと考えられた。したがって、ミロサマイシンは生体にとって特段問題となる遺伝毒性はないものと考えられる。

慢性毒性試験及び発がん性試験は実施されていないが、EMEAにより同じ16員環マクロライド系抗生物質であるタイロシンのげっ歯類を用いた発がん性試験は陰性であることが確認されている。また、本剤のラットへの6ヶ月間投与において明らかな細胞障害性及び増殖性を示唆する毒性学的影響は得られていない。

以上のことから、ミロサマイシンが遺伝毒性発がん性物質である可能性は低いと考えられる。

##### (4) 毒性学的影響のエンドポイントについて

ミロサマイシンについては、遺伝毒性発がん性物質ではないことから、ADI の設定は可能であると考えられる。

報告されている限られた毒性試験において、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、ラットの器官形成期投与試験で得られた NOAEL 40 mg/kg 体重/日であった。2 世代繁殖毒性試験は実施されていないが、ラットの器官形成期投与試験において催奇形性は認められておらず、少なくとも母動物及び F<sub>1</sub> 児動物の生殖能には影響は認められていない。

なお、亜急性毒性試験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、ラットの 6 ヶ月間亜急性毒性試験における NOAEL 436 mg/kg 体重/日であり、この値はラットの器官形成期投与試験で得られた NOAEL の 10 倍以上であった。

また、28日間及び6ヶ月間亜急性毒性試験で得られた毒性影響に大きな差はなく、投与期間が延長されたことにより増強された影響は見られず、NOAELにも大きな差はなかった。6ヶ月までの試験で観察された毒性は軽度であり、明らかな臓器毒性は認められなかった。このことから、慢性毒性試験は実施されていないが、亜急性毒性試験以上の毒性影響が認められる可能性は低いと推測される。また、生殖発生毒性試験の知見は限られているが、二つの亜急性毒性試験において生殖器官又は内分泌器官への影響が認められていないことから、生殖能に対して毒性影響を及ぼす可能性は低いと考えられる。

最も低いNOAELは器官形成期投与試験の結果から得られ、ADIを設定するために器官形成期投与試験のNOAEL 40 mg/kg 体重/日を採用するのが適当であると考えられる。

## 2. 微生物学的影響について

微生物学的影響については、VICH ガイドラインに基づく新たに試算を行うに足る詳細な知見が、平成18年度食品安全確保総合調査（動物用抗菌性物質の微生物学的影響調査）から得られており、この結果から微生物学的ADIを算出することができる。

MICcalcに0.000981 mg/mL、細菌が暴露される分画は豚の排泄試験において単回投与後96時間までの投与量に対する尿中の排泄率が15%であったことを根拠に85%、結腸内容物220g、ヒト体重60kgを適用し、VICHの算出式により、

$$\text{ADI (mg/kg 体重/日)} = \frac{0.000981 \text{ (mg/mL)}^{*1} \times 220^{*2}}{(1-0.15)^{*3} \times 60^{*4}} = 0.00423 \text{ mg/kg 体重/日}$$

と算出された。

\*1：試験薬に活性のある最も関連のある属の平均MIC<sub>50</sub>の90%信頼限界の下限值

\*2：結腸内容物(g)

\*3：経口用量として生物学的に利用可能な比率（豚における経口投与試験で投与量に対する尿中の排泄率約15%の知見をもとに推定した。）

\*4：ヒト体重 (kg)

## 3. 一日摂取許容量(ADI)の設定について

ミロサマイシンについては、遺伝毒性発がん性物質ではないと考えられることからADIを設定することが可能である。

毒性学的試験において得られた最も低いNOAELは、ラットにおける胎児の器官形成期投与試験の40 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、データ不足による追加の10の安全係数1,000を考慮し、毒性学的ADIは0.04 mg/kg 体重/日と考えられる。

一方、微生物学的ADIは0.004 mg/kg 体重/日と設定され、毒性学的ADI (0.04 mg/kg 体重/日) よりも低い値であることからADIを設定するにあたっては、0.004 mg/kg 体重/日と設定することが適当と判断された。



#### 4. 食品健康影響評価について

以上より、ミロサ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。

ミロサマイシン 0.004 mg /kg 体重/日

暴露量については、当評価結果を踏まえ暫定基準値の見直しを行う際に確認することとする。

<別紙 1 動物用医薬品の用法・用量>

医薬品	使用対象動物	用法及び用量	使用禁止期間
ミロサマイシンを有効成分とする飼料添加剤	豚	1日量として体重 1kg 当たり 4mg (力価) 以下の量を飼料に混じて経口投与すること。	食用に供するためにと殺する前 7 日間
	鶏 (産卵鶏を除く。)	飼料 1t 当たり 100g (力価) 以下の量を混じて経口投与すること。	食用に供するためにと殺する前 5 日間
	みつばち	7日量としてみつばちの育児箱 1箱当たり 75mg (力価) 以下の量を飼料に混じて 250g としたものを経口投与すること。	食用に供するはちみつ及びその他の生産物の生産前 14 日間
ミロサマイシンを有効成分とする飲水添加剤	豚	1日量として体重 1kg 当たり 4mg (力価) 以下の量を飲水に溶かして経口投与すること。	食用に供するためにと殺する前 7 日間
	鶏 (産卵鶏を除く。)	飲水 1L 当たり 100mg (力価) 以下の量を溶かして経口投与すること。	食用に供するためにと殺する前 7 日間

<別紙2 検査値等の略称>

略称	名称
ADI	一日摂取許容量
ASA	能動的全身性アナフィラキシー (Active systemic analysis anaphylaxis)
AUC	血漿薬物濃度曲線下面積
BSA	牛血清アルブミン (Bovine serum albumin)
C <sub>max</sub>	最高濃度
DNCB	2,4- dinitrochlorobenzene
EMEA	欧州医薬品庁
GOT	グルタミン酸オキサロ酢酸トランスアミナーゼ
Hb	ヘモグロビン (血色素量)
HPLC	高速液体クロマトグラフィー
Ht	ヘマトクリット値
LD <sub>50</sub>	半数致死量
MIC	最小発育阻止濃度
NOAEL	無毒性量
OVA	卵白アルブミン (Ovalbumin)
PCA	受動的皮膚アナフィラキシー (Passive cutaneous anaphylaxis)
RBC	赤血球数
T <sub>1/2</sub>	消失半減期
T.Chol	総コレステロール
VICH	動物用医薬品の承認審査資料の調和に関する国際協力会議
WBC	白血球数

## <参照>

- 1 食品、添加物等の規格基準（昭和 34 年厚生省告示第 370 号）の一部を改正する件（平成 17 年 11 月 29 日付、平成 17 年厚生労働省告示第 499 号）
- 2 川崎三鷹製薬株式会社，ミロサマイシンを有効成分とする豚の注射剤（マイプラビン注 100）の補足資料 5，社内資料
- 3 川崎三鷹製薬株式会社，ミロサマイシンを有効成分とする豚の注射剤（マイプラビン注 100）の補足資料 6，社内資料
- 4 川崎三鷹製薬株式会社，動物用医薬品製造承認申請書 マイプラビン注 100 添付資料 10-2；VI14A の豚における分布試験，社内資料
- 5 川崎三鷹製薬株式会社，動物用医薬品製造承認申請書 マイプラビン注 100 添付資料 10-1；VI14A の豚における吸収及び排泄試験，社内資料
- 6 川崎三鷹製薬株式会社，動物用医薬品の再審査に係わる食品健康影響評価に関する補足資料（みつばち用アピテン）の補足資料 II-11，MRM の豚における生体内代謝試験（HPLC 法），社内資料
- 7 川崎三鷹製薬株式会社，動物用医薬品の再審査に係わる食品健康影響評価に関する補足資料（みつばち用アピテン）の補足資料 II-12，VIG-30L の経口投与における豚の糞尿排泄（分別回収）試験，社内資料
- 8 川崎三鷹製薬株式会社，動物用医薬品の再審査に係わる食品健康影響評価に関する補足資料（みつばち用アピテン）の補足資料 II-4，MCM の鶏における生体内代謝試験（HPLC 法），社内資料
- 9 川崎三鷹製薬株式会社，動物用医薬品の再審査に係わる食品健康影響評価に関する補足資料（みつばち用アピテン）の補足資料 II-5，MCM の経口投与における鶏の糞尿混合物排泄（回収）試験，社内資料
- 10 川崎三鷹製薬株式会社，動物用医薬品の再審査に係わる食品健康影響評価に関する補足資料（みつばち用アピテン）の補足資料 II-7，MCM の経口投与における鶏の糞尿分別排泄（回収）試験，社内資料
- 11 川崎三鷹製薬株式会社，動物用医薬品製造承認申請書 マイプラビン注 100 参考資料 11；VI14A の豚における残留性試験（その 2），社内資料
- 12 川崎三鷹製薬株式会社，動物用医薬品製造承認申請書 マイプラビン注 100 添付資料 13-1；VI14A の豚における残留性試験，社内資料
- 13 川崎三鷹製薬株式会社，動物用医薬品製造承認申請書 マイプラビン注 100 添付資料 13-2；VI14A の豚における残留試験，社内資料
- 14 川崎三鷹製薬株式会社，動物用医薬品製造承認申請書 みつばち用アピテン 添付資料 13；XO14F のみつばちにおけるはちみつ中残留試験（I），社内資料
- 15 川崎三鷹製薬株式会社，動物用医薬品製造承認申請書 マイプラビン注 100 参考資料 3；佐々木眞敬ら，Miporamycin 及びその分解物，代謝物のマウス，ラットにおける急性毒性試験，THE JAPANESE JOURNAL OF ANTIBIOTICS，1989
- 16 川崎三鷹製薬株式会社，動物用医薬品製造承認申請書 マイプラビン注 100 参考資料 4；本山径子ら，Miporamycin のラットにおける 28 日間混餌投与亜急性毒性試験，THE JAPANESE JOURNAL OF ANTIBIOTICS，1989
- 17 川崎三鷹製薬株式会社，動物用医薬品製造承認申請書 マイプラビン注 100 参考資料

- 料 5 ; 本山径子ら, Miporamycin のラットにおける 6 ヶ月間混餌投与慢性毒性試験, THE JAPANESE JOURNAL OF ANTIBIOTICS, 1989
- 18 川崎三鷹製薬株式会社, 動物用医薬品製造承認申請書 マイプラビン注 100 参考資料 6 ; 古橋忠和ら, Miporamycin のラットにおける胎仔の器官形成期投与試験, THE JAPANESE JOURNAL OF ANTIBIOTICS, 1989
- 19 川崎三鷹製薬株式会社, 動物用医薬品製造承認申請書 マイプラビン注 100 参考資料 7 ; 佐々木眞敬ら, Miporamycin のウサギにおける胎仔の器官形成期経口投与試験, THE JAPANESE JOURNAL OF ANTIBIOTICS, 1989
- 20 川崎三鷹製薬株式会社, 動物用医薬品製造承認申請書 マイプラビン注 100 参考資料 8 ; 園明ら, Miporamycin の変異原性試験, THE JAPANESE JOURNAL OF ANTIBIOTICS, 1989
- 21 川崎三鷹製薬株式会社, ミロサマイシンを有効成分とする豚の注射剤 (マイプラビン注 100) の補足資料 4, 社内資料
- 22 川崎三鷹製薬株式会社, 動物用医薬品製造承認申請書 マイプラビン注 100 参考資料 9 ; 中野雄司ら, Miporamycin の抗原性及び皮膚感作性試験, THE JAPANESE JOURNAL OF ANTIBIOTICS, 1989
- 23 川崎三鷹製薬株式会社, 動物用医薬品製造承認申請書 マイプラビン注 100 参考資料 10 ; 小平輝朋ら, Miporamycin の雄性ウサギを用いた局所刺激性試験, THE JAPANESE JOURNAL OF ANTIBIOTICS, 1989
- 24 食品安全委員会, 平成 18 年度食品安全確保総合調査 : 動物用抗菌性物質の微生物学的影響についての調査, 2007