

ピルリマイシン、ピルリマイシンスルホキッドとも、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ッドの 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⁽³³⁾

ヒト腸内細菌(*Bacteroides* spp., *Bifidobacterium* spp., *Clostridium* spp., *Eubacterium* spp., *Fusobacterium 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)^h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 *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。

⑥偽膜性大腸炎のげっ歯類モデルを用いた *in vivo* 試験⁽³⁴⁾

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、*Clostridium 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} ^j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^{(5), (35), (36)}

5 名の健常男性ボランティアについて、4 用量(50, 125, 250, 500mg)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 *Clostridium difficile* 及び *Clostridium difficile* toxin を調べた結果は次のとおりであった。

	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: *Clostridium difficile*、Tox: *Clostridium difficile* toxin

プラセボとピルリマイシンの各用量における *Clostridium 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。

^h *Peptococcus* / *Peptostreptococcus* spp.については 0, 5, 6.7 μ g/mL

ⁱ 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。

^j 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

(7)ヒトにおける知見について

【ヒトにおけるリンコサミドの毒性影響】^{(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*Clostridium 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。

【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。

3. 食品健康影響評価について

【催奇形性について】

催奇形性については、げっ歯類2種及びウサギを用いた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800mg/kg体重/日、1600mg/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^{(19),(20)}。

ウサギを用いた試験においては、5mg/kg体重/日の最高用量で胚致死作用、胎児の骨格変異及び化骨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⁽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。

【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⁽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。

【微生物学的影響について】

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⁽³⁹⁾。また、現在最終段階にある 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⁽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の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⁽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、6 µg/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⁽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⁽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 150mg/日/ヒトであり、300mg/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⁽³⁶⁾。*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, 250mg/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(250mg 投与直前)以降1例ずつで検出されていた⁽³⁶⁾。

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⁽³⁸⁾。*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300mg/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。

【一日摂取許容量(ADI)の設定について】

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1000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。

上記の通り、毒性学的データからはADIは0.01 mg/kg 体重/日と設定される。

一方、微生物学的影響については、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。本試験においては、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NOELを決定することはできない。しかしながら、最低用量の50mg/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、125mgで3/5、250mgで5/5、500mg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らず、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60kg、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0.0083mg/kg 体重/日と設定される。

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⁽⁴¹⁾、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、0.008mg/kg 体重/日と設定することが適当であると考えられる。

【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 0.008mg/kg 体重/日

本評価書中で使用した略号については次にならった

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
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
AUC	血中薬物濃度-時間曲線下面積
BUN	血液尿素窒素
cAMP	サイクリック AMP
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
CPK	クレアチンフォスフォキナーゼ
AST	グルタミン酸オキサロ酢酸トランスアミナーゼ
ALT	グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ
Hb	ヘモグロビン(血色素)
Ht	ヘマトクリット
LOAEL	最小毒性量
LOEL	最小作用量
MCH	平均赤血球血色素量
MCHC	平均赤血球血色素濃度
MCV	平均赤血球容積
MIB	最小殺菌濃度
MIC	最小発育阻止濃度
MLA	マウスリンフォーマ試験
NOAEL	無毒性量
NOEL	無作用量
$T_{1/2}$	消失半減期
TBIL	総ビリルビン
Tcho	総コレステロール
TDI	耐用一日摂取量
TG	トリグリセリド
T_{max}	最高血(漿)中濃度到達時間

<出典>

- (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 2002 bovine mastitis pathogen susceptibility monitoring for ceftiofur, lincomycin/neomycin, penicillin/novobiocin, and pirlimycin (Unpublished study # SR-0794-7922-2003-003);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)