

動物用医薬品・飼料添加物評価書

タイロシン

(第 2 版)

2016年11月

食品安全委員会

目次

	頁
○ 審議の経緯.....	4
○ 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.....	5
○ 食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会専門委員名簿.....	5
○ 要約.....	6
I. 評価対象動物用医薬品及び飼料添加物の概要.....	7
1. 用途.....	7
2. 有効成分の一般名.....	7
3. 化学名.....	7
4. 分子式.....	8
5. 分子量.....	8
6. 構造式.....	8
7. 開発の経緯及び使用状況等.....	8
II. 安全性に係る試験の概要.....	10
1. 薬物動態試験.....	10
(1) 薬物動態試験 (ラット).....	10
(2) 薬物動態試験 (イヌ).....	11
(3) 薬物動態試験 (牛).....	13
(4) 薬物動態試験 (豚).....	16
(5) 薬物動態試験 (鶏).....	19
2. 残留試験.....	21
(1) 残留試験 (牛).....	21
(2) 残留試験 (豚).....	25
(3) 残留試験 (鶏).....	26
(4) 残留試験 (七面鳥).....	28
(5) 残留試験 (はちみつ).....	29
3. 遺伝毒性試験.....	31
4. 急性毒性試験.....	32
5. 亜急性毒性試験.....	33
(1) 6週間亜急性毒性試験 (ラット) (参考資料).....	33
(2) 亜急性毒性試験 (イヌ) (参考資料).....	34
6. 慢性毒性試験.....	34
(1) 1.5年間慢性毒性試験 (マウス).....	34
(2) 1年間慢性毒性試験 (ラット).....	35
(3) 17か月間慢性毒性試験 (ラット).....	35
(4) 2年間慢性毒性試験 (ラット).....	36

(5) 2年間慢性毒性試験（イヌ）	37
7. 慢性毒性/発がん性試験.....	37
(1) 2年間慢性毒性/発がん性試験（ラット）	37
8. 生殖発生毒性試験.....	39
(1) 2世代繁殖毒性試験（マウス）	39
(2) 3世代繁殖毒性試験（ラット）	39
(3) 繁殖毒性試験（ラット）	39
(4) 発生毒性試験（マウス）	40
(5) 発生毒性試験（ラット）	40
9. 対象動物を用いた安全性試験	41
(1) 安全性試験（牛）	41
(2) 安全性試験（豚）	41
(3) 安全性試験（鶏）	41
(4) 安全性試験（ウズラ、カモ、七面鳥）	41
10. その他の試験.....	42
(1) 薬理試験	42
(2) 神経毒性	42
(3) 代謝酵素との相互作用	43
(4) 皮膚及び眼刺激性.....	43
(5) 感作性.....	43
(6) 抗原性.....	44
(7) <i>in vitro</i> ホルモン刺激性.....	44
11. 微生物学的影響に関する試験.....	44
(1) 臨床分離菌に対する最小発育阻止濃度（MIC）①.....	44
(2) 臨床分離菌に対する MIC ②.....	45
(3) 糞便結合試験（ヒト）	46
12. ヒトにおける知見	47
III. 国際機関等の評価.....	48
1. JECFAにおける評価.....	48
2. EMEAにおける評価.....	48
3. FDAにおける評価	49
4. 豪州政府における評価.....	49
IV. 食品健康影響評価.....	50
1. 薬物動態及び残留試験について.....	50
2. 毒性学的影響について.....	50
(1) 遺伝毒性試験について	50
(2) 急性毒性試験について	50
(3) 亜急性毒性試験について	51

(4) 慢性毒性及び慢性毒性/発がん性試験について	51
(5) 生殖発生毒性試験について	51
(6) 毒性学的 ADI について	52
3. 微生物学的影響について	52
(1) タイロシン残留物による微生物学的影響	52
(2) 微生物学 ADI について	52
4. ADI の設定について	53
・ 表 20 JECFA における各種試験の無毒性量の比較	54
・ 表 21 EMEA における各種試験の無毒性量の比較	56
・ 別紙：検査値等略称	58
・ 参照	59

〈審議の経緯〉

第1版関係

- 2005年 11月 29日 暫定基準告示（参照1）
- 2006年 9月 4日 厚生労働大臣から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0904002号）
- 2006年 9月 7日 第158回食品安全委員会（要請事項説明）
- 2006年 10月 6日 第60回動物用医薬品専門調査会
- 2011年 4月 27日 第45回肥料・飼料等専門調査会
- 2012年 6月 21日 第436回食品安全委員会（報告）
- 2012年 6月 21日から7月20日 国民からの御意見・情報の募集
- 2012年 9月 5日 肥料・飼料等専門調査会座長から食品安全委員会委員長へ報告
- 2012年 9月 10日 第446回食品安全委員会（報告）
（同日付けで厚生労働大臣に通知）
- 2014年 3月 10日 残留基準告示（参照71）

第2版関係

- 2016年 11月 14日 厚生労働大臣から残留基準の設定に係る食品健康影響評価について要請
（厚生労働省発生食1114第6号）、関係資料の接受
- 2016年 11月 22日 第630回食品安全委員会（要請事項説明）
- 2016年 11月 29日 第631回食品安全委員会（審議）
（同日付け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

（2009年6月30日まで）

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

（2011年1月6日まで）

小泉 直子（委員長）
見上 彪（委員長代理*）
長尾 拓
野村 一正
畑江 敬子
廣瀬 雅雄

（2012年6月30日まで）

小泉 直子（委員長）
熊谷 進（委員長代理*）
長尾 拓
野村 一正
畑江 敬子
廣瀬 雅雄

（2015年6月30日まで）

熊谷 進（委員長）
佐藤 洋（委員長代理）
山添 康（委員長代理）
三森 国敏（委員長代理）
石井 克枝
上安平 冽子

村田 容常

* : 2009年7月9日から

村田 容常

* : 2011年1月13日から

村田 容常

(2015年7月1日から)

佐藤 洋 (委員長)

山添 康 (委員長代理)

熊谷 進

吉田 緑

石井 克枝

堀口 逸子

村田 容常

〈食品安全委員会動物用医薬品専門調査会専門委員名簿〉

(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

〈食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会専門委員名簿〉

(2011年9月30日まで)

唐木 英明 (座長)

酒井 健夫 (座長代理)

青木 宙 高橋 和彦

秋葉 征夫 館田 一博

池 康嘉 津田 修治

今井 俊夫 戸塚 恭一

江馬 眞 細川 正清

桑形 麻樹子 宮島 敦子

下位 香代子 元井 霞子

高木 篤也 吉田 敏則

(2011年10月1日から)

唐木 英明 (座長)

津田 修治 (座長代理)

青木 宙 館田 一博

秋葉 征夫 戸塚 恭一

池 康嘉 細川 正清

今井 俊夫 宮島 敦子

江馬 眞 山中 典子

桑形 麻樹子 吉田 敏則

下位 香代子

高橋 和彦

要 約

マクロライド系の抗生物質である「タイロシン」について、JECFA レポート、動物用医薬品承認申請時資料等を用いて食品健康影響評価を実施した。今回、インポートトレランス申請に伴い、はちみつの残留試験成績が新たに提出された。

評価に用いた試験成績は、薬物動態試験（ラット、イヌ、牛、豚及び鶏）、残留試験（牛、豚、鶏、七面鳥及びはちみつ）、遺伝毒性試験、急性毒性試験（マウス、ラット、イヌ、鶏及びウズラ）、亜急性毒性試験（ラット及びイヌ）、慢性毒性試験（マウス、ラット及びイヌ）、慢性毒性/発がん性試験（ラット）、生殖発生毒性試験（マウス及びラット）、微生物学的影響に関する試験等の成績である。

タイロシンは、遺伝毒性試験の結果から生体にとって問題となる遺伝毒性はなく、一日摂取許容量（ADI）の設定は可能であると考えられた。また、発がん性はみられなかった。

毒性学的 ADI については、ラットの 1 年間慢性毒性試験における無毒性量（NOAEL） 39 mg/kg 体重/日に、安全係数として 100 を適用し、0.39 mg/kg 体重/日と設定することが適当であると考えられた。

一方、微生物学的 ADI については、VICH の算出式に基づいて 0.005 mg/kg 体重/日と設定された。

この微生物学的 ADI の 0.005 mg/kg 体重/日は、毒性学的 ADI の 0.39 mg/kg 体重/日より小さく、毒性学的な安全性も担保していると考えられることから、タイロシンの ADI を 0.005 mg/kg 体重/日と設定した。

I. 評価対象動物用医薬品及び飼料添加物の概要

1. 用途

抗菌剤（動物用医薬品、飼料添加物）

2. 有効成分の一般名

和名：タイロシン

英名：Tylosin

3. 化学名

タイロシン A

IUPAC

英名：(10E,12E)-(3R,4S,5S,6R,8R,14S,15R)-14-((6-deoxy-2,3-di-O-methyl-D-allopyranosyl)oxymethyl)-5-((3,6-dideoxy-4-O-(2,6-dideoxy-3Cmethyl--L-ribo-esopyranosyl)-3-dimethylamino-D-glucopyranosyl)-oxy)-6formylmethyl-3-hydroxy-4,8,12-trimethyl-9-oxoheptadeca-10,12-dien-15-olide

CAS (1401-69-0)

タイロシン B

IUPAC

英名：2-((4R,5S,6S,7R,9R,11E,13E,15R,16R)-6-((2R,3R,4S,5S,6R)-4-(dimethylamino)-3,5-dihydroxy-6-methyloxan-2-yl)oxy-16-ethyl-4-hydroxy-15-(((2R,3R,4R,5R,6R)-5-hydroxy-3,4-dimethoxy-6-methyloxan-2-yl)oxymethyl)-5,9,13-trimethyl-2,10-dioxo-1-oxacyclohexadeca-11,13-dien-7-yl)acetaldehyde

CAS (11032-98-7)

タイロシン C

IUPAC

英名：2-((4R,5S,7R,9R,11E,13E,16R)-6-((2R,3R,4R,5S,6R)-5-((2S,4R,5S,6S)-4,5-dihydroxy-4,6-dimethyloxan-2-yl)oxy-4-(dimethylamino)-3-hydroxy-6-methyloxan-2-yl)oxy-15-(((2R,3R,4R,5S,6R)-4,5-dihydroxy-3-methoxy-6-methyloxan-2-yl)oxymethyl)-16-ethyl-4-hydroxy-5,9,13-trimethyl-2,10-dioxo-1-oxacyclohexadeca-11,13-dien-7-yl)acetaldehyde

CAS (11049-15-3)

タイロシン D

IUPAC

英名 : (11E,13E)-6-(5-(4,5-dihydroxy-4,6-dimethyloxan-2-yl)oxy-4-(dimethylamino)-3-hydroxy-6-methyloxan-2-yl)oxy-16-ethyl-4-hydroxy-15-((5-hydroxy-3,4-dimethoxy-6-methyloxan-2-yl)oxymethyl)-7-(2-hydroxyethyl)-5,9,13-trimethyl-1-oxacyclohexadeca-11,13-diene-2,10-dione

CAS (1404-48-4)

(参照 2、3)

4. 分子式

タイロシン A : $C_{46}H_{77}NO_{17}$

タイロシン B : $C_{39}H_{65}NO_{14}$

タイロシン C : $C_{45}H_{75}NO_{17}$

タイロシン D : $C_{46}H_{79}NO_{17}$

5. 分子量

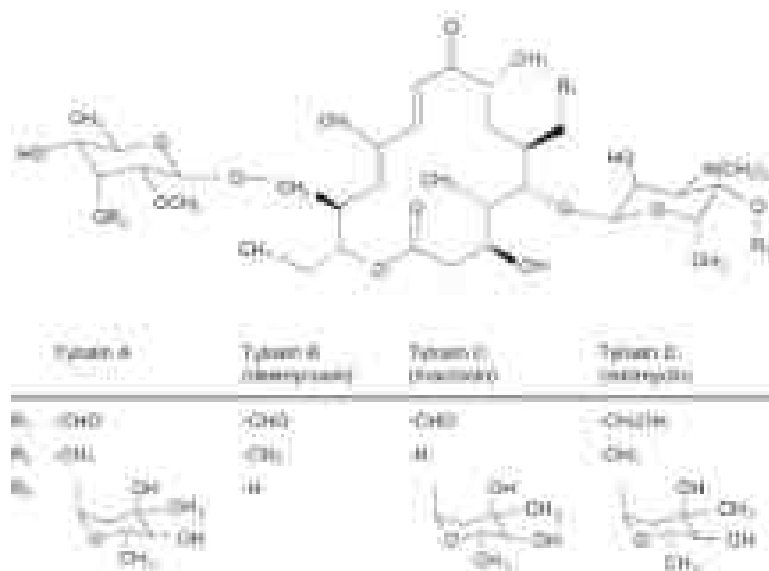
タイロシン A : 916

タイロシン B : 772

タイロシン C : 902

タイロシン D : 918

6. 構造式



7. 開発の経緯及び使用状況等

タイロシンは土壌中の放線菌の一種である *Streptomyces fradiae* の発酵に

より産生される 16 員環のマクロライド系抗生物質で、グラム陽性菌、マイコプラズマ及びある種のグラム陰性菌に対し有効である。タイロシンは他のマクロライド系抗生物質同様、リボソームの 50S サブユニットと結合し、アミノアシル tRNA 及びペプチジル tRNA の転移反応を抑制することによってタンパク質合成を阻害し、菌の増殖を抑制する。(参照 4、5)

タイロシンは、タイロシン A を主成分とし、その他、デスミコシン (タイロシン B)、マクロシン (タイロシン C) 及びレロマイシン (タイロシン D) を少量含有する混合物である。微生物学的活性の大部分はタイロシン A に存在し、タイロシン B、C 及び D 並びにジヒドロデスミコシン (代謝物) の微生物学的活性はタイロシン A のそれぞれ約 83、75、35 及び 31 %であった。

牛、豚、鶏等において、タイロシン塩基並びにそのリン酸塩及び酒石酸塩がタイロシン感受性微生物による感染症の治療に使用される。(参照 2、6、7)

日本では、動物用医薬品として、タイロシン塩基の牛及び豚用注射剤、リン酸塩の豚及び鶏用飼料添加剤並びに酒石酸塩の牛、豚及び鶏用飲水添加剤が承認されている。また、リン酸タイロシンが豚を対象動物とした飼料添加物として指定されている。

海外では、2016年5月現在、EU諸国、米国、アジア諸国等で牛、豚、羊、鶏、七面鳥等を対象とした動物用医薬品が承認されている。また、米国、カナダ及びプエルトリコでは、*Paenibacillus larvae* によるみつばちのアメリカ腐蛆病に対する使用が承認されている。(参照 72)

タイロシンは、ヒト用医薬品としては使用されていない。

今回、厚生労働省から、はちみつに関するインポートトレランス申請に伴う食品健康影響評価の要請がなされた。

II. 安全性に係る試験の概要

本評価書では、JECFAレポート、動物用医薬品承認申請資料、インポートトランス申請資料等を用いてタイロシンの毒性に関する主な知見を整理した。

検査値等略称については別紙に記載した。

1. 薬物動態試験

(1) 薬物動態試験（ラット）

ラット（系統不明、5匹/群）を用いたタイロシン塩基又は酒石酸タイロシンの経口投与（タイロシンとして50 mg/kg体重）試験が実施された。経時的（投与15及び30分、1、2、4、5、7及び24時間後）に血清中のタイロシン濃度をバイオアッセイにより測定した。

投与1～2時間後には低濃度（ $\leq 1.35 \mu\text{g/mL}$ ）が検出されたが、個体差が大きかったため、明確な傾向は認められなかった。血清中のタイロシン濃度は投与5時間後には定量限界（ $0.1 \mu\text{g/mL}$ ）未満に低下した。（参照2、7）

ラット（系統不明、6匹/時点）を用いた ^3H -タイロシンの単回経口投与試験が実施された。投与24時間及び7日後の消化管内、糞及び尿中の放射活性の回収率を調べた。

投与後の消化管内、糞及び尿中の放射活性回収率を表1に示した。

投与24時間後では、放射活性は主に消化管内（17.5～57.7%）及び糞中（0～55.0%）から回収され、尿中には少量（0.3～2.8%）排泄された。

血液、肝臓、腎臓、脂肪及び筋肉中から放射活性は検出されなかった。

投与7日後では、放射活性は主に糞中（36.3～93.9%）から回収され、消化管内（1.1～2.1%）に少量分布し、尿中から少量（1.7～3.6%）排泄された。（参照2、8）

表1 ラットにおける ^3H -タイロシン単回経口投与後の放射活性回収率（%）

試料	投与1日後（24 h）	投与7日後
消化管内	17.5～57.7	1.1～2.1
糞	0～55.0	36.3～93.9
尿	0.3～2.8	1.7～3.6

ラット（系統不明、6匹）に ^3H -タイロシンを非標識タイロシン乳酸塩とともに単回経口投与した結果、投与7時間後までに血中から放射活性は検出されなかった。（参照2、8）

ラット（系統不明、雄、4匹）に非標識タイロシンを3日間経口投与（10

mg/kg 体重/日) した後、続いて同量の ^{14}C -タイロシン¹を 5 日間強制経口投与した。糞及び尿中の排泄量を測定するとともに、最終投与 4 時間後の組織(肝臓、腎臓及び脂肪)中の放射活性を測定した。組織中放射活性は、肝臓で 0.23 mg eq/kg、腎臓で 0.18 mg eq/kg 及び脂肪で 0.08 mg eq/kg であった。約 99 %の放射活性が糞中に、1 %が尿中に排泄された。抽出可能な糞中放射活性の比率は 93 %であった。ラット糞中の抽出可能な残留物の主要成分は、タイロシン D (10 %)、タイロシン A (6 %) 並びにタイロシン C 及びジヒドロデスミコシン (4 %) であった。残りの極性がより高い代謝物は、特定されなかった。(参照 2、7、9)

ラット (Fischer 344 系、雌雄各 4 匹) を用いた ^{14}C -タイロシン²の 4 日間強制経口投与 (10 mg/kg 体重/日) 試験を実施した。尿及び糞を毎日採取し、最終投与 4 時間後の肝臓及び腎臓を採取した。肝臓、尿及び糞は LSC により放射活性を測定し、臓器及び排泄物中の代謝物は ISP/MS により検討した。

排泄された放射活性の約 95 %が糞中に認められた。最終投与 4 時間後の肝臓における平均放射活性は 0.09 mg eq/kg であった。放射活性の分画により肝臓中にタイロシン A 及び D、ジヒドロデスミコシン並びにシスチニルタイロシン A 等の多数の代謝物が存在することが示唆された。糞中の主要代謝物としてタイロシン D (24 %) 及びジヒドロデスミコシン (11 %) が存在した。糞中の微量成分としては、タイロシン A、タイロシン C、タイロシン A のセコ酸、タイロシン D のセコ酸及びデスメチルジヒドロデスミコシンが含まれていた。セコ酸は、マクロライド環におけるラクTONの加水分解生成物である。(参照 2、7、10)

(2) 薬物動態試験 (イヌ)

イヌ (2 匹) を用いたタイロシン塩基の反復経口投与 (カプセル投与:25 及び 100 mg/kg 体重/日) 試験が実施された。投与開始 1、15 及び 29 日目に経時的 (投与 0、1、2、3、4、5、6 及び 7 時間後) に採血し、血清中のタイロシン濃度を測定した。

その結果、血清中 C_{\max} は、25 mg/kg 体重/日投与群で投与 2 時間後 (投与開始 1、15 及び 29 日目でそれぞれ 1.4、2.7 及び 2.7 $\mu\text{g}/\text{mL}$) にみられたのに対し、100 mg/kg 体重/日投与群では投与 2~5 時間後に持続的に高値 (C_{\max} はそれぞれ 2.7、4.6 及び 3.4 $\mu\text{g}/\text{mL}$) がみられた。いずれの場合も C_{\max} に大きな差はみられず、用量依存性はみられなかった (表 2)。(参照 2、7、11)

¹ タイロシンの 16 員ラクTON環を ^{14}C 標識した。

² タイロシンのマクロライド環の 5 位を ^{14}C 標識した。

表 2 イヌにおけるタイロシン反復経口投与後の血清 C_{max} 及び T_{max}

投与量 (mg/kg 体 重/日)	反復投与日数 (日)					
	1		15		29	
	C_{max} ($\mu\text{g/mL}$)	T_{max} (h)	C_{max} ($\mu\text{g/mL}$)	T_{max} (h)	C_{max} ($\mu\text{g/mL}$)	T_{max} (h)
25	1.4	2	2.7	2	2.7	2
100	2.7	4	4.6	4~5	3.4	2

十二指腸フイステルを装着したイヌ (4 匹) を用いたタイロシン塩基の単回十二指腸内投与 (25 mg/kg 体重) 試験が実施された。経時的 (投与 0.25、0.5、1、2、3、4 及び 5 時間後) に採血を行った。また、被験動物のうち 2 匹にはその後同量を単回経口投与し、同様に経時的に採血した。血清及び尿中の抗菌活性をバイオアッセイにより測定した。

十二指腸内投与では投与 0.5~2 時間後に C_{max} (1.77~1.98 $\mu\text{g/mL}$) が認められた後、速やかに減衰した。一方、経口投与では血清中濃度の上昇はほとんどみられなかった。また、投与 5 時間後の尿中回収率は、十二指腸内投与では 7.2 % (4 例の平均値)、経口投与では 2 % (血清中に抗菌活性がみられた 1 例の値) であった。(参照 2、7、11)

イヌ (8 匹/群) を用いたタイロシン塩基の 8 日間経口投与 (カプセル投与 : 1、10 及び 100 mg/kg 体重/日) 試験が実施された。最終投与直前 (前日の投与 24 時間後) 及び最終投与 2 時間後の血中のタイロシン濃度をバイオアッセイにより測定した (検出限界:0.15 $\mu\text{g/mL}$)。

その結果、最終投与 2 時間後には血中濃度の上昇が投与量の増加とともに認められた (各投与量それぞれ検出限界未満~2.15、検出限界未満~2.15、0.198~9.5 $\mu\text{g/mL}$) が、用量依存性はみられず、いずれの投与量でも最終投与直前のトラフ濃度は、検出限界未満又は検出限界付近にまで低下していた。(参照 2、7、11)

イヌ (雄 10 匹、雌 14 匹) を用いた 2 年間慢性毒性試験において、タイロシン塩基の経口投与 (カプセル投与 : 1、10 及び 100 mg/kg 体重/日) 後、経時的 (148、622 及び 723 回の各投与直前 (前日の投与 24 時間後) 及び各投与 2 時間後) に血清中タイロシン濃度をバイオアッセイにより測定した。

それぞれの投与回の前後における血清中濃度を表 3 に示した。

1 mg/kg 体重/日投与群では、いずれの時点においても検出限界 (0.10 $\mu\text{g/mL}$) を超える個体はなかった。10 mg/kg 体重/日投与群では、各投与直前のトラフ濃度はほとんど検出限界未満 (148 回の投与直前に 1 例のみ検出) で、投与 2 時間後には検出限界未満~1.9 $\mu\text{g/mL}$ であった。100 mg/kg 体重/

日投与群では、各投与直前は検出限界未満～0.43 µg/mL、投与 2 時間後は検出限界未満～35 µg/mL であった。血清中タイロシン濃度は、723 回投与後が 148 及び 622 回投与後より低い傾向がみられた。

表 3 イヌにおけるタイロシン反復（長期）経口投与後の血清中濃度（µg/mL）

投与量 (mg/kg 体重/日)	性別	反復投与回数（回）					
		148		622		723	
		投与直前*	投与 2h 後	投与直前	投与 2h 後	投与直前	投与 2h 後
1	雄	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
	雌	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
10	雄	<LOD	<LOD～0.18	<LOD	<LOD～0.95	<LOD	<LOD～0.11
	雌	<LOD～0.11	<LOD～1.9	<LOD	<LOD～0.43	<LOD	<LOD～1.5
100	雄	<LOD	3.5～35	<LOD～0.13	0.13～5.5	<LOD	11～14
	雌	<LOD～0.43	0.25～23	<LOD～0.13	<LOD～27	<LOD	<LOD～14

*：前日の投与 24 時間後 ・<LOD：検出限界（0.10 µg/mL）未満

本試験の追加試験（投与量:200 及び 400 mg/kg 体重/日、573、727 及び 842 回の各投与 2 時間後に測定）では、血清中タイロシン濃度は、8.0～29 µg/mL であった。試験の進行とともに濃度が高くなることはなく、蓄積性は示さなかった。（参照 2、7、12）

（3）薬物動態試験（牛）

新生子牛（5 頭/投与群、2 頭/対照群）に酒石酸タイロシンを代用乳に混じて 4、7 及び 10 日間経口投与（1,000 mg/頭を 1 日 2 回）試験が実施された。投与前及び各日の 1 回目の投与 4 時間後に採血を行った。各投与期間最終日の 1 回目の投与 4 時間後に肺を採取し、血清及び肺中タイロシン濃度をバイオアッセイにより測定した。なお、タイロシンの投与量は平均 48 mg/kg 体重/日であった。

投与期間による血清及び肺中濃度に有意差はみられず、4、7 及び 10 日間投与群で平均血清中濃度はそれぞれ 0.41、0.37 及び 0.42 µg/mL、平均肺中濃度はそれぞれ 1.76、3.16 及び 3.17 µg/g であった。（参照 2、13）

子牛（ホルスタイン種、1～3 週齢、43 頭）を用いたタイロシン塩基の単回筋肉内投与（タイロシンとして 17.6 mg/kg 体重）による 2 回の試験が実施された。

投与 2～48 時間後の血液及び肺を採取し、血清及び肺組織中タイロシン濃度をバイオアッセイにより測定した。

試験 1 では、血清中 C_{max} は投与 2 時間後に約 2.1 µg/mL、肺中 C_{max} は投与 6 時間後に 12.6 µg/g であった。投与 24 時間後の肺組織中濃度は 4.5

μg/mL、肺組織中の AUC は血清中の AUC の約 7 倍であった。

試験 2 では、血清中 C_{max} は投与 2 時間後に 2.3 μg/mL、肺組織中 C_{max} は投与 24 時間後に 15.7 μg/g であった。血清中濃度は投与 48 時間後には 0.1 μg/mL 以下となったが、肺組織中濃度は 2.2 μg/g であった。肺中の AUC は血清中の約 16 倍であった。（参照 2、14）

同じマクロライド系であるエリスロマイシンやジョサマイシンと同様に、タイロシンでは血清中濃度よりも肺組織中濃度が高くなる傾向がみられるとの報告がある。（参照 14）

子牛（ホルスタイン種、1~3 週齢、45 頭）を用いたタイロシン塩基の 1~5 日間筋肉内投与（タイロシンとして 17.6 mg/kg 体重）試験が実施された。最終投与 2、12 及び 36 時間後の血液及び肺を採取し、血清及び肺中タイロシン濃度をバイオアッセイにより測定した。

投与期間の違いにより血清中及び肺中タイロシン濃度に差はみられなかった。（参照 2、14）

子牛（ホルスタイン種、16 頭）を用いたタイロシン塩基の単回筋肉内及び皮下投与（10 mg/kg 体重）試験が実施された。血液を投与 0.5~24 時間後に採取し、血清中タイロシン濃度をバイオアッセイにより測定した。

血清中濃度の上昇、 T_{max} 、その後の減衰は、いずれの投与経路においても類似していた。また、AUC は両者間に差はなかったが、皮下投与の方が投与 3 時間後以降により高い血清中濃度が持続する傾向があった。（参照 2、15）

乳牛（フリージアン種、4 頭）を用いた酒石酸タイロシンの単回静脈内投与（20 mg/kg 体重）試験が実施された。タイロシンの乳汁中濃度は、投与 2 時間後以降血清中濃度以上となり、その後は常に血清中濃度を上回った。

潜在性乳房炎罹患乳牛（ホルスタイン種、4 頭）を用いた酒石酸タイロシンの筋肉内投与（20 mg/kg 体重）試験が実施された。タイロシンは速やかに乳汁中に移行し、投与 30 分後には乳汁及び血清中濃度は平衡化した。乳汁中濃度は投与 1 時間後には血清中濃度を上回り、以後その状態が続いた。健康牛の乳汁中 C_{max} /血清中 C_{max} は約 2.5、乳房炎罹患牛の乳汁中 C_{max} /血清中 C_{max} は 1.6 であった。（参照 2、16）

子牛（ホルスタイン種、約 4 か月齢、2 頭/投与群、1 頭/対照群）を用いた ^{14}C -タイロシン³の 3 日間筋肉内投与（17.6 mg/kg 体重/日）試験が実施された。投与群の尿及び糞は投与前日から毎日採取した。最終投与 4 時間後に、肝臓、腎臓、筋肉、皮膚等の組織及び胆汁を採取し、LSC により排泄物、組織及び胆汁の放射活性を測定した。また、HPLC によりタイロシン A 濃度

³ タイロシンのマクロライド環の 5 位を ^{14}C 標識した。

を、バイオアッセイにより微生物活性を、HPLC 及び HPLC/ISP/MS/LSC により放射活性の代謝物パターンをそれぞれ測定した。

平均総残留量(放射活性)は、肝臓 25.2 mg eq/kg、腎臓 47.8 mg eq/kg、筋肉 2.9 mg eq/kg、脂肪 1.5 mg eq/kg 及び胆汁 77.2 mg eq/L であった。HPLC により分析したタイロシン A の平均残留量は、肝臓 2.6 µg/g、腎臓 6.9 µg/g、筋肉 0.7 µg/g 及び脂肪 0.9 µg/g (組織総残留のそれぞれ 10.5、14.5、24.1 及び 61.8 %) であった。肝臓、腎臓及び筋肉における微生物学的活性は、総残留のそれぞれ 33.3、39.3 及び 34.5 % であった。また、肝臓、腎臓及び筋肉内の微生物学的残留量のそれぞれ 31.0、36.7 及び 70.0 % がタイロシン A であった。

HPLC/ISP/MS/LSC により分析した各組織中のタイロシン A の総残留に占める割合は、肝臓 34 %、腎臓 20 %、筋肉 34 % 及び脂肪 22 % であった。肝臓及び腎臓におけるその他の主要代謝物として、タイロシン D、タイロシン C 及びシスチニルタイロシン A が認められた。

総放射活性の約 1/5 は尿中に、残りは糞中に排泄された。糞中からはタイロシン A、C 及び D 並びにジメチルタイロシン D が、尿中からはシスチニルタイロシン A が主要代謝物として認められた。(参照 2、17)

乳牛 (ホルスタイン種及びガンジー種各 1 頭) を用いて静脈内、筋肉内及び経口投与によるタイロシン及び酒石酸タイロシンの投与試験が実施された (表 4)。経時的 (投与 0、2、4、6、8、24、26、28、30、32 及び 48 時間後) に血液、乳汁及び尿を採取した。なお、各時点の搾乳は完全に実施し、尿もカテーテルで全量採取した。

表 4 乳牛を用いたタイロシン投与試験方法

	投与時点							
	第 1 週	第 2 週	第 3 週	第 4 週	第 5 週	第 6 週	第 7 週	第 8 週
投与経路	静脈内	筋肉内	経口	静脈内	筋肉内	経口	経口	経口
被験物質	タイロシン	タイロシン	タイロシン	酒石酸タイロシン	酒石酸タイロシン	酒石酸タイロシン	タイロシン	酒石酸タイロシン
投与量 (mg/kg 体重)	5	5	5	5	5	5	50	50

・各週単回投与

静脈内及び筋肉内投与では、血中濃度はごく僅かな上昇にとどまったが、乳汁中濃度は 2~8 時間にわたり 1 µg/mL 以上を示し、投与 26~32 時間後まで検出可能であった。経口投与では、血中、尿中及び乳汁中濃度はほとんど上昇しなかった。タイロシン 5 mg/kg 体重/日の経口投与では、血液中及び乳汁中濃度の上昇はみられず、尿中濃度は、いずれも 2 µg/mL 未満であった。タイロシン及び酒石酸タイロシン 50 mg/kg 体重/日の経口投与では、血中濃

度は僅かに上昇したが乳汁中からは検出されず、尿中濃度は、2 例を除き全て 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 未満であった。（参照 2、18）

（4）薬物動態試験（豚）

子豚（各 12 頭/群）を用いたタイロシン塩基の 1～3 日間筋肉内投与（8.8 mg/kg 体重、1 日 2 回）試験が実施された。最終投与後 2、4 及び 12 時間目（各 4 頭）の血中及び肺組織中濃度をバイオアッセイにより測定した。投与 2 時間後の血中濃度は 1.4～1.6 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、肺中濃度は 2.2～6.7 $\mu\text{g}/\text{mL}$ であった。投与 12 時間後でも、血中及び肺組織中濃度は検出限界以上であった。（参照 2、19）

豚（6 頭）を用いたリン酸タイロシンの単回強制経口投与（110 mg/kg 体重）試験が実施された。経時的（投与前、投与 0.5、1、2、3、4、6、8、12 及び 24 時間後）に採血を行い、血清中のタイロシン活性をバイオアッセイにより測定した。

各動物の血清中 C_{max} は投与 0.5～2 時間後にみられ、その後速やかに減衰し、投与 12 時間後に平均 0.23 $\mu\text{g}/\text{mL}$ となり、投与 24 時間後には全例が検出限界未満となった。（参照 2、20）

子豚（30 日齢、5 頭/群）を用いた酒石酸タイロシンの単回静脈内投与又はカテーテルを用いた単回強制胃内投与（タイロシンとして 30 mg （力価）/ kg 体重）のクロスオーバー試験（実験間隔 1 週間）が実施された。経時的（投与 10、20（静脈内投与群のみ）及び 30 分後並びに 1、2、3、4、6、8 及び 24 時間後）に採血を行い、バイオアッセイにより血漿中タイロシン濃度を測定した。

経口投与では、投与 10 分後から血漿中濃度が確認され、平均投与 1.4 時間後に C_{max} （2.4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）を示した。その後減少し、投与 24 時間後では 1/10 例（0.052 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）を除き、血漿中タイロシンは検出されなかった。

また、血漿中濃度曲線から求めた経口及び静脈内投与における AUC はそれぞれ 10.4 及び 46.2 $\mu\text{g}/\text{mL}\cdot\text{h}$ で、AUC の比較による経口投与の生物学的利用率は約 22.5 % と算定された。（参照 2、21）

豚（WL 種、雌雄、6 頭/投与群、1 頭/対照群）にリン酸タイロシンを水に懸濁して胃カテーテルを用いて単回強制胃内投与（タイロシンとして 50 mg/kg 体重）した薬物動態試験が実施された。投与 10 及び 30 分後並びに 1、2、8 及び 24 時間後に組織等（肺、肝臓、脾臓、膵臓、胆汁、副腎、腎臓、心筋、筋肉（背部及び臀部）、大脳、小脳、延髄、脊髄、生殖器、リンパ節、気管、皮膚、皮下脂肪、血清、消化管及び消化管内容物）を採取し、バイオアッセイにより各試料中濃度を測定し、体内分布及び消失について検討し

た。

血清中濃度は、投与 10 分後から認められ、投与 1 時間後には C_{\max} (8.53 $\mu\text{g}/\text{mL}$) を示した。その後、順次減少し、投与 8 時間後には 0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ であったが、投与 24 時間後には検出されなかった。各組織には速やかに分布し、肺、肝臓、脾臓、膵臓、腎臓等の主要臓器では、投与 1 時間後に最高値を示すものが多かった。最も高い濃度は胆汁中 (793.75 $\mu\text{g}/\text{mL}$) で認められた。(参照 2、22)

豚(去勢雄、1 頭)に非標識タイロシンを 2 週間混餌投与 (110 ppm) した後、 ^{14}C -タイロシン⁴を 3 日間混餌投与 (110 ppm) した。糞及び尿を採取するとともに、最終投与 4 時間後に、組織(筋肉、肝臓、腎臓、脂肪、小腸、脳、肺、脾臓、心臓、膵臓及び消化管内容物)の放射活性を LSC により測定した。代謝物については TLC により分析した。

約 99 %の放射活性が糞中に、1 %が尿中に排泄された。抽出可能な糞中放射活性の比率は 85 %であった。豚糞中の抽出可能な残留物の主要成分は、タイロシン D (33 %)、タイロシン A (6 %) 及びジヒドロデスミコシン (8 %) で、少なくとも 10 種類の微量代謝物が存在した。組織中放射活性は、いずれの組織でも低く、比較的高かったのは胆汁及び小腸(それぞれ 9.52 及び 0.25 mg eq/kg) で、肝臓及び腎臓ではそれぞれ 0.18 及び 0.18 mg eq/kg、その他の組織では、いずれも 0.06 mg eq/kg 未満であった。豚の肝臓からは少なくとも 4 種類の代謝物が検出され、活性を有する代謝物のジヒドロデスミコシンがそのうちのひとつとして同定された。その他、極性の高い代謝物も検出された。(参照 2、23)

豚(去勢雄、3 頭)を用いた ^{14}C -タイロシン⁵の 5 日間混餌投与(220 ppm : 約 3.2 mg/kg 体重/日)試験が実施された。最終投与 4 時間後に、組織(肝臓、腎臓、筋肉、肺、脂肪及び皮膚)及び胆汁を採取して LSC により分析した。また、尿及び糞についても分析を行い、排泄経路を調べた。肝臓及び腎臓については、代謝物も検討した。

最終投与 4 時間後の各組織中放射活性を表 5 に示した。組織中放射活性は、肝臓及び腎臓で高値を示した。

⁴ タイロシンのラクトン環を ^{14}C 標識した。

⁵ タイロシンのマクロライド環の 5 位を ^{14}C 標識した。

表 5 豚における ^{14}C -タイロシン 5 日間混餌投与後の各組織中放射活性濃度 (mg eq/kg)

組織	肝臓	腎臓	筋肉	脂肪	肺	皮膚
平均放射活性量	0.45	0.46	0.07	0.05	0.17	0.07

肝臓及び腎臓中のタイロシン A を HPLC で測定した結果、全例が定量限界 (50 $\mu\text{g}/\text{kg}$) 未満であった。肝臓のバイオアッセイでは、75 % 以上が微生物学的活性を有することが示された。HPLC/ISP/MS/LSC による分析では、肝臓及び腎臓では、全放射活性の 70 % 以上が抽出可能であり、それぞれ総残留の 12.3 及び 7.6 % がタイロシン A であった。他にタイロシン D、ジヒドロデスミコシン及びシスチニルタイロシン A (肝臓のみ) が認められた (表 6)。

表 6 豚における ^{14}C -タイロシン 5 日間混餌投与後の肝臓及び腎臓におけるタイロシンの代謝物 (総 ^{14}C 残留に対する成分比) (%)

代謝物	肝臓	腎臓
タイロシン A	12.3	7.6
タイロシン D	10.3	6.1
ジヒドロデスミコシン	5.4	4.1
シスチニルタイロシン A	8.9	—
計	36.9	17.8

— : 検出されず

放射活性は主に糞中に排泄され、糞及び尿中排泄率はそれぞれ約 94 及び 6 % であった。2/3 例では糞中の主要代謝物としてタイロシン D (43 %) 及びジヒドロデスミコシン (44 %) が認められたが、1/3 例の糞中にはタイロシン D のセコ酸 (約 56 %) が主要代謝物として認められ、タイロシン D (約 6 %) が微量代謝物として認められた。(参照 2、6、24)

豚 (雌雄、3 頭/投与群、1 頭/対照群) を用いた ^{14}C -タイロシンの 4 日間混餌投与 (110 ppm : 朝夕 2 回給餌) 試験が実施された。最終投与 4 時間後に、肝臓、腎臓、脂肪及び筋肉を採取し、LSC により各組織中放射活性を測定した。また、肝臓については TLC により代謝物を調べた。

肝臓及び腎臓中放射活性は 0.28 mg eq/kg 未満、筋肉及び脂肪中放射活性は 0.04 mg eq/kg 未満であった。

肝臓中には、微生物学的活性を有するタイロシン A 及びジヒドロデスミコシンを含む 5 又は 6 物質が検出された。(参照 2、25)

前述の試験で、豚の肝臓中から検出されたタイロシン A 及びジヒドロデス

ミコシンは、いずれも抽出可能な総残留の約 5 %であった。

前述の試験で得られた豚の糞から、タイロシン A 及び D 並びにジヒドロデスミコシンが質量分析法により分離された。豚の糞からは、HPLC 及び TLC により、水-クロロホルム抽出の水相から少なくとも 9 種の極性の高い代謝物が分離され、抽出可能な放射活性の 60 %を占めた。また、クロロホルム相からは、タイロシン A 及び D、ジヒドロデスミコシン並びに 4 種以上の微量代謝物が検出された。(参照 2、26)

(5) 薬物動態試験 (鶏)

鶏 (ブロイラー、雄、10~12 週齢、3 羽) を用いた酒石酸タイロシンの挿管による単回強制胃内投与 (50 mg/羽) 試験が実施された。経時的 (投与 30 分、2、8 及び 24 時間後) に採血して、バイオアッセイにより血清中濃度を測定した。

血清中濃度は、投与 30 分後~2 時間後に 0.1 未満~0.23 µg/mL の濃度で認められたが、投与 8 時間後以降には検出されなかった。(参照 2、27)

鶏 (8 週齢、8 羽) に酒石酸タイロシンを試験開始 0、1、2 及び 3 時間後に挿管により 4 回強制そ嚢内投与 (50 mg/羽) 試験が実施された。経時的 (投与前、投与 2、4、6、8 及び 24 時間後) に採血して、バイオアッセイにより血清中濃度を測定した。

血清中には、投与 2 時間後には認められたが、投与 24 時間後には検出されなかった。C_{max} は概ね投与 4 時間後にみられた。(参照 2、28)

鶏 (ブロイラー、雄、5~7 週齢、6 羽/群) に尿及び糞を分離して採取できるよう手術を行い、酒石酸タイロシンの単回筋肉内投与 (25 及び 100 mg/kg 体重) 及び単回経口投与 (25、100 及び 250 mg/kg 体重) 試験が実施された。尿及び糞を経時的 (尿: 投与 2、4、6、8、24、48 及び 72 時間後、糞: 投与 8、24、48 及び 72 時間後) に採取して、バイオアッセイによりタイロシン濃度を測定した。

タイロシンは尿及び糞中に排泄され、その濃度は用量依存的であった。尿中排泄量は投与 2~4 時間後、糞中排泄量は投与 8 時間後で最も多く、その後速やかに減少した。尿及び糞中への総回収率は筋肉内投与で 1.6~43 %、経口投与で 6~76 %であった。(参照 2、29)

鶏 (6 羽/時点/投与群、4 羽/対照群) を用いた ¹⁴C-タイロシンの 3 日間飲水投与 (528 ppm) 試験が実施された。最終投与 0 (6 時間)、2、5 及び 7 日後に、肝臓、腎臓、筋肉、皮膚/脂肪、腹腔脂肪及び胆汁を採取した。排泄物は 7 日後供試群から毎日採取した。採取試料は LSC により放射活性を測定し、HPLC を用いて代謝物を検索した。

組織中の平均総放射活性の分布は、肝臓、腎臓、皮膚/脂肪、腹腔脂肪、筋肉の順に高く、肝臓及び腎臓の組織中濃度は最終投与 5 日後に 0.1 µg eq/g 未満に低下した。筋肉、皮膚/脂肪及び腹腔脂肪では、いずれの時点においても 0.1 µg eq/g 未満であった。

排泄物中の平均総放射活性は、最終投与 0 日後の 797 µg eq/g から最終投与 5 日後には 14 µg eq/g に低下した。最終投与 7 日後の放射活性の排泄率は最低でも投与量の 69 % (本試験は総回収率を求める試験設定ではない。) であった。

肝臓中の代謝物として、タイロシン D のみが LC-ESI/MS/MS により同定されたが、定量はできなかった。痕跡程度の非極性物質も認められ、タイロシン A と推定されたが、定量限界未満であった。

腎臓の代謝物については、放射活性が非常に低かったため特定されなかった。

排泄物中の主要代謝物としてタイロシン A 及びタイロシン D が認められ、微量代謝物には 20-ジヒドロデスミコシン及びタイロシン B が含まれた。(参照 2、30)

産卵鶏 (白色レグホン種、27 週齢、4 羽/時点/投与群、3 羽/対照群) を用いた ¹⁴C-タイロシンの 3 日間飲水投与 (529 ppm) 試験が実施された。最終投与 0(6 時間)、2、5 及び 7 日後に、肝臓、腎臓、筋肉、皮膚/脂肪及び腹腔脂肪を採取した。卵は投与期間中及び投与後、各被験動物をと殺するまでの期間毎日採取した。排泄物は 5 日後供試群から毎日採取した。採取試料は LSC により放射活性を測定した。

組織中の平均総放射活性の分布は肝臓、腎臓、筋肉、皮膚/脂肪、腹腔脂肪の順に高く、肝臓では最終投与 7 日後に、腎臓では最終投与 2 日後に組織中濃度が 0.1 µg eq/g 未満に低下した。筋肉、皮膚/脂肪及び腹腔脂肪では、いずれの時点においても 0.1 µg eq/g 未満であった。最終投与 2 日後までに、筋肉及び腹腔内脂肪の平均総残留は検出限界未満 (それぞれ 9 及び 7 µg eq/kg) となった。

肝臓中の代謝物は LC-ESI/MS/MS により同定された。肝臓に高濃度の残留が認められた 2 例では主要代謝物としてタイロシン A が認められた。肝臓中残留が低濃度であった他の個体及び腎臓に高濃度の残留が認められた 1 例では、タイロシン A 及び D の存在が示唆された。

排泄物中の平均総放射活性は、最終投与 0 日後の 358~937 µg eq/g から最終投与 5 日後には 11 µg eq/g に低下した。最終投与後 7 日の放射活性の排泄率は最低でも投与量の 65 % (本試験は、総回収率を求める試験設定ではない。) であった。

排泄物中の主要代謝物としてタイロシン D が認められ、微量代謝物には、タイロシン A 及びタイロシン D のセコ酸が含まれた。

卵は卵黄及び卵白を分離して分析した。最終投与 0 日後の総放射活性は 2/16 例で 1.6 及び 1.7 $\mu\text{g eq/g}$ と高かったが、残りの 14/16 例では 0.113～0.245 $\mu\text{g eq/g}$ であった。最終投与 0 日後の平均放射活性は 0.362 $\mu\text{g eq/g}$ であった。卵黄及び卵白の平均最高濃度は、最終投与 0 及び 1 日後、全卵の平均最高濃度は最終投与 0 日後に認められ、最終投与 6 日後までには検出限界 (0.02 $\mu\text{g eq/g}$) 未満となった。

卵の代謝物は、LC-ESI/MS/MS により同定された。高濃度の残留が認められた 2 例では主要代謝物としてタイロシン A が認められた。微量代謝物として N-ジメチルタイロシン A、タイロシン D、N-ジメチル-ジヒドロタイロシン A 及び O-ジメチルタイロシン A が認められた。低濃度の残留が認められたその他の卵からはタイロシンは検出されなかった。(参照 2、31)

肉用鶏 (ブロイラー、雌雄各 3 羽/群) を用いてタイロシンの 5 日間飲水投与 (500 ppm : 約 105 mg/kg 体重/日) 試験が実施された。最終投与 0、12、24 及び 48 時間後に組織 (筋肉、肝臓、腎臓及び皮膚/脂肪) 中のタイロシン残留について調べた。採取した試料は HPLC/MS/MS (全組織の定量限界 : 50 $\mu\text{g/kg}$) を用いてタイロシン A を測定した。

肝臓、腎臓、筋肉及び皮膚/脂肪における残留は最終投与直後 (0 時間後) の 100 $\mu\text{g/kg}$ から最終投与 12 及び 24 時間後には 5 $\mu\text{g/kg}$ (検出限界) 又は検出限界未満に低下した。(参照 6)

2. 残留試験

(1) 残留試験 (牛)

① 組織中残留

子牛 (交雑種、雌雄、6 頭/群) に酒石酸タイロシンを 14 日間経口投与 (2 g/頭/日;タイロシンとして約 22 mg/kg 体重、代用乳に混入して 1 日 2 回投与) した。最終投与 0 (6 時間)、5、10 及び 15 日後の組織 (筋肉、脂肪、肝臓及び腎臓) 中残留濃度を HPLC により測定した。

各組織の平均残留濃度は、最終投与 6 時間後では、筋肉、脂肪、肝臓及び腎臓でそれぞれ 0.12、0.30、2.21 及び 2.46 $\mu\text{g/g}$ であったが、最終投与 5 日後には、肝臓の 2 例 (0.07 及び 0.11 $\mu\text{g/g}$) 及び腎臓の 1 例 (0.06 $\mu\text{g/g}$) に残留が認められるのみであった。最終投与 5 日後の他の組織では、全例が定量限界 (0.05 $\mu\text{g/g}$) 又は検出限界 (0.02 $\mu\text{g/g}$) 未満であった。最終投与 10 日後以降は、最終投与 10 日後の肝臓 1 例及び最終投与 15 日後の筋肉 1 例で定量限界未満の残留が認められたのみで、他は全て検出限界未満となった (表 7)。(参照 2、32)

表 7 子牛における酒石酸タイロシン 14 日間経口投与後の平均組織中残留濃度 (µg/g)

組織	最終投与後時間 (日)			
	0(6 時間)	5	10	15
筋肉	0.12	<LOD	<LOD	<LOD(5/6)、 <LOQ(1/6)
脂肪	0.30	<LOD(4/6)、 <LOQ(2/6)	<LOD	<LOD
肝臓	2.21	<LOQ(4/6)、 0.07、0.11	<LOD(5/6)、 <LOQ(1/6)	<LOD
腎臓	2.46	<LOQ(5/6)、 0.06	<LOD	<LOD

・被験物質は代用乳に混じて投与

・LOQ：定量限界 0.05 µg/g ・LOD：検出限界 0.02 µg/g

・n=6 ()内は例数

子牛（交雑種、生後 10 日未満、雌雄、3～4 頭/群）に酒石酸タイロシンを 14 日間経口投与（2 g/頭/日、タイロシンとして 22.2～27.8 mg/kg 体重、代用乳に混入して 1 日 2 回投与）して残留試験が実施された。最終投与 0（1 時間以内）、1、3、5、7、9 及び 12 日後の組織（肝臓、腎臓及び筋肉）中残留濃度をバイオアッセイにより測定した。

タイロシンの残留は、最終投与 0 及び 1 日後には各組織において認められたが、筋肉、腎臓及び肝臓では、それぞれ最終投与 3、5 及び 12 日後に検出限界（0.1 µg/g）未満となった（表 8）。（参照 2、33）

表 8 子牛における酒石酸タイロシン 14 日間経口投与後の平均組織中残留濃度 (µg/g)

組織	最終投与後時間 (日)						
	0	1	3	5	7	9	12
腎臓	3.47	3.0	0.63	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
肝臓	7.53	5.47	1.57	<LOD(2/3)、 0.2	<LOD(1/3)、 0.2、0.4	<LOD(2/3)、 0.1	<LOD
筋肉	0.23	0.17	<LOD	<LOD	<LOD		

・被験物質は代用乳に混じて投与

・LOD：検出限界 0.1 µg/g ・n=3～4 ・()内は例数

子牛（交雑種、雌雄各 3 頭/群）を用いたタイロシン塩基の 5 日間筋肉内投与（0 及び 10 mg/kg 体重）試験が実施された。最終投与 0（6 時間後）、3、7、14、21 日後に、筋肉、脂肪、肝臓、腎臓及び注射部位の各組織を採取し、HPLC により分析した。

肝臓及び筋肉における平均残留量は、最終投与 0 日後では、1.96 及び

0.47 µg/g であったが、最終投与 3 日後には 0.17 及び 0.28 µg/g にまで減衰し、それ以降は定量限界 (0.05 µg/g) 未満となった。脂肪中の残留は、最終投与 0 日後にのみ検出された (平均 0.23 µg/g)。

最終投与 0 日後では、いずれの組織からも定量可能なタイロシンが検出されたが、その後速やかに減衰し、最終投与 21 日後には注射部位を除き、検出限界 (0.02 µg/g) 未満となった。最終投与 21 日後の注射部位の残留は、初回投与部位では、5 例が定量限界 (0.05 µg/g) 未満、1 例が 0.18 µg/g であった。(参照 2、34)

子牛 (3 頭/時点、5 頭/対照群) を用いたタイロシン塩基の 5 日間筋肉内投与 (8.9 mg/kg 体重を 1 日 2 回投与) 試験が実施された。最終投与 0、7、10、14、21、28、35、42 及び 49 日後に、肝臓、腎臓及び最終投与の注射部位筋肉における残留濃度をバイオアッセイにより測定した。

各組織における残留は、肝臓では最終投与 21 日後に、腎臓では最終投与 35 日後に、最終投与部位筋肉では最終投与 42 日後に検出限界 (0.2 µg/g) 未満となった。(参照 2、35)

子牛 (3 頭/時点、4 頭/対照群) を用いたタイロシン塩基の 5 日間筋肉内投与 (17.8 mg/kg 体重/日) 試験が実施された。肝臓、腎臓及び最終投与部位筋肉の残留濃度をバイオアッセイにより測定した。

最終投与 21 日後に、肝臓及び腎臓における残留は 0.2 µg/g 未満となり、注射部位筋肉では最終投与 35 日後に 0.2 µg/g 未満となった。(参照 2、36)

泌乳牛 (フリージアン種、4 頭/時点) を用いたタイロシン塩基の 4 日間筋肉内投与 (10 mg/kg 体重/日) 試験が実施された。最終投与 7、14、21、28、35 及び 42 日後にと殺し、肝臓、腎臓、筋肉、乳房、腹腔脂肪及び注射部位筋肉を採取し、HPLC によりタイロシン残留濃度を測定した。

各組織の平均残留濃度を表 9 に示した。

肝臓、腹腔脂肪及び筋肉では、最終投与 7 日後に検出限界 (0.03~0.41 ng/g) 未満となった。腎臓では、最終投与 21 日後に、乳房及び注射部位筋肉では、最終投与 28 日後に検出限界 (0.03~0.41 ng/g) 未満となった。(参照 2、37)

表 9 泌乳牛におけるタイロシン 4 日間筋肉内投与後の平均組織中残留濃度 (ng/g)

	投与後時間 (日)					
	7	14	21	28	35	42
腎臓	73.7	7.76	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
肝臓	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
腹腔内脂肪	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
筋肉	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
注射部位筋肉	1,621	205	30.4	<LOD	<LOD	<LOD
乳房	25.1	0.35	1.02	<LOD	<LOD	<LOD

LOD (検出限界) : 腎臓-0.05 ng/g、肝臓-0.08 ng/g、脂肪-0.06 ng/g、筋肉-0.41 ng/g、乳房-0.03 ng/g

② 乳汁中残留

2 農場の乳牛 (ホルスタイン種 (高泌乳量) 及びエアシャー種 (中泌乳量)、各 6 頭) を用いたリン酸タイロシンの 17 日間混餌投与 (200 mg/頭/日) 試験が実施された。投与期間前から投与期間中 (投与開始前日、投与開始 0 (当日)、1、2、3、4、5、7 及び 17 日後) の乳汁中のタイロシン濃度を HPLC を用いて測定した (定量限界 : 0.05 µg/g)。

その結果、いずれの品種、いずれの時点においても定量可能な残留は認められなかった。(参照 2、38)

泌乳牛 (ホルスタイン種、6 頭/投与群、2 頭/対照群) を用いたタイロシン塩基の 3 日間筋肉内投与 (10 mg/kg 体重/日、朝の搾乳後投与) 試験が実施された。1 日 2 回搾乳し、投与前から最終投与 5 日後までの各搾乳時の乳汁中残留濃度を HPLC を用いて測定した。

乳汁中残留は、最終投与 3 日後 (最終投与後 7 回目搾乳時) まで認められたが、最終投与 4 日後 (最終投与後 8 回目搾乳時) 以降は全例が検出限界 (0.02 µg/g) 未満となった。(参照 2、39)

泌乳牛 (4 頭/投与群、1 頭/対照群) を用いたタイロシン塩基の 3 日間筋肉内投与 (10 mg/kg 体重/日) 試験が実施された。1 日に 2 回搾乳し、投与前から最終投与 60 時間後までの各搾乳時の乳汁中残留濃度をバイオアッセイを用いて測定した。

乳汁中残留は、最終投与 0 時間後には 1.0~2.5 µg/mL の濃度で認められたが急速に減衰し、投与 48 時間後には全例が検出限界 (0.05 µg/mL) 未満となった。(参照 2、40)

(2) 残留試験 (豚)

子豚 (交雑種、約 8 週齢、雌雄各 3 頭/群) を用いたリン酸タイロシンの 28 日間混餌投与 (タイロシンとして 220 ppm) 試験が実施された。最終投与 0 (6 時間)、2 及び 4 日後の組織 (筋肉、皮膚、脂肪、肝臓及び腎臓) 中残留濃度を HPLC を用いて測定した (検出限界: 0.02 µg/g)。

その結果、いずれの時点においても全例でタイロシン残留は検出限界未満であった。(参照 2、41)

豚 (2 頭/投与量/時点) を用いたリン酸タイロシンの混餌投与 (タイロシンとして 100、500 及び 1,000 ppm: 投与期間不明) 試験が実施された。投与直後及び 48 時間後 (100 ppm 投与群は投与直後のみ) に組織 (脂肪、心臓、腎臓、筋肉、肝臓及び皮膚) 中残留濃度をバイオアッセイにより測定した。各組織の検出限界は、0.218~0.350 µg/g であった。

1,000 ppm 投与群では投与直後の肝臓で 0.551 及び 0.564 µg/g の残留がみられたが、投与 48 時間後には検出可能な残留は認められなかった。1,000 ppm 投与群のその他の組織では投与直後でも残留は認められなかった。(参照 2、42)

豚 (交雑種、約 8 週齢、雌雄各 3 頭/群) を用いた酒石酸タイロシンの 10 日間飲水投与 (タイロシンとして 228 ppm) 試験が実施された。最終投与 0 (6 時間)、2 及び 5 日後の組織 (筋肉、皮膚、脂肪、肝臓及び腎臓) 中残留濃度を HPLC により測定した (検出限界: 0.02 µg/g)。

最終投与 0 日後の腎臓 1 例で 0.021 µg/g の残留がみられたのみで、その他は全例が検出限界未満であった。(参照 2、43)

子豚 (約 8 週齢、雌雄各 20 頭) を用いたタイロシン塩基の 5 日間筋肉内投与 (10 mg/kg 体重/日) 試験が実施された。

最終投与 0、3、7 及び 14 日後に、筋肉、皮膚、脂肪、肝臓、腎臓及び注射部位筋肉を採取し、HPLC により残留濃度を測定した。

最終投与 0 日後において、組織中残留は定量限界 (0.05 µg/g) 又は定量限界付近であった。その後、残留は急速に減衰し、最終投与 3 日後には最終投与の注射部位を除く全ての分析組織で定量限界 (0.05 µg/g) 未満となった。最終投与 7 日後には、注射部位を含む全ての組織で検出限界 (0.02 µg/g) 未満まで低下した。(参照 2、44)

豚 (3 頭/時点、3 頭/対照群) を用いたタイロシン塩基の 3 日間筋肉内投与 (17.6 mg/kg 体重/日) 試験が実施された。最終投与 0、2、4、6、8、10 及び 12 日後に、脂肪、腎臓、筋肉、肝臓及び皮膚/脂肪を採取し、バイオアッセイによりタイロシン残留濃度を測定した。

タイロシン残留は、最終投与0日後には全組織で認められたが、最終投与4日後以降全例が検出限界未満となった。(参照2、45)

(3) 残留試験 (鶏)

① 組織中残留

鶏 (ブロイラー、雌雄各 3 羽/群) を用いたリン酸タイロシンの 7 日間混餌投与 (タイロシンとして 962 ppm) 試験が実施された。最終投与 0 (6 時間)、2、5 及び 10 日後に組織 (筋肉、皮膚、脂肪、肝臓及び腎臓) 中残留濃度を HPLC により測定した (定量限界 : 0.05 µg/g、検出限界 : 0.02 µg/g)。

最終投与 0 日後の皮膚 1 例で定量限界未満の残留が検出されたのみで、その他は全例が検出限界未満であった。最終投与 5 日後までの結果から最終投与 10 日後の試料の分析は行わなかった。(参照 2、46)

鶏 (ブロイラー、雌雄各 3 羽/群) を用いた酒石酸タイロシンの 8 日間飲水投与 (タイロシンとして 415 ppm) 試験が実施された。最終投与 0 (6 時間)、1、5 及び 10 日後に組織 (筋肉、皮膚、脂肪、肝臓及び腎臓) 中残留濃度を HPLC により測定した (定量限界 : 0.05 µg/g、検出限界 : 0.02 µg/g)。

最終投与 0 日後の肝臓 1 例で 0.083 ppm の残留が検出され、腎臓では定量限界未満の残留が検出された。また、最終投与 1 日後の皮膚 1 例で定量限界未満の残留が検出された以外は、全例が検出限界未満であった。最終投与 5 日後までの結果から最終投与 10 日後の試料の分析は行わなかった。(参照 2、47)

鶏 (ブロイラー、12 週齢、2 羽/群) を用いた酒石酸タイロシンの 7 日間飲水投与 (1,300 ppm : タイロシンとして平均 124~132 mg/羽/日) 試験が実施された。最終投与 0 (投与直後)、24、48、72、96 及び 168 時間後に、組織 (肝臓、腎臓、心臓、筋胃、脂肪、皮膚及び筋肉) 中残留濃度をバイオアッセイにより測定した。各組織の検出限界は、0.112~0.360 µg/g であった。

最終投与直後 (0 時間後) の腎臓 (0.432 µg/g) 及び肝臓 (1.03 µg/g) にタイロシンの残留が認められたが、最終投与 24 時間後以降は検出されなかった。その他の組織からはいずれの時点においても検出限界未満であった。(参照 2、48)

② 鶏卵中残留

産卵鶏 (25~35 週齢、24 羽) を用いたリン酸タイロシンの 5 日間混餌投与 (タイロシンとして 800 ppm) 試験が実施された。投与前から最終投与 5 日後まで毎日 10 個の卵を無作為に採取し、HPLC により鶏卵中の残留濃度を測定した (定量限界 : 50.15 ng/g、検出限界 : 12.5 ng/g)。

投与開始 5 日の 1 例から 74.93 ng/g の残留が検出されたが、それ以外の

全例で定量限界未満であった。(参照 2、49)

表 10 産卵鶏におけるリン酸タイロシン 5 日間混餌投与中又は投与後の鶏卵中平均残留濃度 (ng/g)

投与前	投与期間 (日)					投与後 (日)				
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
<LOD	<LOD	8.46 (<LOD ~ 25.53)	6.65 (<LOD ~ 46.39)	12.39 (<LOD ~ 35.28)	18.30 (<LOD ~ 74.93)	12.39 (<LOD ~ 35.18)	4.07 (<LOD ~ 23.26)	7.49 (<LOD ~ 31.92)	2.97 (<LOD ~ 16.67)	<LOD

- ・ LOD : 検出限界 12.5 ng/g ・ 定量限界 50.15 ng/g ・ n=10
- ・ 検出限界未満の試料は検出限界の 1/2 量として算定

産卵鶏 (ロードアイランドレッド交雑種、17羽/投与群、3羽/対照群) を用いた酒石酸タイロシンの 3 日間飲水投与 (タイロシンとして 500 ppm : 72.2~75.7 mg/kg 体重/日) 試験が実施された。投与開始日から最終投与 14 日後まで毎日 12 個の卵を無作為に採取し、HPLC により鶏卵中の残留濃度を測定した (定量限界 : 50 ng/g、検出限界 : 10 ng/g)。

投与開始 24 時間後の 2/12 例、投与開始 48 時間後の 2/12 例及び投与開始 72 時間後の 3/12 例に定量限界以上の残留が認められた。それ以降は最終投与 4 日後に定量限界値となった 2/12 例を除き全例が定量限界未満となり、そのほとんどが検出限界未満であった。(参照 2、50)

鶏 (イサブラウン種、7~18 か月齢、8羽/群) を用いた酒石酸タイロシンの 5 日間飲水投与 (500 及び 1,000 ppm) 試験が実施された。鶏卵中の残留濃度をバイオアッセイにより測定した。

残留は卵黄の方が卵白より長期間認められた。

全卵中の残留は、1,000 ppm 投与群で最終投与 1 日後に最高値 (0.37 µg/g) に達した後低下し、最終投与 4 日後には 0.08 µg/g、最終投与 5 日後には検出限界未満となった。(参照 2、51)

産卵鶏 (22羽) を用いたタイロシン製剤の 5 日間飲水投与 (タイロシンとして 500 ppm : 87~97 mg/kg 体重/日) 試験が実施された。卵を毎日採取し、HPLC によりタイロシン A を測定した。

全卵中平均タイロシン A 濃度は、試験期間を通じて定量限界未満 (50 µg/kg) であった。検出されたタイロシン A の最高濃度は 117 µg/kg で、投与開始 2 日後の卵でみられたが、投与開始 6 日後には全例が定量限界未満となった。(参照 6)

(参考データ)

産卵鶏（10羽/群）を用いた酒石酸タイロシンの7日間飲水投与（1,300 ppm）、単回皮下投与（頸部に投与：25 mg/kg 体重）及び単回強制経口投与（そ嚢内投与：100 mg/kg 体重）試験が実施された。最終投与後24時間毎に採卵（4個/群）し、鶏卵中残留濃度をバイオアッセイにより測定した（検出限界：0.141 µg/g）。

各投与経路における経時的な鶏卵中残留濃度を表11に示した。

飲水投与群では、鶏卵中残留は投与開始4日に高値（0.712 µg/g）を示し、投与開始6日に検出限界値に低下し、最終投与1日後に最高値（0.804 µg/g）となった後、最終投与5日後には検出限界未満となった。

皮下投与群では、投与2日後に最高値（0.282 µg/g）を示した後、投与6日後には検出限界値となった。

強制経口投与群では、投与2日後に最高値（4.794 µg/g）を示した後、投与6日後には検出限界値となった。（参照2、52）

表11 産卵鶏における酒石酸タイロシン飲水投与、皮下投与又は強制経口投与（そ嚢内投与）の投与中又は投与後の鶏卵中残留濃度（µg/g）

投与経路	投与開始後時間（日）											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
飲水*1	LOD*4	0.360	0.494	0.712	0.609	LOD	0.420	0.804	0.508	0.353	LOD	<LOD
皮下*2	LOD	0.282	LOD	0.247	0.155	LOD	LOD					
そ嚢内*3	LOD	4.794	0.353	0.240	0.522	LOD	LOD					

・*1：投与量-1,300 ppm 7日間投与 ・*2：投与量-25mg/kg 体重 単回投与

・*3：投与量-100 mg/kg 体重 単回投与 ・*4：検出限界；0.141 ppm

・n=10

(4) 残留試験（七面鳥）

七面鳥（ニコラス種、雌雄各5羽/群）を用いた酒石酸タイロシンの8日間飲水投与（タイロシンとして500 ppm）試験が実施された。最終投与0（6時間）、1、5及び10日後に組織（筋肉、皮膚、脂肪、肝臓及び腎臓）中残留濃度をHPLCにより測定した（定量限界：0.05 µg/g、検出限界：0.02 µg/g）。

最終投与0日後の脂肪及び皮膚でそれぞれ0.0639及び0.0641 µg/gの残留が検出された以外、全例で定量限界未満であった。また、最終投与1日後以降の全例が検出限界未満であった。（参照2、53）

七面鳥（Broad Breasted Bronze種、6か月齢、3羽/群）を用いた酒石酸タイロシンの7日間飲水投与（1,300 ppm）試験が実施された。最終投与0（投与直後）、24、48、72及び96時間後に組織（皮膚、肝臓、脂肪、腎臓、心臓、筋胃及び筋肉）中残留濃度をバイオアッセイにより測定した。各組織の検出限界は0.154～0.360 µg/gであった。

最終投与直後（0 時間後）に、肝臓、皮膚及び脂肪に抗菌活性が認められた。皮膚で最終投与 96 時間後まで僅かな抗菌活性が検出されたが、肝臓及び脂肪では最終投与 24 時間後には検出されなかった。他の組織からは最終投与直後から全く検出されなかった。（参照 2、54）

（5）残留試験（はちみつ）

みつばち（西洋みつばち、4 コロニー⁶/群）に、酒石酸タイロシンを巣箱の上から 3 回散布投与（タイロシンとして 200 又は 1,000 mg/20 g 混合物(粉砂糖との混合)、1 回/週(タイロシンとして総計 600 又は 3,000 mg)）した。余剰蜜（surplus honey）⁷及び巣蜜（brood honey）⁸を最終投与後 1、2 及び 3 週後に、また、余剰蜜は投与 2 と 3 回目の間にも採取し、バイオアッセイによってタイロシン濃度を測定した（定量限界不明）。なお、投与は春（2 月下旬から 3 月上旬）に実施した。

結果を表 12 に示した。

余剰蜜及び巣蜜ともに、経時的に残留濃度は減少した。（参照 72、73）

表 12 みつばちにおける酒石酸タイロシン 3 回散布投与後のはちみつ中残留濃度 (µg/g)

試料	投与群 (mg/20 g 混合物)	試料採取時期			
		投与期間中 ^a	最終投与後日数(日)		
			7	14	21
余剰蜜	0	0.05	0.00	0.00	0.05
	200	1.31	0.39	0.33	0.16
	1,000	8.73	3.57	2.46	1.61
巣蜜	0	—	0.12	0.00	0.00
	200	—	1.45	0.47	0.40
	1,000	—	5.55	4.52	1.98

—：採取せず

a：投与 2 回目と 3 回目の間

みつばち（種不明、5 コロニー⁹/群）に、タイロシン製剤¹⁰を混餌投与（タイロシンとして 200 又は 400 mg/kg 混合物(砂糖との混合)¹¹）した。投与物を完全に摂取¹²して 1 か月後に、はちみつを採取し、LC-MS によってタイロシン A、B、C 及び D 濃度を測定した（検出限界：タイロシン A、C 及び D 2

⁶ コロニー当たり働きばち約 4,000 匹を含む。

⁷ 女王ばち等がいる巣箱の上に重ねた箱に貯蔵されたはちみつ。

⁸ 女王ばち及び幼虫が収容される箱のはちみつ。

⁹ 参照 74 では、「beehive」と記載されている。コロニー当たりのみつばち数は不明。

¹⁰ 参照 75 では、「tylosin technical product」と記載されており、タイロシン A、B、C 及び D を含んでいる（割合不明）。

¹¹ タイロシンとしての用量と推測される。

¹² みつばちの摂取量は不明である。

ng/g、タイロシン B 3 ng/g)。なお、試験は採蜜期の春に実施した。

結果を表 13 に示した。

はちみつ中タイロシンの総濃度のうち、タイロシン A が 80%以上を占めていた。タイロシン B、C 及び D の合計は、約 15%であった。(参照 72、74)

表 13 みつばちにおけるタイロシン製剤混餌投与後のはちみつ中残留濃度 (ng/g)

投与群 (mg/kg 混合物)	コロニー	各タイロシン濃度				
		A	B	C	D	総計
200	1	1,230	90	<LOD	110	1,430
	2	1,030	100	<LOD	110	1,240
	3	600	70	<LOD	20	690
	4	870	160 ^a	<LOD	30	1,060
	5	4,280	410	70	180	4,940
400	1	1,550	230	10	80	1,870
	2	3,740	310	20	140	4,210
	3	500	70	<LOD	10	580
	4	2,110	330	20	90	2,550
	5	5,730	700	80	210	6,720
0	1~5	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD

LOD：検出限界（タイロシン A、C 及び D 2 ng/g、タイロシン B 3 ng/g)

a：参照 72 及び 74 では「16」と記載されているが、総計の濃度から「160」と判断した。

みつばち（種不明、4 コロニー¹³/群）に、酒石酸タイロシンを次の 2 通りの方法で投与した。一つ目の方法では、粉砂糖 20 g に酒石酸タイロシン（0 又は 300 mg）を混ぜて混餌投与し、二つ目の方法では、花粉パテ 100 g に酒石酸タイロシン（300、900 又は 1,500 mg）を混ぜて混餌投与した。

投与は、秋の採蜜期の終了後（9 月）に 7 日間間隔で 3 回実施した。翌年の夏の採蜜開始の約 1 週間後（7 月(最終投与 294 日後)）にはちみつを採取し、LC-MS/MS によってはちみつ中のタイロシン A 及び B 濃度を測定した（実用的な定量限界(practical quantitation limit)：5 ng/g)。

結果を表 14 に示した。なお、花粉パテ投与による酒石酸タイロシン 300 mg 投与群については、余剰蜜及び巣蜜ともに、タイロシン A 及び B は検出されなかったため、表 14 には記載しなかった。(参照 72、75)

¹³ みつばち成虫が約 30,000 匹のコロニーを用いた。

表 14 みつばちにおける酒石酸タイロシン 3 回混餌投与後のはちみつ中残留濃度 (ng/g)

投与物	投与群 (mg)	はちみつの種類	コロニー	タイロシン濃度	
				A	B
粉砂糖	300	余剰蜜	1	179	150
			2	46	31
			3	32	32
			4	<LOD	<LOD
		巣蜜	1	114	97
			2	62	44
			3	11	10
			4	<LOD	<LOD
花粉パテ	900	余剰蜜	1	29	33
			2	64	48
			3	<LOD	<LOD
			4	<LOD	<LOD
		巣蜜	1	19	22
			2	80	60
			3	16	13
			4	28	24
	1,500	余剰蜜	1	<LOD	<LOD
			2	<LOD	<LOD
			3	23	19
			4	6	7
		巣蜜	1	77	60
			2	23	14
			3	16	13
			4	16	17

LOD : 実用的な定量限界 (5 ng/g)

3. 遺伝毒性試験

タイロシンの遺伝毒性に関する各種の *in vitro* 及び *in vivo* 試験の結果を表 15 にまとめた。

表 15 タイロシンの遺伝毒性試験結果

	試験	対象	用量	結果
<i>in vitro</i>	前進突然変異試験	L5178Y マウスリンパ腫細胞	10~1,000 µg/mL(-S9) 10~750 µg/mL(+S9)	陽性 ¹
		CHO 細胞	100~1,500 µg/mL(+/-S9)	陰性
	染色体異常試験	CHO 細胞	500、750、1,000 µg/mL(-S9) 250、500、750 µg/mL(+S9)	陰性
<i>in vivo</i>	小核試験	マウス骨髄細胞	1,250、2,500、5,000 mg/kg 体重/日 : 2 日間経口投与	陰性

¹ : 850 及び 1,000 µg/mL(-S9)において、突然変異の頻度増加。

CHO 細胞を用いた前進突然変異試験及び染色体異常試験並びにマウス骨髄細胞における小核試験は、いずれも陰性の結果であった。

一方、L5178Y マウスリンパ腫細胞を用いた前進突然変異試験では、代謝酵素非存在下において、突然変異の頻度が、1,000 µg/mL の用量で 2.7~3.8 倍まで、850 µg/mL の用量で 2.7~2.8 倍まで増加した。これらの用量は代謝酵素存在下の試験でも細胞毒性がみられる用量であり、1,000 及び 850 µg/mL の用量における平均生存率はそれぞれ 13 及び 25 %であった。本用量においては、細胞の生存率が低下していたため、本試験における変異原性の陽性結果は信頼性が低いと考えられた。

また、CHO 細胞を用いた前進突然変異試験では、マウスリンパ腫細胞を用いた前進突然変異試験と同様に用量依存的な細胞毒性を示したものの、突然変異の頻度の増加は観察されなかった。

以上のことから、タイロシンが、遺伝子を損傷する可能性は低く、生体にとって問題となる遺伝毒性はないと考えられた。(参照 2、7、55、56)

4. 急性毒性試験

経口投与による急性毒性試験の結果を表 16 に示した。(参照 2、7、57、58)

表 16 タイロシンの経口投与による LD₅₀

被験物質	動物種	投与量 (mg/kg 体重)	LD ₅₀ (mg/kg 体重)
リン酸タイロシン	マウス	4,000~6,200	>6,200
リン酸タイロシン	ラット	4,000~6,200	>6,200
タイロシン塩基	マウス	2,500~3,650	>3,650
タイロシン塩基	マウス	5,000	>5,000
タイロシン塩基	ラット	5,000	>5,000
タイロシン塩基	イヌ	10~800	>800
酒石酸タイロシン	マウス	4,000~6,200	>6,200
酒石酸タイロシン	マウス	2,500~5,000	>5,000
酒石酸タイロシン	マウス	4,500~5,600	>5,600
酒石酸タイロシン	ラット	4,000~6,200	>6,200

マウスを用いたタイロシン B の急性毒性試験において、経口、皮下及び腹腔内の各投与経路におけるタイロシン B の LD₅₀ は、それぞれ 5,000 超、1,593 及び 483 mg/kg 体重であった。酒石酸タイロシン B では、それぞれの投与経路における LD₅₀ は、5,000 超、1,706 及び 323 mg/kg 体重であった。(参照 7)

鶏（ブロイラー、雄、10羽/群）を用いたリン酸タイロシンの単回経口及び皮下投与では、LD₅₀がそれぞれ3,765及び501 mg/kg体重であった。（参照7）

ウズラ（コリンウズラ種、雌雄各5羽/群）にタイロシンを単回経口投与（0、1,000及び2,000 mg/kg体重）した試験では、死亡はみられなかったが、投与群で一過性の下痢が発現した。（参照7）

5. 亜急性毒性試験

（1）6週間亜急性毒性試験（ラット）（参考資料）

ラット（Wistar系、雌雄各6匹/群（雄：29日齢、雌：28日齢））を用いたタイロシン塩基の6週間強制経口投与（0、0.005、0.2、10及び200 mg/kg体重/日）による亜急性毒性試験が実施された。

一般状態では、200 mg/kg体重/日投与群の大部分において下痢がみられた。体重、摂餌量並びに膣開口日及び包皮分離日に投与の影響はみられなかった。

血液学的検査では、試験終了時に軽度の血小板容積の増加、WBC及び単球の減少が全投与群でみられたが、いずれも僅かな変化であった。

血液生化学的検査では、200 mg/kg体重/日投与群の雌で血清ALT及び血清T.Bilが増加した。0.2 mg/kg体重/日以上投与群の雄でIgG及びIgMが減少し、雌でLDHが減少した。各種ホルモン値は、0.2 mg/kg体重/日以上投与群の雌でFSH及びプロラクチンが減少した。10 mg/kg体重/日以上投与群の雄では、テストステロンが増加した。0.2 mg/kg体重/日以上投与群の雄では、プロラクチン及び黄体形成ホルモンが減少した。甲状腺ホルモンに変化はなかった。

剖検で、0.2 mg/kg体重/日以上投与群で盲腸の腫大がみられたが、臓器重量に毒性学的な意義のある変化はみられなかった。食品安全委員会はこの盲腸の腫大については、抗菌性物質の投与による腸内細菌叢の変動に伴う変化であり、げっ歯類の盲腸の特異性を考慮すると、毒性学的意義に乏しい変化と判断した。

投与群において、精子数の減少がみられたが、用量依存性はなかった。精子の運動性は200 mg/kg体重/日投与群で増大した。

下垂体から分離されたmRNAは遺伝子発現解析に使用された。雌では細胞増殖及び接着に関与する遺伝子の誘導が、雄では代謝、細胞周期の調節及び神経発達に関与する遺伝子の誘導が用量依存的に増加した。しかし、いずれの用量で遺伝子の変化があったかは不明であった。（参照7）

なお、JECFAは本試験ではNOAELの設定を行っていない。食品安全委員会においても、本試験が未発表の文献をもとにしており、詳細が不明なこ

と及び用量の間隔が著しく大きいことから、本試験での NOAEL の設定を行わなかった。

(2) 亜急性毒性試験 (イヌ) (参考資料)

イヌ (雌、2 匹) を用いたタイロシン塩基の 30 日間経口投与 (カプセル投与 : 25 及び 100 mg/kg 体重/日) による亜急性毒性試験が実施された。

血液学的パラメータは正常の範囲内であった。

骨髄は正常で、骨髄における M/E 比 (骨髄前駆細胞/赤血球前駆細胞比) は予期される範囲内であった。

両被験動物ともに血尿及びアルブミン尿を発現した。

剖検及び病理組織学的検査では、両動物において軽度の膀胱炎を示すのみであった。

本試験には対照群が設けられておらず、要約形式の報告のみであった。(参照 2、7、58)

イヌ (雌雄各 1 匹) を用いたタイロシン塩基の 25 日間経口投与 (1 日 2 回カプセル投与 : 25 mg/kg 体重/日) による亜急性毒性試験において認められた所見は以下のとおりであった。

血液学的パラメータ及び骨髄は正常で、M/E 比は予期される範囲内であった。

尿検査では、雄の尿中に微量のアルブミンがみられたが、雌の尿中には認められなかった。

剖検及び病理組織学的検査では変化はみられなかった。

本試験は、対照群が設けられておらず、要約形式の報告のみであった。(参照 7)

6. 慢性毒性試験

(1) 1.5 年間慢性毒性試験 (マウス)

マウス (C57BL/6 系、若齢 (約 2 か月齢) 及び成熟 (約 5 か月齢)) を用いた乳酸タイロシンの 1.5 年間混餌投与 (タイロシンとして 0 (若齢のみ)、1,000、10,000 (若齢のみ) 及び 100,000 ppm) による慢性毒性試験が実施された。一般状態、死亡率、体重、摂餌量の観察・測定、臓器重量測定、剖検及び病理組織学的検査を実施した。

死亡は、100,000 ppm 投与群で投与初期に、特に若齢マウスにみられた。

体重は、投与初期に投与群で高濃度のものほど摂餌量の減少を伴う体重の減少又は増加抑制がみられたが、投与開始 2 週後以降には回復した。

投与初期の死亡率増加は、毒性というよりタイロシンの苦味による摂餌量低下から消瘦したことに起因すると考えられた。

投与開始 1 年又は 1.5 年後に実施された臓器重量、剖検及び病理組織学的検査では、投与に起因する異常はみられなかった。

10,000 ppm 投与群の雄 1/14 例（1 年後）に皮下線維肉腫が、対照群の雌 1/7 例（1.5 年後）に悪性リンパ腫が認められた。これらは、発生が各 1 例ずつであり、かつ本系統に自然発生することが知られている。したがって、皮下線維肉腫についてはタイロシンの投与に起因するものではないと考えられた。（参照 2、59）

（2）1 年間慢性毒性試験（ラット）

離乳ラット（Wistar 系、4～6 週齢、雌雄各 15 匹/群）を用いたタイロシン塩基の 1 年間混餌投与（0、1,000、5,000 及び 10,000 ppm）による慢性毒性試験が実施された。離乳ラットは、[Ⅱ. 8. (3)]の繁殖毒性試験において、交配約 10 週前からその後の試験中を通じて被験物質を投与された親由来のものが使用された。1 日当たりのタイロシン摂取量は、摂餌量から換算すると、投与 1～13 週はそれぞれ 0、68～76、345～391 及び 684～842 mg/kg 体重/日で、投与 14～52 週はそれぞれ 0、39～64、192～283 及び 391～586 mg/kg 体重/日であった。一般状態、死亡率、体重、摂餌量の観察・測定、眼検査、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、臓器重量測定、剖検及び病理組織学的検査を実施した。

投与群では、投与 7～12 か月にやや過敏かつ行動活発であったが、投与に起因する死亡は認められなかった。

体重、摂餌量、眼検査、血液生化学的検査、臓器重量及び剖検では、投与に起因する異常はみられなかった。

血液学的検査でリンパ球数の有意な増加及び好中球数の有意な減少、並びに尿検査で尿 pH の有意な上昇が、5,000 ppm 以上投与群の雌でみられ、いずれも用量相関的であった。

病理組織学的検査で、全投与群の雌で下垂体腫瘍の僅かな増加がみられ、0、1,000、5,000 及び 10,000 ppm 投与群で腺腫がそれぞれ 1、3、4 及び 3 例、がんがそれぞれ 0、0、1 及び 0 例であったが用量相関的ではなかった。

以上から、本試験における NOAEL は、1,000 ppm（39 mg/kg 体重/日）と考えられた。（参照 2、7、60）

（3）17 か月間慢性毒性試験（ラット）

ラット（Harlan、雌雄各 3 匹/群）を用いたタイロシン塩基の 17 か月間混餌投与（0、1,000、3,000 及び 10,000 ppm）による慢性毒性試験が実施された。10,000 ppm 投与群のタイロシン摂取量は約 1 g/kg 体重/日であった。

体重に投与の影響はみられず、血液学的パラメータは正常値の範囲内であった。

剖検及び臓器重量では、卵巣の縮小及び重量の減少がみられた。また、

子宮の肥厚及び重量の増加が、0、1,000、3,000 及び 10,000 ppm 投与群でそれぞれ 1/3、3/3、2/3 及び 2/3 例にみられた。

病理組織学的検査では、10,000 ppm 投与群の雌 2 例に子宮の扁平上皮化生が観察された。

卵巣及び子宮でみられたこれらの変化は加齢に起因するものであると JECFA は推測している。食品安全委員会は、試験自体の信頼性が低いことから、これらの機序について推測することは不可能であると判断した。

本試験は、要約形式の報告のみであった。(参照 2、7、58)

(4) 2 年間慢性毒性試験 (ラット)

ラット (Harlan、雌雄各 25 匹/群) を用いたタイロシン塩基の 2 年間混餌投与 (0、10、100 及び 1,000 ppm) による慢性毒性試験が実施された。

2 年間の生存率は 0、10、100 及び 1,000 ppm 投与群でそれぞれ 30、41、70 及び 51 % であったが、死亡原因は老齢動物に一般的にみられる肺炎によるものが多く、投与に起因するものとは考えられなかった。

体重に投与の影響はみられず、血液学的パラメータは正常値の範囲内であった。

臓器重量、剖検及び病理組織学的検査において投与に起因する変化はみられなかった。

本試験は、要約形式の報告のみであった。(参照 2、7、58)

ラット (Harlan、雌雄各約 30 匹/群) を用いたタイロシン塩基の 2 年間混餌投与 (0、100 及び 10,000 ppm) による慢性毒性試験が実施された。

10,000 ppm 投与群の雌雄において生存率が上昇した (57 %、対照群: 29 %)。

摂餌量及び体重については各群間に差はみられず、血液学的検査、尿検査及び臓器重量に投与に起因する影響はみられなかった。

病理組織学的検査で、10,000 ppm 投与群の雌雄において肝臓の肝細胞脂肪化の僅かな増加が観察された。

本試験における NOAEL は、100 ppm (5 mg/kg 体重/日) と考えられた。(参照 2、7、58)

ラット (Harlan、雌雄各 10 匹/群) を用いたタイロシン塩基の 2 年間混餌投与 (0、20,000、50,000、100,000 及び 200,000 ppm) による慢性毒性試験が実施された。

100,000 ppm 以上投与群で、摂餌量低下を伴う体重増加抑制がみられた。

200,000 ppm 投与群では、投与開始 12 か月以内に全例が死亡し、低栄養及びリンパ器官の萎縮/壊死を呈した。

血液学的検査では、投与に起因する変化はみられなかった。

本試験は、要約形式の報告のみであった。(参照 2、7、58)

(5) 2年間慢性毒性試験 (イヌ)

イヌ (ビーグル種及び雑種各 4 匹、計 8 匹/群) を用いたタイロシン塩基の 2 年間経口投与 (0、1、10、100 mg/kg 体重/日 : カプセル投与) による慢性毒性試験が実施された。一般状態の観察、体重測定、血液学的検査、血液生化学的検査及び尿検査が適切な間隔で実施され、全ての動物について骨髄検査、剖検及び病理組織学的検査が行われた。さらに、各群 3 匹の糞便を定期的に採取し、糞便中の微生物の種類及び細菌叢の変化について調べた。

投与に起因する死亡はみられなかった。

病理組織学的検査では、1 mg/kg 体重/日投与群で精子形成低下 (1/8 例) 及び非常に軽度の腎脂肪変性 (2/8 例) がみられ、各投与群に子宮萎縮が 1 例ずつみられた。

また、細菌検査では、大腸菌、ブドウ球菌、好塩性細菌、酵母菌、レンサ球菌、乳酸菌等の糞便中細菌叢に変化はみられなかった。

追加試験として、イヌ (雑種各 4 匹/群) を用いたタイロシン塩基の 2 年間又はそれ以上の期間経口投与 (200、400 mg/kg 体重/日 : カプセル投与) 試験が実施され、同様の検査が行われた。

一般状態では、200 mg/kg 体重/日以上投与群で流涎、不定期の嘔吐がみられた。

剖検及び病理組織学的検査では、200 mg/kg 体重/日投与群で軽度の腎盂腎炎 (1/4 例)、400 mg/kg 体重/日投与群で両側性のネフローゼ、軽度の慢性腎盂腎炎及び軽度の慢性膀胱炎 (1/4 例) がみられた。

以上から、本試験における NOAEL は 100 mg/kg 体重/日と考えられた。(参照 2、12、58)

7. 慢性毒性/発がん性試験

(1) 2年間慢性毒性/発がん性試験 (ラット)

離乳ラット (Wistar 系、雌雄各 40 匹/投与群、雌雄各 60 匹/対照群) を用いたタイロシン塩基の 2 年間混餌投与 (0、1,000、5,000 及び 10,000 ppm) による 2 年間慢性毒性試験が 2 回実施された。離乳ラットは、[II. 8. (3)] の繁殖毒性試験において、交配約 10 週前から離乳を通じて被験物質を投与された親由来のものが使用された。摂餌量から換算すると、投与第 1 週の平均投与量はそれぞれ 0、106、517 及び 1,080 mg/kg 体重/日で、試験最後の週の平均投与量はそれぞれ 0、39、192 及び 402 mg/kg 体重/日であった。

認められた所見は両反復試験で同様であった。

投与群の雄において試験期間の最終 3~6 か月間の生存率がやや高く (5

～10%) だったが、用量依存性はなかった。

5,000 ppm 以上投与群の雌雄で摂餌量が増加し、10,000 ppm 投与群の雄で体重増加促進がみられた。

化膿性壊死性の細菌性肺炎発症率は用量依存的に減少し、0、1,000、5,000 及び 10,000 ppm 投与群でそれぞれ 27、2.5、0 及び 0% であった。

一般状態、血液学的試験、血液生化学的試験、尿検査及び臓器重量に投与に起因する影響はみられなかった。

病理組織学的検査では、雄にのみ良性の下垂体腺腫の発生増加がみられた(表 17)。反復試験 1 の 5,000 ppm 投与群と反復試験 2 の 10,000 ppm 投与群では、試験を実施した研究所における背景データ (1.7～23.3%) を超える発生率であった。

表 17 雄ラットにおける良性下垂体腺腫発生率 (例)

群	投与量 (ppm)			
	0	1,000	5,000	10,000
反復試験 1	1/60	3/40	10/40**	8/40#
反復試験 2	5/60	6/40	8/40	12/40**

*: 背景データより高い発生率

#: $p < 0.01$ (Fisher の直接確率検定、参考のため食品安全委員会で検討したもの)

良性腫瘍については、投与群の雌で発生率減少がみられたが、悪性腫瘍の発生に関しては、雌雄とも投与に起因する影響はみられなかった。

雄ラットにおける良性下垂体腺腫と摂餌量/体重には高い相関関係があるとする報告がある。これらの試験は、この研究所において実施された 4 系統のラットを用いた食餌制限の有無による試験及び Wistar 系ラットを用いた慢性毒性試験 10 試験の比較調査結果を実証している。下垂体腫瘍は高齢のラットに一般的にみられるものであり、その増加はタイロシンそのものの影響というよりタイロシンの摂取により摂餌量が増加し、化膿性壊死性肺炎が有意に減少して生存率が上昇することに伴う二次的な影響であると考えられるとしている。しかし、生存率と投与量に用量依存関係がみられないこと及び対照群に肺炎が多発し試験自体の信頼性が低いことから、食品安全委員会では、明確な結論は得られないと判断した。

本試験における悪性腫瘍の発生に関し、投与に起因する影響はみられず、Harlan ラットを用いた 2 年間慢性毒性試験の結果も考慮し、発がん性はないと考えられた。

(参照 2、7、62)

8. 生殖発生毒性試験

(1) 2世代繁殖毒性試験 (マウス)

マウス (ICR 系、雄 7~8 匹/群、雌 14~17 匹/群) を用いて、1 世代当たり 2 腹、2 世代にわたるタイロシン塩基の混餌投与 (0、1,000、10,000 ppm) による繁殖毒性試験が実施された。投与開始時期はさまざまであったものの、大部分は F₀ 世代の受胎前であった。雌マウスは自然分娩させ、各世代生後 4 週まで児を哺育した。

出産児数、児の成長、離乳児数及び繁殖に有意な影響はみられなかった。

本試験における NOAEL は、本試験における最高用量である 10,000 ppm (1,500 mg/kg 体重/日) と考えられた。(参照 2、7、63)

(2) 3世代繁殖毒性試験 (ラット)

ラット (Harlan、雄 5 匹及び雌 10 匹/群) を用いた繁殖毒性試験がラット (雌雄各 30 匹/群) を用いたタイロシン塩基の 2 年間混餌投与 (0 及び 10,000 ppm) 試験の一部として実施された。投与開始 16 週後に対照及び 10,000 ppm 投与群の雌 10 匹及び雄 5 匹を同一群内で交配させ (雌 2 匹及び雄 1 匹を同居させた)、妊娠した雌は出産、哺育終了後 1 週間の休養期間の後に再び同じ群内の別の雄と再交配させた。この過程を少なくとも 6 回妊娠するまで繰り返した。1 産目の児は廃棄し、2 産目の児、雄 5 匹/群及び雌 10 匹/群を F₁、F₂ 及び F₃ 世代用に選抜して試験を実施した。

成長曲線、児の生存率、受胎及び繁殖指数は全世代における対照及び投与群で同様であった。

本試験における NOAEL は、唯一の用量である 10,000 ppm (500 mg/kg 体重/日) と考えられた。(参照 2、7、58)

(3) 繁殖毒性試験 (ラット)

離乳ラット (Wistar 系、35 匹/対照群、雌雄各 25 匹/投与群) を用いてタイロシン塩基を交配 10 週前から交配後約 6 週間にわたり (計約 5 か月間) 混餌投与 (0、1,000、5,000 及び 10,000 ppm) した試験が実施された。摂餌量から換算すると親動物の 0、1,000、5,000 及び 10,000 ppm 投与群における各投与量はそれぞれ 0、61~70、311~379 及び 635~795 mg/kg 体重/日であった。剖検及び病理組織学的検査は実施されていない。

親動物では、投与に起因する一般状態の変化はみられず、摂餌量及び体重推移はいずれの群も同様であった。血液学的検査では、10,000 ppm 投与群の雄で WBC が有意に減少したが正常値の範囲内であった。血液生化学的検査には投与の影響はみられなかった。

児動物は、[II. 6. (2)] の 1 年間慢性毒性試験及び [II. 7. (1)] の 2 年間慢性毒性/発がん性試験に用いた。

繁殖成績については、親世代の繁殖成績並びに児の成長及び生存率に投与

の影響はみられなかった。

投与約5か月後に親動物から採取した血清からタイロシンは検出されなかった（検出限界：0.1 µg/mL）。

本試験における NOAEL は、最高用量である 10,000 ppm（635 mg/kg 体重/日）と考えられた。（参照 2、7、64）

（4）発生毒性試験（マウス）

マウス（A/Jax 及び CBA 系、雌 10 匹/群）を用いたタイロシン塩基の妊娠 7～12 日における強制経口投与（0、100、500 及び 1,000 mg/kg 体重/日）試験が実施された。別の 2 匹（A/Jax×CBA 交雑種）/群に同様に投与（0 及び 1,000 mg/kg 体重/日）した。これらは妊娠 18 日にと殺し、黄体数、着床数、早期及び後期死亡胎児数、生存胎児数並びに胎児発生について調べた。また、4 匹（A/Jax 系）/群（0 及び 500 mg/kg 体重/日）は同様の投与後出産させ、児を 4 週まで飼育させた。

母動物の体重増加に投与に起因する影響はみられなかった。

胎児の生存率並びに外表、内臓及び骨格の発生に投与の影響はみられなかった。

出生児は 9 週齢まで飼育された。児の成長、生存率、膈開口又は精巣下降に投与に起因する影響はなかった。生後 7 及び 9 週における運動機能は正常で、感覚器系の検査でも変化はみられなかった。生後 9 週における内臓及び骨格検査でも投与に起因する影響はみられなかった。

本試験における NOAEL は、本試験の最高用量である 1,000 mg/kg 体重/日と考えられた。（参照 2、7、65）

（5）発生毒性試験（ラット）

ラット（Wistar 系、10 匹/対照群、15 匹/投与群）を用いたタイロシン塩基の妊娠 0～21 日における混餌投与（0、1,000、10,000 及び 100,000 ppm）試験が実施された。妊娠 20 日にと殺し、胚吸収、生存及び死亡胎児数、性比、外表、内臓並びに骨格異常について調べた。また、別のラット（15 匹/群）の妊娠 0～21 日にタイロシン塩基を混餌投与（0、10,000 及び 100,000 ppm）した後、出産させた。生後 21 日まで出生児数、性比、外表、運動及び感覚機能について観察し、一部の児動物では内臓及び骨格異常について調べた。摂餌量から換算すると 0、1,000、10,000 及び 100,000 ppm 投与群における各投与量はそれぞれ 0、60.5、725 及び 4,800 mg/kg 体重/日であった。

胎児では、投与に起因する生存率に対する影響並びに外表、内臓及び骨格異常はみられなかった。100,000 ppm 投与群では、体重の低値が母動物とともに胎児でみられ、骨化遅延もみられた。

出生児では、100,000 ppm 投与群で体重増加抑制がみられた。離乳児の外表、内臓及び骨格異常検査で異常所見はみられなかった。

以上より、本試験における NOAEL は、10,000 ppm (725 mg/kg 体重/日) と考えられた。(参照 2、7、66)

9. 対象動物を用いた安全性試験

(1) 安全性試験 (牛)

子牛 (雌雄各 3 頭/群) に酒石酸タイロシンを 14 日間代用乳に混じて投与 (0、1 及び 3 g/頭/日) した安全性試験が実施された。

一般状態では、試験期間中、全ての被験動物は良好な健康状態を保持し、両投与群で硬い乾燥した糞が投与第 2 週にみられた以外投与に起因する臨床上の異常はみられなかった。また、投与に起因する体重及び代用乳摂取量への影響はみられなかった。(参照 7)

(2) 安全性試験 (豚)

離乳豚 (約 8 週齢、雌雄各 3 頭/群) を用いた酒石酸タイロシンの 10 日間飲水投与 (0、250 及び 750 ppm) による安全性試験が実施された。

試験期間中、全ての被験動物は良好な健康状態を保持し、体重、摂餌量及び飲水量に投与の影響はみられなかった。(参照 7)

(3) 安全性試験 (鶏)

鶏 (ホワイトロック種、1 日齢、雌雄、10 羽/群) を用いた酒石酸タイロシンの 18 週間混餌投与 (タイロシン塩基で 0、220、550、1,100 及び 3,300 ppm(力価)) による安全性試験が実施された。投与開始 8 週に各群 5 羽を、残りを最終投与後にと殺した。

その結果、体重、飼料効率、血液学的検査、臓器重量及び病理組織学的検査の結果に群間の差はみられなかった。(参照 7)

鶏 (ブロイラー、1 週齢、雌雄各 25 羽/群) を用いた酒石酸タイロシンの 8 日間飲水投与 (0、500 及び 1,500 ppm) による安全性試験が実施された。

試験期間中、全ての被験動物は良好な健康状態を保持し、体重、摂餌量及び飲水量に投与の影響はみられなかった。(参照 7)

(4) 安全性試験 (ウズラ、カモ、七面鳥)

ウズラ (コリンウズラ、初生雛、5~10 羽/群) を用いたタイロシン塩基の 5 日間混餌投与 (0、1,250、2,500 及び 5,000 ppm) による安全性試験が実施された。投与終了後、3 日間通常給餌した。

投与に起因する死亡はみられず、顕著な毒性徴候もみられなかった。摂餌量及び体重ともに投与の影響はなかった。(参照 7)

カモ (マガモ : *Anas platyrhynchos*、幼鳥、10 羽/群) を用いたタイロシ

ン塩基の 5 日間混餌投与（0、1,250、2,500 及び 5,000 ppm）による安全性試験が実施された。投与終了後、3 日間通常給餌した。

死亡及び明白な毒性徴候はみられなかった。投与群の全例で投与期間中摂餌量の低下及び体重の増加抑制がみられたが、飼料を拒絶したことによると推定された。休薬期間中に、全例とも体重増加は正常又は促進を示した。（参照 7）

七面鳥（Big 6 タイプ、11 日齢、雌雄各 25 羽/群）を用いた酒石酸タイロシンの 5 日間飲水投与（0、500 及び 1,500 ppm）による安全性試験が実施された。

試験期間中、全ての被験動物は健康状態を保持し、体重及び摂餌量に投与の影響はみられなかった。僅かな用量依存的な飲水量の減少がみられたが、全群とも正常値の範囲内であった。（参照 7）

10. その他の試験

（1）薬理試験

タイロシンの一般的な薬理学的特性がイヌで評価されている。血圧、心臓機能、腸管運動性及び呼吸に対するタイロシンの影響について、麻酔したイヌ 6 匹にタイロシン塩酸塩を静脈内投与（10～40 mg/kg 体重）して検討された。

いずれの投与量においても、投与後は平均動脈圧が低下した。その低下は、10 mg/kg 体重では 13～18 %、40 mg/kg 体重では 20～40 %であった。タイロシンの降圧作用はエリスロマイシンで報告されたものと同様であった。3 例で呼吸数が僅かに増加したが心拍数に変化はみられなかった。しかし、40 mg/kg 体重投与群では、心電図において T 及び S 波の高さの上昇が 1 例にみられた。十二指腸の運動性が全般的に 10～25 分間亢進する傾向があったが、10 mg/kg 体重を投与した 2 例に変化はみられなかった。1 例では、20 mg/kg 体重投与後における十二指腸の弛緩及び 40 mg/kg 体重投与後の刺激による弛緩がみられた。（参照 7）

（2）神経毒性

ネコ（投与群：雌 1 匹及び雄 3 匹、対照群：3 匹）を用いた酒石酸タイロシンの 90 日間皮下投与（200 mg/kg 体重/日）試験が実施された。

回転後眼振は僅かに（25～35 %）低下したが、聴力は損なわれていないと考えられた。被験動物は約 1 m の高さから飛び降りさせたとき、いずれも四肢全部を使って着地した。運動失調はみられなかった。神経毒性の明確な徴候はないと考えられた。本試験は、要約形式の報告のみであった。（参照 7）

(3) 代謝酵素との相互作用

ラット (SD 系) を用いた酒石酸タイロシンの 3 日間腹腔内投与 (500 mg/kg 体重/日) 試験が実施された。最終投与 24 時間後にと殺した。肝臓ミクロソームのチトクローム P450 (CYP) 含有量は非投与の動物と同様で、タイロシン代謝物-CYP 複合体の形成は検出されなかった。一方、マクロライド系抗生物質、特にトロレアンドマイシン及びエリスロマイシンは CYP を誘導し、酵素活性を阻害する CYP-鉄-ニトロソアルカン複合体を形成する。この反応の違いは、構造的な要因によるものと考えられた。

CYP3A の相対的な阻害効果及びマクロライド系抗生物質の CYP-鉄-ニトロソアルカン代謝物複合体については、山羊及び牛の肝ミクロソーム分画並びに牛 CYP3A 発現細胞系で検討されている。酒石酸タイロシンはスペクトル解析により測定される典型的な複合体形成を示すが、ミクロソームではテストステロンの CYP3A 触媒水酸化の弱い (10%以下) 阻害物質であり、V79 牛 CYP3A 細胞系では阻害物質ではなかった。トリアセチルオレンドマイシン及びエリスロマイシンは複合体形成及び強い阻害を示した。(参照 7)

(4) 皮膚及び眼刺激性

ウサギ (ニュージーランド白色種) の皮膚にタイロシンを局所適用 (注射剤を 2.0 mL、濃縮又は溶解性製剤を 2,000 mg) し、暴露 24 時間後に、適用局所を温水で洗浄し、その後 14 日間観察が行われた。

投与に起因する死亡及び全身性の毒性は観察されなかった。注射剤では、適用局所にごく僅かな皮膚刺激性がみられたが、適用後 48 時間以内に消失した。濃縮製剤では、皮膚刺激性は観察されなかった。溶解性製剤では、ごく僅かな皮膚刺激性がみられ、適用後 8 日以内に消失し、2 例で僅かな落屑がみられた。(参照 7)

ウサギ (ニュージーランド白色種) の片方の眼にタイロシンを点眼 (注射剤、濃縮製剤及び溶解性製剤をそれぞれ 0.1mL、52 及び 58 mg) し、眼刺激性について観察が行われた。

注射剤では、ごく軽度の結膜充血を引き起こしたが 48 時間以内に消失した。濃縮製剤では、corneal dullness (角膜の透明度低下)、ごく軽度の角膜混濁、ごく軽度から軽度の虹彩炎及び軽度の結膜炎を点眼後 1 時間以内に発現したが、14 日以内に全ての刺激性変化は消失した。溶解性製剤では、ごく軽度から軽度の角膜混濁、顕著な虹彩炎及び軽度の結膜炎が 1 時間以内に発現したが、暴露 7 日以内に全ての刺激性変化は消失した。(参照 7)

(5) 感作性

モルモットを用いたタイロシン塩酸塩の単回腹腔内投与 (2、4 及び 7 mg/kg 体重 (各 3 匹)、10 mg/kg 体重 (8 匹)) 試験が実施された。

5週間後の静脈内投与（5 mg/kg 体重）による惹起投与後、各投与量で、それぞれ、3、2、1 及び 2 例が生存した。明確な徴候を示した例はなく、感作性の反応はないことが示された。本試験は、要約形式の報告のみであった。（参照 7）

この試験は、感作性を検出するためのより先進的な試験法が開発される前に行われたものであり、感作性と関連のない全身性の毒性により生存率が低いため不確実なものである。

（6）抗原性

ウサギ（8 匹）を用いたタイロシン乳酸塩（100 mg/匹）、ヒト血清アルブミン及びフロイントの完全アジュバントの組み合わせによる皮内投与試験により、抗体産生を試みた。感作 3 日後に採血し、その血清を用いてモルモットの受身皮膚アナフィラキシー試験が実施された。

抗原の静脈内投与後に、反応はみられなかった。（参照 7）

（7）*in vitro* ホルモン刺激性

ヒト甲状腺ホルモン応答遺伝子を発現した HeLa 細胞の形質転換細胞を用いた場合、100 $\mu\text{mol/L}$ の濃度までの酒石酸タイロシンは、レセプターとのいかなる直接の相互作用も示さなかった。しかし、1 pmol/L から 100 $\mu\text{mol/L}$ の濃度では、トリヨードチロニンによるレセプターの刺激の用量反応性のない阻害を示した。（参照 7）

100 $\mu\text{mol/L}$ までの酒石酸タイロシンは、ラットの培養下垂体腫瘍細胞（ATCC CCL-82.1）における成長ホルモンの合成に影響しなかった。1 pmol/L から 100 $\mu\text{mol/L}$ の濃度のタイロシンはトリヨードチロニンにより刺激される成長ホルモンの放出の用量反応性のない阻害を示した。（参照 7）

1.1. 微生物学的影響に関する試験

（1）臨床分離菌に対する最小発育阻止濃度（MIC）①

健常なヒト腸内細菌叢の代表的な 100 菌株を用いて、タイロシンの MIC について調べた。菌は採取前 3 か月間化学療法を受けておらず、試料採取 4 週間以内に下痢の徴候がなかった健康なヒトボランティアの糞便から分離されたものであった。ヒト糞便中細菌叢の主要 10 菌種を分離し、それぞれ 10 株を培養して MIC 試験に供した。

MIC の範囲及び MIC₅₀ を表 18 に示した。

タイロシン活性は、菌種間及び多くの同一菌種内で様々であった。*Escherichia coli* に対する抗菌活性は一貫してみられず、MIC₅₀ は 128 $\mu\text{g/mL}$ より大きかった。最も感受性が高いのはグラム陽性嫌気性菌で、*Bifidobacterium*、*Clostridium*、*Eubacterium* 及び *Peptostreptococcus* で

あった。*Bifidobacterium* 属及び *Clostridium* 属の MIC₅₀ は 0.062 µg/mL であった。(参照 7)

表 18 ヒト腸内細菌（ヒトボランティア）におけるタイロシンの MIC

菌種*	接種濃度 (×10 ⁸ CFU/mL)	タイロシンの MIC (µg/mL)	
		範囲	MIC ₅₀
<i>Bacteroides fragilis</i>	1.5～5.8	0.5～128	1
その他の <i>Bacteroides</i> sp.	1.8～12	0.25～32	0.5
<i>Bifidobacterium</i> sp.	0.34～6.5	0.031～2	0.062
<i>Clostridium</i> sp.	0.21～13	0.031～0.5	0.062
<i>Enterococcus</i> sp.	1.3～5.6	1～4	1
<i>Eubacterium</i> sp.	0.46～2.4	0.125～1	0.25
<i>Fusobacterium</i> sp.	0.46～3.4	0.062～64	1
<i>Lactobacillus</i> sp.	0.23～8	0.5～8	2
<i>Peptostreptococcus</i>	0.33～5.5	0.125～0.5	0.5
<i>Escherichia coli</i>	2.3～59	>128	>128

CFU：コロニー形成単位

*：各菌種 10 株（総計 100 菌株）を使用

(2) 臨床分離菌に対する MIC ②

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影響調査」において、ヒト臨床分離株に対するタイロシンの約 5×10^6 CFU/spot における MIC が調べられている（表 19）。（参照 67）

表 19 ヒト腸内細菌におけるタイロシンの MIC₅₀

菌名	株数	最小発育阻止濃度 (μg/mL)	
		MIC ₅₀	範囲
通性嫌気性菌			
<i>Escherichia coli</i>	30	>128	>128
<i>Enterococcus</i> sp.	30	4	0.5~>128
嫌気性菌			
<i>Bacteroides</i> sp.	30	4	0.5~>128
<i>Fusobacterium</i> sp.	20	64	16~>128
<i>Bifidobacterium</i> sp.	30	≤0.06	≤0.06~4
<i>Eubacterium</i> sp.	20	≤0.06	≤0.06~0.25
<i>Clostridium</i> sp.	30	4	0.5~>128
<i>Peptococcus</i> sp./ <i>Peptostreptococcus</i> sp.	30	0.25	≤0.06~2
<i>Prevotella</i> sp.	20	0.25	≤0.06~1
<i>Lactobacillus</i> sp.	30	1	0.12~16
<i>Propionibacterium</i> sp.	30	1	1~>128

調査された菌種のうち最も低い MIC₅₀ が報告されているのは *Bifidobacterium* sp. 及び *Eubacterium* sp. で、それぞれ 0.06 μg/mL 以下であった。本調査結果から MICcalc¹⁴ は 0.308 μg/mL (0.000308 mg/mL) と算出された。

(3) 糞便結合試験 (ヒト)

タイロシンの糞便結合試験が添加濃度 0~3.3 μg/mL (0.3 μg/mL 刻みの 12 濃度) の範囲で実施された。参照菌株としてタイロシンに感受性の *Enterococcus faecalis* を用いた。各濃度のタイロシンは滅菌した 3 人のボランティアの糞便試料 (糞便濃度: 0、25 及び 50 % (w/vol)) と混合し、培養 (0、1、2、6、8 及び 12 時間) した。各培養時間後の試料から得られた上清の抗菌活性が、糞便の培養前後における細菌発育の有無で評価された。タイロシンの糞便結合は糞便濃度の影響は受けなかったが、時間依存的な影響がみられた。培養時間が 1 時間以内では、結合率は 20~28 % であった。各濃度の糞便との結合率が最高であったのは培養時間 1~8 時間で、結合率は 3 人の糞便においてそれぞれ 28.6、37.5 及び 42.9 % (平均 36.3 %) であった。50 % (w/vol) 以上の濃度の糞便を用いた *in vitro* の糞便結合試験は、實際上実施は不可能であった。したがって、摂取したタイロシンの残留物と腸内容物との結合に関しては、50 % 濃度 (高濃度の検体) が *in vivo* の状態に最も近い *in vitro* 試験結果と考えられた。これらのことから、希釈しない糞便のタ

¹⁴ 試験薬がその菌に対して活性を有する属の平均 MIC₅₀ の 90 % 信頼限界の下限值

イロシンとの結合率は1～8時間以内に最高となり、おそらく30%を超えると考えられた。(参照6、68)

12. ヒトにおける知見

ヒトボランティア(11名/対照群、12名/投与群)におけるタイロシンの6か月間経口投与(20 mg/ヒト/日又は偽薬)試験が実施された。

毎週採取された糞便中のブドウ球菌、レンサ球菌及び乳酸菌の総数に有意な増減はみられなかった。大腸菌及び酵母の過剰増殖も起こらなかった。また、タイロシン耐性ブドウ球菌の出現率は、投与群と対照群で差はみられなかった。耐性ブドウ球菌は、タイロシン投与前からみられ、抗菌耐性は一過性で不規則なものであった。これらの耐性菌は他のマクロライド系抗生物質との交差耐性がみられたが、低濃度のペニシリン及びリンコマイシンには感受性がみられた。

タイロシンは使用していないが、他の抗生物質を使用している病院由来のブドウ球菌336分離株のうち2例のみが5 µg/mLのタイロシン乳酸塩に耐性であった。分離されたタイロシン乳酸塩耐性ブドウ球菌は、エリスロマイシン、オレアンドマイシン、リンコマイシン、ペニシリン及びテトラサイクリンとの交差耐性に規則性は認められず、耐性の誘発も認められなかった。(参照2、7、69)

健常な成人(2名/群)におけるタイロシンの3か月間経口投与(0、2及び5 mg/ヒト/日)試験が実施された。投与2か月前から投与開始3か月後まで1～2週間ごとに糞便中の大腸菌、腸球菌及びブドウ球菌を調べた。細菌数の変動は非常に大きかったが、タイロシンの投与の影響はみられなかった。どの時点においても、感受性及び耐性のパターンに変化は認められなかった。(参照2、7、70)

1985年5月から1987年4月までに分離された *Staphylococcus aureus*、*Streptococcus pyogenes* 及び *Campylobacter* 属のヒト由来3,812株のうち1%のみがタイロシン耐性であった。これらの耐性菌が動物に由来するものであるかどうかの確証はない。(参照7)

タイロシンに暴露後の職業性皮膚炎の症例報告がある。これらの報告では、タイロシンはヒトに炎症又はアレルギー皮膚炎を引き起こす可能性があるとし唆された。(参照7)

Ⅲ. 国際機関等の評価

1. JECFA における評価

2008 年に ADI が設定された。

毒性学的 ADI については、イヌを用いた 2 年間慢性毒性試験における NOAEL 100 mg/kg 体重/日に安全係数 100 を適用して、1 mg/kg 体重/日とした。

微生物学的 ADI については、細菌の MIC から MIC_{calc} を 1.698 µg/mL、腸内細菌が暴露される分画は 0.224、結腸内容物は 220 g、ヒトの体重は 60 kg とし、以下の VICH 式から得られた数値 (25.3 µg/kg 体重/日) から、30 µg/kg 体重/日とした。

$$\text{微生物学的 ADI} = \frac{1.698^{*1} \times 220^{*2}}{0.224^{*3} \times 60^{*4}} = 25.3 \text{ } \mu\text{g/kg 体重/日}$$

*1: MIC_{calc}: 試験薬がその菌に対して活性を有する属の平均 MIC₅₀ の 90 %信頼限界の下限值。ただし、今回は MIC₉₀ から算出した。

*2: 結腸内容物

*3: 微生物が利用可能な経口用量の分画—結腸に到達した代謝物等はタイロシン A の活性の 35 %程度を有し、タイロシン A の 36 %が糞便と結合するため 64 %が微生物に利用可能であると考えられることから 0.35×0.64 で求めた。

*4: ヒト体重

毒性学的影響より微生物学的影響が適切であると考え、タイロシンの ADI を 30 µg/kg 体重/日と設定した。(参照 7)

2. EMEA における評価

1997 年に、以下のように評価した。

毒性学的 ADI については、ラットを用いた 1 年間慢性毒性試験における NOEL 50 mg/kg 体重/日に安全係数 100 を適用して、500 µg/kg 体重/日とした。

微生物学的 ADI については、感受性菌の MIC₅₀ の幾何平均が 0.606 µg/mL、腸内細菌が暴露される分画は 0.5、糞便量は 150 g、ヒトの体重は 60 kg とし、以下の CVMP 式から得られた数値 (6.06 µg/kg 体重/日) から、6 µg/kg 体重/日とした。

$$\text{微生物学的 ADI} = \frac{\frac{0.606^{*1} \times 2^{*2}}{1^{*3}} \times 150^{*4}}{(1-0.5)^{*5} \times 60^{*6}} = 6.06 \text{ } \mu\text{g/kg 体重/日}$$

*1: MIC₅₀ の幾何平均

*2: in vivo で菌量の増加を考慮した係数として「2」を適用

*3: 感受性菌の MIC₅₀ の幾何平均を用いているため「1」を適用

*4: 糞便量

*5: 複数の動物種において、経口投与量の 99%が糞に排泄されることから「1」、更に糞中残留物の性質を考慮した「0.5」によって補正

*6:ヒト体重

毒性学的 ADI より低い微生物学的 ADI が適切であると考え、タイロシンの ADI を 6 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日と設定した。(参照 76)

3. FDA における評価

ADI を設定していない。(参照 77、78)

4. 豪州政府における評価

タイロシンの ADI を 0.3 mg/kg 体重/日と設定している。(参照 79)

IV. 食品健康影響評価

1. 薬物動態及び残留試験について

各種動物を用いてタイロシンの薬物動態及び残留試験が実施されている。

ラット及びイヌにおける経口投与では、投与 2~5 時間程度で血清 C_{max} に到達しその後速やかに低下した。イヌの所見から胃よりもむしろ腸で吸収されると考えられる。イヌでは、投与量を増加しても吸収は用量依存性に乏しかった。ラットにおける放射標識物質を用いた限定的な組織分布試験で、肝臓及び腎臓では脂肪より多く分布することが明らかになった。ラット、イヌ及び豚の経口投与における尿からの回収は僅かで、大部分が糞中に存在した。

ラットでは、タイロシンの大部分は代謝された。肝臓でみられた主要物質はタイロシン A 及び D 並びにジヒドロデスマコシンであった。糞中の主要物質はタイロシン D 及びジヒドロデスマコシンで、微量物質はタイロシン A 及び C 並びにラクトン環の加水分解から生じる代謝物の範囲であった。

残留試験においては、経口投与では、各種動物の組織及び乳汁中残留は、最終投与直後には僅かに認められたが速やかに減衰した。筋肉内投与においては、注射部位筋肉、腎臓及び肝臓を中心に残留がみられたが、時間の経過とともに減衰した。また、はちみつの残留試験では、タイロシンは投与約 10 か月後に検出可能であり、消失は緩徐と考えられた。ただし、その濃度は時間の経過とともに減少した。

2. 毒性学的影響について

(1) 遺伝毒性試験について

遺伝毒性試験では、*in vitro* 試験 3 試験 (L5178Y マウスリンパ腫細胞における前進突然変異試験、CHO 細胞における前進突然変異試験、CHO 細胞における染色体異常試験) 及び *in vivo* 試験 1 試験 (マウス骨髄における小核試験) が実施された。CHO 細胞を用いた前進突然変異試験及び染色体異常試験並びにマウス骨髄細胞における小核試験は、いずれも陰性の結果であった。

L5178Y マウスリンパ腫細胞では、代謝酵素非存在下の場合のみ遺伝子突然変異が増加したが、細胞の顕著な生存率低下により、本試験における変異原性の陽性結果は信頼性が低いと考えられた。

したがって、タイロシンが遺伝子を損傷する可能性は低く、生体にとって問題となる遺伝毒性はないと考えられた。

(2) 急性毒性試験について

タイロシンはタイロシン塩基、リン酸塩及び酒石酸塩を用いた単回経口投与後の毒性は低かった。経口 LD_{50} は、げっ歯類で 5,000 mg/kg 体重超、イヌで 800 mg/kg 体重超であった。

(3) 亜急性毒性試験について

ラット及びイヌを用いた亜急性毒性試験が実施されている。いずれの試験においても詳細が不明であること等から、評価に用いるには不適切と考えられた。

(4) 慢性毒性及び慢性毒性/発がん性試験について

マウスを用いた 1.5 年間慢性毒性試験、ラットを用いた 1 年間、17 か月間及び 2 年間慢性毒性試験 (3 試験)、イヌを用いた 2 年間慢性毒性試験並びにラットを用いた 2 年間慢性毒性/発がん性試験が実施されている。

イヌの 2 年間慢性毒性試験では、200 mg/kg 体重/日投与群に腎盂腎炎が、400 mg/kg 体重/日投与群にネフローゼ、腎盂腎炎及び膀胱炎がみられ、本試験における NOAEL は 100 mg/kg 体重/日と考えられた。

ラットの 1 年間慢性毒性試験では、5,000 ppm 以上投与群の雌において、リンパ球数の増加、好中球数の減少及び尿の pH 上昇がみられた。本試験における NOAEL は 1,000 ppm (39 mg/kg 体重/日) と考えられた。

ラットの 1 年を超える長期経口投与 5 試験 (17 か月間(1 試験)及び 2 年間投与試験(4 試験)) のうち 3 試験は要約のみの報告であるため評価に用いるには不適切と考えられた。他の 2 試験では、タイロシンの投与により生存率が上昇した。2 年間慢性毒性試験では、10,000 ppm (500 mg/kg 体重/日) の混餌濃度で肝臓の脂肪化が僅かに増加したため、NOAEL は 100 ppm (5 mg/kg 体重/日) と考えられたが、本試験は用量の間隔が著しく大きいので ADI の根拠とするには不適切と考えられた。また、2 年間慢性毒性/発がん性試験では、雄ラットで下垂体腺腫の発生率増加がみられたが、この種の腫瘍は高齢の Wistar 系ラットに一般的にみられるもので、対照群に肺炎が多発したため試験自体の信頼性が低いと考えられることから、明確な結論は得られなかったと判断された。本試験における悪性腫瘍の発生に関し、投与に起因する影響はみられず、Harlan ラットを用いた 2 年間慢性毒性試験の結果も考慮し、発がん性はないと考えられた。

(5) 生殖発生毒性試験について

多世代繁殖試験がマウス及びラットを用いて実施されている。繁殖成績並びに児の成長及び生存率等から NOAEL が設定された。いずれの試験においても NOAEL は混餌濃度 10,000 ppm (マウス：1,500 mg/kg 体重/日、ラット：500 及び 635 mg/kg 体重/日) であった。

マウス及びラットを用いた発生毒性試験においては、NOAEL は、マウスでは最高用量の 1,000 mg/kg 体重/日 (強制経口投与)、ラットでは 725 mg/kg 体重/日 (混餌濃度 10,000 ppm) と考えられた。

(6) 毒性学的 ADI について

タイロシンは、遺伝毒性試験の結果から生体にとって問題となる遺伝毒性はないと考えられることから、ADI の設定は可能であると考えられた。また、発がん性はみられなかった。

毒性学的 ADI については、ラットの 1 年間慢性毒性試験における NOAEL 39 mg/kg 体重/日に、安全係数として 100 を適用し、0.39 mg/kg 体重/日と設定することが適当であると考えられた。

3. 微生物学的影響について

(1) タイロシン残留物による微生物学的影響

タイロシンは豚及びラットにおいて大部分が代謝されることが放射活性タイロシンを用いた試験により示されている。豚における糞中の主要代謝物はタイロシン D、ジヒドロデスミコシン及びタイロシン D のセコ酸である。タイロシン D 及びジヒドロデスミコシンの微生物学的活性は、それぞれタイロシン A の 35 % 及び 31 % であり、タイロシン D のセコ酸は微生物学的に不活性である。ヒトにおける代謝経路は不明であるが、豚におけるこれらの試験結果モデルとして推定すると、結腸に到達する代謝物の混合物は、タイロシン A の 35 % 程度の微生物学的活性を有していると考えられる。

ヒトの糞便とタイロシンの結合を検討した試験では、タイロシンは、結腸中で 36 % 程度が糞便中物質と結合することが示された。したがって、ヒト結腸中の残留タイロシンの約 64 % が遊離していると考えられた。

以上のことから、残留タイロシンは大部分が代謝され、結腸に到達したタイロシン代謝物は、タイロシン A の 35 % 程度の活性を有すると考えられること及び約 64 % が糞便中で遊離していると考えられることから、経口摂取量の約 22.4 % (0.35×0.64) が利用可能な分画であり、微生物学的活性を有する可能性があると考えられた。

(2) 微生物学 ADI について

微生物学的影響については、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」により、詳細な知見が得られており、この結果から VICH ガイドラインに基づいて微生物学的 ADI を算出することができる。

MIC_{calc} は 0.000308 mg/mL、細菌が暴露される分画は 22.4 %、結腸内容物は 220 g、ヒト体重は 60 kg を適用し、VICH の算出式により、以下のとおり算定された。

$$\text{ADI} = \frac{0.000308^{*1} \times 220^{*2}}{0.224^{*3} \times 60^{*4}} = 0.005 \text{ mg/kg 体重/日}$$

*1: MIC_{calc}: 試験薬がその菌に対して活性を有する属の平均 MIC₅₀ の 90 %信頼限界の下限値

*2: 結腸内容物

*3: 微生物が利用可能な経口用量の分画－結腸に到達した代謝物の混合物は、タイロシン A の活性の 35 %程度を有し、タイロシン A の 36 %が糞便と結合するため、64 %が微生物に利用可能であると考えられることから、 0.35×0.64 で求めた。

*4: ヒト体重

4. ADI の設定について

タイロシンの微生物学的 ADI (0.005 mg/kg 体重/日) は、毒性学的 ADI (0.39 mg/kg 体重/日) よりも小さく、毒性学的な安全性についても担保していると考えられることから、タイロシンの ADI としては、0.005 mg/kg 体重/日と設定することが適当であると判断された。

以上より、タイロ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。

タイロシン 0.005 mg/kg 体重/日

表 20 JECFA における各種試験の無毒性量の比較

動物種	試験	投与量 (mg/kg 体重/日)	無毒性量 (mg/kg 体重/日)
マウス	2 世代生殖試験	0、1,000、10,000 ppm・塩基 混餌投与	1,500 (10,000 ppm) 投与の影響なし。
	発生毒性試験	0、100、500、1,000・塩基 強制経口投与	1,000 投与の影響なし。
ラット	6 週間亜急性毒性試験	0、0.005、0.2、10、200・塩基 強制経口投与	— 雌：0.2 以上で LDH、FSH、プロラクチン減少。 雄：0.2 以上でプロラクチン、黄体形成ホルモン減少。IgG、IgM 減少。
	1 年間慢性毒性試験	0、1,000、5,000、10,000 ppm・塩基 混餌投与	39 (1,000 ppm) 5,000 ppm 以上でリンパ球数の増加、好中球数の減少。尿の pH の上昇。
	17 か月間慢性毒性試験	0、1,000、3,000、10,000 ppm・塩基 混餌投与	— 投与の影響なし。
	2 年間慢性毒性試験	0、10、100、1,000 ppm・塩基 混餌投与	— 投与の影響なし。
	2 年間慢性毒性試験	0、20,000、50,000、100,000、200,000 ppm・塩基 混餌投与	— 100,000 ppm 以上で体重増加抑制、摂餌量低下。200,000 ppm は 12 か月以内に全例死亡。
	2 年間慢性毒性試験	0、100、10,000 ppm・塩基 混餌投与	5 (100 ppm) 10,000 ppm 以上で肝臓の脂肪化の僅かな増加
	反復 2 年間慢性毒性試験	0、1,000、5,000、10,000 ppm・塩基 混餌投与	402 (10,000 ppm) 雄ラット (反復試験 1 の 5,000 ppm 投与群、反復試験 2 の 10,000 ppm 投与群) の良性下垂体腺腫の発生率増加：雄で投与により生存率が上昇したことに伴う変化と考えられた。
	生殖毒性試験	0、10,000 ppm・塩基 混餌投与	500 (10,000 ppm) 投与の影響なし。
	生殖毒性試験	0、1,000、5,000、10,000 ppm・塩基 混餌投与	635 (10,000 ppm) 投与の影響なし。
	発生毒性試験	0、1,000、10,000、100,000 ppm・塩基 混餌投与	725 (10,000 ppm) 100,000 ppm で母動物、胎児の体重低値、骨化遅延。催奇形性な

			し。出生児の体重増加抑制
イヌ	30日間亜急性毒性試験	25、100・塩基カプセル投与	— 血尿、アルブミン尿。 軽度の膀胱炎。
	25日間亜急性毒性試験	25・塩基カプセル投与	— 雄の尿中に僅かなアルブミン
	2年間慢性毒性試験	0、1、10、100、200、400・塩基カプセル投与	100 200以上で腎臓に軽度の変化
ウズラ	5日間亜急性毒性試験	0、1,250、2,500、5,000 ppm・塩基混餌投与	— 投与の影響なし。
カモ	5日間亜急性毒性試験	0、1,250、2,500、5,000 ppm・塩基混餌投与	— 投与の影響なし。
鶏	18週間亜急性毒性試験	0、220、550、1,100、3,300 ppm(力価)(塩基として)・酒石酸塩混餌投与	— 投与の影響なし。
	8日間亜急性毒性試験	0、500、1,500 ppm・酒石酸塩 飲水投与	— 投与の影響なし。
七面鳥	5日間亜急性毒性試験	0、500、1,500 ppm・酒石酸塩 飲水投与	— 投与の影響なし。
豚	10日間亜急性毒性試験	0、250、750 ppm・酒石酸塩 飲水投与	— 投与の影響なし。
牛	14日間亜急性毒性試験	0、1,000、3,000・酒石酸塩 代用乳に混じて投与	— 投与の影響なし。
毒性学的 ADI		1 mg/kg 体重/日 無毒性量：100 mg/kg 体重/日 SF：100	
毒性学的 ADI 設定根拠資料		イヌ 2年間慢性毒性試験	
微生物学的 ADI		0.03 mg/kg 体重/日	
微生物学的 ADI 設定根拠資料		<i>in vitro</i> MIC _{calc} 及び糞便結合データ (VICH 式)	
ADI		0.03 mg/kg 体重/日	

表 21 EMEA における各種試験の無毒性量の比較

動物種	試験	投与量 (mg/kg 体重/日)	無毒性量 (mg/kg 体重/日)
マウス	2 世代生殖試験	0、1,000、10,000 ppm 混餌投与	— 投与の影響なし。
	発生毒性試験	500、1,000	— 児への投与の影響なし。
	発生毒性（特殊）試験	0、100、500、1,000 強制経口投与	— 投与の影響なし。
ラット	65 日間亜急性毒性試験	0.1、5 ppm 混餌投与	— 雄の下垂体・性腺軸に タイロシンが直接影響 を及ぼす明確な証拠なし。
	1 年間慢性毒性試験	0、50、500、1,000・塩基 (0、1,000、5,000、10,000 ppm) 混餌投与	50 (1,000 ppm) リンパ球の増加、好中 球の減少。
	17 か月～2 年間慢性毒 性試験・4 試験	～200,000 ppm・塩基 混餌投与	— 投与の影響なし。 発がん性の評価には不 十分。
	2 年間発がん性試験	0、50、500、1,000 (0、1,000、5,000、10,000 ppm) 混餌投与	— 雄に用量依存的な下垂 体腺腫の増加：発がん 性というより投与によ り生存率が上昇し、体 重が増加したことによ る。
	3 世代生殖毒性試験	0、10,000 ppm・塩基 混餌投与	— 投与の影響なし。
	繁殖毒性（特殊）試験	0、50、500、1,000・塩基 (0、1,000、5,000、10,000 ppm) 混餌投与	— 高用量群で白血球数の 減少。児への影響なし。
	発生毒性試験	0、60.5、725、4,800 (0、1,000、10,000、 100,000 ppm) 混餌投与	— 母動物及び胎児体重の 僅かな低下、骨化遅延 (4,800 mg/kg 体重/日 投与群) — 出生児体重増加抑制 (4,800 mg/kg 体重/日 投与群)
イヌ	2 年間慢性毒性試験	(100、200、400)	100 200 以上で嘔吐、下痢。 中等度の腎臓への影 響。
毒性学的 ADI		0.5 mg/kg 体重/日 無毒性量：50 mg/kg 体重/日 SF：100	
毒性学的 ADI 設定根拠資料		ラットの 1 年間慢性毒性試験（混餌投与）	
微生物学的 ADI		0.00606 mg/kg 体重/日	

微生物学的 ADI 設定根拠資料	感受性ヒト腸内細菌 7 菌種の幾何平均 MIC ₅₀ (CVMP 式)
ADI	0.006 mg/kg 体重/日

〈別紙：検査値等略称〉

略称	名称
ADI	一日摂取許容量
ALT	アラニンアミノトランスフェラーゼ
AUC	血漿薬物濃度曲線下面積
CFU	コロニー形成単位
CHO 細胞	チャイニーズハムスター卵巢由来細胞
C _{max}	最高濃度
EMA	欧州医薬品庁
FDA	米国食品医薬品庁
FSH	卵胞刺激ホルモン
HPLC	高速液体クロマトグラフィー
HPLC/ISP/MS/LSC	高速液体クロマトグラフィー/イオンスプレー質量分析/ 液体シンチレーションカウンター
HPLC/MS/MS	高速液体クロマトグラフィー/タンデム質量分析
IgG	免疫グロブリン G
IgM	免疫グロブリン M
ISP-MS	イオンスプレー質量分析
JECFA	FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議
LC-ESI/MS/MS	液体クロマトグラフィー/エレクトロスプレーイオン化 タンデム質量分析
LC-MS	液体クロマトグラフィー/質量分析
LD ₅₀	半数致死量
LDH	乳酸脱水素酵素
LSC	液体シンチレーションカウンター
MIC	最小発育阻止濃度
MIC ₅₀	50 %発育阻止濃度
NOAEL	無毒性量
T.Bil	総ビリルビン
TLC	薄層クロマトグラフィー
VICH	動物用医薬品の承認審査資料の調和に関する国際会議
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. 日本イーライリリー株式会社. 残留基準設定資料 タイロシン：タイロシンの残留基準の設定に関する資料の概要、2006 年（未公表）
3. Pub Chem(<http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)
4. “マクロライド系抗生物質”. 岩波生物学辞典、八杉龍一、小関治男、古谷雅樹、日高敏隆. 第 4 版、岩波書店、2002 年、p1349
5. “マクロライド抗生物質”. 岩波理化学辞典、長倉三郎、井口洋夫、江沢洋、岩村秀、佐藤文隆、久保亮五. 第 5 版、岩波書店、2001 年、p1338
6. JECFA, EVALUATION OF CERTAIN VETERINARY DRUG RESIDUES IN FOOD: WHO Technical Report Series 954, p94-107, 2009
7. JECFA, Toxicological evaluation of certain veterinary drug residues in food, WHO FOOD ADDITIVES SERIES No.61, p183-216, 2009
8. 日本イーライリリー株式会社. 残留基準設定資料 タイロシン：タイロシンの残留基準の設定に関する添付資料：R-2（未公表）
9. 日本イーライリリー株式会社. 残留基準設定資料 タイロシン：タイロシンの残留基準の設定に関する添付資料：R-21、1978 年（未公表）
10. 日本イーライリリー株式会社. 残留基準設定資料 タイロシン：タイロシンの残留基準の設定に関する添付資料：R-20（未公表）
11. 日本イーライリリー株式会社. 残留基準設定資料 タイロシン：タイロシンの残留基準の設定に関する添付資料：R-1、1960 年（未公表）
12. 日本イーライリリー株式会社. 残留基準設定資料 タイロシン：タイロシンの残留基準の設定に関する添付資料：R-3、1965 年（未公表）
13. 日本イーライリリー株式会社. 残留基準設定資料 タイロシン：タイロシンの残留基準の設定に関する添付資料：R-4（未公表）
14. 日本イーライリリー株式会社. 残留基準設定資料 タイロシン：タイロシンの残留基準の設定に関する添付資料：R-5、1979 年（未公表）
15. 日本イーライリリー株式会社. 残留基準設定資料 タイロシン：タイロシンの残留基準の設定に関する添付資料：R-6（未公表）
16. 日本イーライリリー株式会社. 残留基準設定資料 タイロシン：タイロシンの残留基準の設定に関する添付資料：R-8、1973 年（未公表）
17. 日本イーライリリー株式会社. 残留基準設定資料 タイロシン：タイロシンの残留基準の設定に関する添付資料：R-22（未公表）
18. 日本イーライリリー株式会社. 残留基準設定資料 タイロシン：タイロシンの残留基準の設定に関する添付資料：R-7（未公表）
19. 日本イーライリリー株式会社. 残留基準設定資料 タイロシン：タイロシンの残留基準の設定に関する添付資料：R-10（未公表）
20. 日本イーライリリー株式会社. 残留基準設定資料 タイロシン：タイロシ

- ンの残留基準の設定に関する添付資料：T-10、1979年（未公表）
60. 日本イーライリリー株式会社. 残留基準設定資料 タイロシン：タイロシンの残留基準の設定に関する添付資料：T-9、1978年（未公表）
 61. 日本イーライリリー株式会社. 残留基準設定資料 タイロシン：タイロシンの残留基準の設定に関する添付資料：T-3、1983年（未公表）
 62. 日本イーライリリー株式会社. 残留基準設定資料 タイロシン：タイロシンの残留基準の設定に関する添付資料：T-11、1980年（未公表）
 63. 日本イーライリリー株式会社. 残留基準設定資料 タイロシン：タイロシンの残留基準の設定に関する添付資料：T-12（未公表）
 64. 日本イーライリリー株式会社. 残留基準設定資料 タイロシン：タイロシンの残留基準の設定に関する添付資料：T-13、1978年（未公表）
 65. 日本イーライリリー株式会社. 残留基準設定資料 タイロシン：タイロシンの残留基準の設定に関する添付資料：T-14、1966年（未公表）
 66. 日本イーライリリー株式会社. 残留基準設定資料 タイロシン：タイロシンの残留基準の設定に関する添付資料：T15（未公表）
 67. 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
 68. ELI LILLY AND COMPANY、Non-Clinical Laboratory Study: Effect of fecal binding on the antibacterial activity of tylosin.（未公表）
 69. 日本イーライリリー株式会社. 残留基準設定資料 タイロシン：タイロシンの残留基準の設定に関する添付資料：M-6（未公表）
 70. 日本イーライリリー株式会社. 残留基準設定資料 タイロシン：タイロシンの残留基準の設定に関する添付資料：M-5（未公表）
 71. 食品、添加物等の規格基準の一部を改正する件（平成26年厚生労働省告示第66号）
 72. 日本イーライリリー株式会社. タイロシンのはちみつにおける残留基準値（インポートトレランス）設定のための資料 概要（未公表）
 73. 日本イーライリリー株式会社. タイロシンのはちみつにおける残留基準値（インポートトレランス）設定のための資料 添付資料5（未公表）
 74. Nozal Nalda MJ, Bernal Yagüe JL, Gómez MT, Jiménez Sevilla JJ, Bernal del Nozal J, Higes Pascual M: Trace analysis of antibacterial tylosin A, B, C and D in honey by liquid chromatography-electrospray ionization-mass spectrometry. *J Sep Sci* 2006; 29(3): 405-413
 75. Thompson TS, pernal SF, Noot DK, Melathopoulos AP and van den Heever JP: Degradation of incurred tylosin to desmycosin - Implications for residue analysis of honey. *Analytica Chimica Acta* 2007; 586: 304-311
 76. EMEA: Committee For Veterinary Medicinal Products, “Tylosin”, Summary Report (3), 1997
 77. FDA: Code of Federal Regulations Title 21, Capter I, Subchapter E, Part

556, Subpart B, Sec. 556.740 Tylosin

78. FDA: Freedom of Information Summary, Supplemental new animal drug application, NADA 013-076, 2014
79. Australian Government: ADI List, Acceptable daily intakes for agricultural and veterinary chemicals. 2015