

(5) 残留試験（はちみつ①）

みつばち（西洋みつばち、4 蜂群^{6,7}/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）⁸及び巣蜜（brood honey）⁹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（LOQ 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 蜂群¹⁰/群）に、タイロシン製剤¹¹を散布投与（タイロシンとして 200 又は 400 mg/kg 混合物(砂糖との混合)¹²）した。投与物を完全に摂取¹³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（LOD：タイロシン A、C 及び D 2 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。

⁶ みつばちの 1 集合単位。通常 1 蜂群＝1 巣箱で、一匹の女王と関連する働き蜂、雄蜂、蜂児からなる。

⁷ 本試験では蜂群当たり働きばち約 4,000 匹を含む。

⁸ 女王ばち等がいる巣箱の上に重ねた箱（継箱）に貯蔵されたはちみつ。通常食用のはちみつとして採蜜される。

⁹ 女王ばち及び幼虫が収容される箱（育児箱）のはちみつ。

¹⁰ 参照 74 では、「beehive」と記載されている。蜂群たりのみつばち数は不明。

¹¹ 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）。

¹² タイロシンとしての用量と推測される。

¹³ みつばちの摂取量は不明である。

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散布投与後のはちみつ中残留濃度 (ng/g)

投与群 (mg/kg 混合物)	蜂群	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：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 蜂群/群¹⁴）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）を混ぜて散布投与し、二つ目の方法では、代用花粉 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 の濃度を測定した（PQL：5 ng/g）。

結果を表 14 に示した。なお、代用花粉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）

¹⁴ みつばち成虫が約 30,000 匹の蜂群を用いた。

表 14 みつばちにおける酒石酸タイロシン 3 回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	蜂群	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	<PQL	<PQL
		巣蜜	1	114	97
			2	62	44
			3	11	10
			4	<PQL	<PQL
代用花粉	900	余剰蜜	1	29	33
			2	64	48
			3	<PQL	<PQL
			4	<PQL	<PQL
		巣蜜	1	19	22
			2	80	60
			3	16	13
			4	28	24
	1,500	余剰蜜	1	<PQL	<PQL
			2	<PQL	<PQL
			3	23	19
			4	6	7
		巣蜜	1	77	60
			2	23	14
			3	16	13
			4	16	17

PQL : 5 ng/g

(6) 残留試験 (はちみつ②)

みつばち (種不明、56 蜂群) に酒石酸タイロシンを添加した粉砂糖を 1 週間隔で 3 回投与 (タイロシンとして 200 mg/巣箱/回、1 回/週) した。最終投与 1 週間後に継箱¹⁵を設置 (投薬時に既に継箱が設置されていた場合は、当該継箱に貯まった蜜を廃棄) し、その 1 週間後に捨て蜜¹⁶を採取し、更にその 1 週間後にはちみつを採取した。採取したはちみつにおけるタイロシン A 及びタイロシン B の濃度を LC-MS/MS により測定した。

結果を表 15 に示した。

各蜂群における余剰蜜のタイロシン濃度¹⁷は LOQ (0.02 mg/kg) 未満～5.34 mg/kgであった。(参照81)

¹⁵ 育児箱の上に乗せてみつばちに貯蜜を行わせるための箱

¹⁶ 投薬及び継箱設置後に最初に採取するはちみつ

¹⁷ タイロシン A 及びタイロシン B をタイロシン A に換算 (換算係数 1.19) したものの合計値

表 15 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のタイロシン濃度 (mg/kg)

養蜂場	投薬時の成蜂数 (万匹)	捨て蜜量 (kg)	タイロシン濃度
A	1.6	1.5～13	0.75～3.52
B	1.6	0.8～7.9	1.12～3.59
C	1.6	1.3～10.2	3.38～5.34
D	4	2.9 (4)／5.4 (4)	0.23～0.42
E	4	3.2 (4)／5.9 (4)	0.26～2.11
F	2	不明	0.19～0.52
G	1.6～2	1.4～2.3	0.10～0.22
H	2.5～3	1.0～2.0	<LOQ (4)
I	2	不明	<LOQ(1)～1.15

- ・養蜂場A～Eは8蜂群、養蜂場F～Iは4蜂群
- ・LOQ : 0.02 mg/kg
- ・()内は蜂群数

(7) 残留試験 (はちみつ③)

みつばち (西洋みつばち雑種、成蜂数 11,000～15,000 匹/蜂群、対照群 : 1 蜂群、常用群 : 4 蜂群、調整群 : 3 蜂群) にタイロシン酒石酸塩を 3 回、育児箱¹⁸へ散布投与し、最終投与 1 週間後に継箱を設置して、継箱に貯蔵された余剰蜜、育児箱に貯蔵された巣蜜及び蜜蝋¹⁹中のタイロシン A 及び B の濃度を LC-MS/MS (LOQ : 0.02 mg/kg) を用いて測定した。

常用群は 40,000 匹に対する量 (育児箱 1 箱当たり、タイロシンとして 200 mg(力価)/20 g 混合物(粉砂糖との混合)、1 回/週) を、調整群は成蜂数に比例した量²⁰ (育児箱 1 箱当たり、タイロシンとして 45～70 mg(力価)/20 g 混合物(粉砂糖との混合)、1 回/週) を投与し、継箱設置 3～6 週間後に余剰蜜 (それぞれ 0、1、2、3 番蜜) を採取し、測定試料とした。また、巣蜜は継箱設置時及び 1 番蜜採取時、蜜蝋は最終試料採取後に採取し、測定試料とした。

結果を表 16 に示した。

常用群における余剰蜜中のタイロシン濃度²¹は、いずれの測定時点においても調整群に比べ高濃度であった。調整群における余剰蜜のタイロシン濃度は、継箱設置後 5 週間 (2 番蜜) で LOQ 未満となった。成蜂数に応じて投与量を調整することで、余剰蜜、巣蜜及び蜜蝋いずれも、タイロシン濃度は減少した。(参照 82、83)

¹⁸ 女王蜂が産卵し、蜂児や蛹を収容するみつばちの居住する箱

¹⁹ みつばちが六角形の巣を作る材料として、働き蜂の腹部にある分泌腺から分泌するロウ

²⁰ 調整群の粉糖量 = 20g × 成蜂数 / 40,000

²¹ タイロシン A 及びタイロシン B をタイロシン A に換算 (換算係数 1.19) したものの合計値

表 16 みつばちにおけるタイロシン酒石酸塩を 3 回散布投与後のタイロシン残留濃度(μg/g) (参照 82)

試料	投与群 (mg(力価)/20 g 混合物, 蜂群数)	試料採取時期			
		最終投与後：継箱設置後週数			
		3 (0 番蜜)	4 (1 番蜜)	5 (2 番蜜)	6 (3 番蜜)
余剰蜜	0 (対照群, n=1)	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
	200 (常用群, n=4) ^a	0.52 ± 1.15	0.47 ± 1.88	0.15 ± 1.26	0.02 ± 2.68
	45～70 (調整群, n=3)	0.15 ± 1.87	0.09 ± 1.93	<LOQ ^b	<LOQ ^b
巣蜜	0 (対照群, n=1)	—	<LOQ	—	—
	200 (常用群, n=4)	—	2.11 ± 1.35	—	—
	45～70 (調整群, n=3)	—	0.20 ± 1.39	—	—
蜜蝋 ^c	0 (対照群)	—	—	—	<LOQ
	200 (常用群, n=4)	—	—	—	1.43 ± 3.49
	45～70 (調整群, n=3)	—	—	—	0.85 ± 1.23

- ・ 値：幾何平均値±SD ・ LOQ：0.02 μg/g ・ —：採取せず
- ・ a：1 蜂群は蜂群状態が不良のため採取できなかった (n=4→3：蜂群数)
- ・ b：n=2 (蜂群数)
- ・ c：蜜蝋は試験最終日に採取

みつばち（西洋みつばち雑種、成蜂数 8,000～10,000 匹/蜂群、対照群：1 蜂群、常用群：3 蜂群、調整群：4 蜂群）にタイロシン酒石酸塩を 3 回、育児箱へ散布投与し、最終投与 1 週間後に継箱を設置して、余剰蜜、巣蜜及び蜜蝋中のタイロシン A 及び B の濃度を LC-MS/MS (LOQ：0.02 μg/g) を用いて測定した。常用群は 40,000 匹に対する量（育児箱 1 箱当たり、タイロシンとして 200 mg(力価)/20g 混合物(粉砂糖との混合)、1 回/週）を、調整群は成蜂数に比例した量²²（育児箱 1 箱当たり、タイロシンとして 40～60mg(力価)/20g 混合物(粉砂糖との混合)、1 回/週）を投与し、余剰蜜は、継箱設置後、貯蜜量を確認し、最終投与 3～5 週間後に 0 番蜜を、その後 1 週毎に 1、2、3 番蜜を採取し、測定試料とした。また、巣蜜は継箱設置時、継箱設置 4 週間後及び 1 番蜜採取時に、蜜蝋は最終試料採取後に採取し、測定試料とした。

結果を表 17、表 18 に示した。

²² 調整群の粉糖量＝20g×成蜂数／40,000

常用群における余剰蜜のタイロシン濃度²³は、いずれの測定時点においても調整群に比べ高濃度であった。成蜂数に応じて投与量を調整することで、余剰蜜、巣蜜及び蜜蝋いずれも、タイロシン濃度は減少した。（参照 82、83）

表 17 みつばちにおけるタイロシン酒石酸塩を 3 回散布投与後の余剰蜜中残留濃度 (µg/g)

試料	投与群 (mg(力価)/20 g 混合物, 蜂群数)	試料採取時期			
		0 番蜜	1 番蜜	2 番蜜	3 番蜜
余剰蜜	0 (対照群, n=1)	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
	200 (常用群, n=3)	0.35± 1.09	0.39± 1.32	0.08± 2.40	0.09 ^a
	40～60 (調整群, n=4)	0.06± 1.60	0.04± 2.96	0.04± 2.95	0.02± 3.78 ^b

・値：幾何平均値±SD ・LOQ：0.02 µg/g
 ・a：n=1（蜂群数） ・b：n=3（蜂群数）

表 18 みつばちにおけるタイロシン酒石酸塩を 3 回散布投与後の巣蜜及び蜜蝋中残留濃度 (µg/g)

試料	投与群 (mg(力価)/20 g 混合物, 蜂群数)	試料採取時期			
		継箱設置時	設置後 4 週間	1 番蜜	蜜蝋
巣蜜	0 (対照群, n=1)	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
	200 (常用群, n=3)	4.97±1.24	1.15±1.97	—	5.20± 1.47
	40～60 (調整群, n=4)	0.67±1.44	0.22±1.65	0.21± 2.22 ^a	1.30± 1.13

・値：幾何平均値±SD ・LOQ：0.02 µg/g ・—：採取せず
 ・a：n=2（蜂群数）

みつばち（西洋みつばち雑種、成蜂数 7,000～17,000 匹/蜂群、対照群：3 蜂群、常用群：5 蜂群、3 倍量群：5 蜂群）にタイロシン酒石酸塩を 3 回混餌投与（育児箱 1 箱当たり、タイロシンとして 200 及び 600 mg(力価)/250 g 混合物（代用花粉との混合）、混合物のトレイ交換による投与 1 回/週）し、最終トレイ交換 1 週間後に継箱を設置し（成蜂数 1,0000 匹以上の場合）、余剰蜜、巣蜜及び蜜蝋中のタイロシン A 及び B の濃度を LC-MS/MS（LOQ：0.02 µg/g）を用いて測定した。

余剰蜜は、貯蜜量を観察し、最終トレイ交換 17 日後に 0 番蜜、65～80 日後

²³ タイロシン A 及びタイロシン B をタイロシン A に換算（換算係数 1.19）したものの合計値

に 1～2 番蜜を採取した。また、巣蜜は継箱設置時、1 又は 2 番蜜採取時に、蜜蝋は全試料採取後に採取し、測定試料とした。

結果を表 19、表 20 に示した。

常用群及び 3 倍量群ともに、余剰蜜のタイロシン濃度²⁴は、1 及び 2 番蜜では LOQ 未満であった。（参照 82、83）

表 19 みつばちにおけるタイロシン酒石酸塩を代用花粉により 3 回混餌投与後の余剰蜜中残留濃度 (µg/g)

試料	投与群 (mg(力価)/250 g 混合物, 蜂群数)	試料採取時期		
		0 番蜜	1 番蜜	2 番蜜
余剰蜜	0 (対照群, n=3)	<LOQ	<LOQ	<LOQ
	200(常用群, n=5)	0.19±1.72	<LOQ ^a	<LOQ ^b
	600(3 倍量群, n=5)	0.10±2.76	<LOQ ^c	<LOQ ^d

・ 値：幾何平均値±SD ・ LOQ：0.02 µg/g

・ a：n=2 ・ b：n=1 ・ c：n=4 ・ d：n=1（蜂群数）

表 20 みつばちにおけるタイロシン酒石酸塩を代用花粉により 3 回混餌投与後の巣蜜及び蜜蝋中残留濃度 (µg/g)

投与群 (mg(力価)/250 g 混合物, 蜂群数)	巣蜜		蜜蝋
	最終投与後 1 週	1 番蜜	
0 (対照群, n=3)	<LOQ	<LOQ	<LOQ
200(常用群, n=5)	0.11±4.89	0.10±0.03 ^a	0.13±1.12 ^b
600(3 倍量群, n=5)	0.22±2.67	0.04±3.61 ^c	0.48±1.14 ^d

・ 値：幾何平均値±SD ・ LOQ：0.02 µg/g

・ a：n=2 ・ b：n=2 ・ c：n=4 ・ d：n=3（蜂群数）

みつばち（西洋みつばち雑種、14,000～16,500 匹/蜂群、対照群：2 蜂群、常用群：5 蜂群）にタイロシン酒石酸塩を 3 回混餌投与（育児箱 1 箱当たり、タイロシンとして 200 mg(力価)/250 g 混合物(代用花粉との混合)、混合物のトレイ交換による投与 1 回/週）し、最終トレイ交換 1 週間後に継箱を設置し、余剰蜜、巣蜜及び蜜蝋中のタイロシン A 及び B の濃度を LC-MS/MS（LOQ：0.02 µg/g）を用いて測定した。

継箱設置後、成蜂数が大きく減少したため継箱内の貯蜜はみられず、継箱は除去されたことから、育児箱内の巣蜜の一部を余剰蜜（最終トレイ交換 15 日後に 0 番蜜、71 日後に 1 番蜜）として採取した。また、巣蜜は蜂児を含む巣板から継箱設置時及び 1 番蜜採取時に、蜜蝋は全試料採取後に採取し、測定試料とした。

²⁴ タイロシン A 及びタイロシン B をタイロシン A に換算（換算係数 1.19）したものの合計値

結果を表 21、表 22 に示した。

余剰蜜のタイロシン濃度²⁵は、1 番蜜で LOQ 付近の値であった。（参照 82、83）

表 21 みつばちにおけるタイロシン酒石酸塩を代用花粉により 3 回投与後の余剰蜜中残留濃度 (μg/g)

投与群 (mg(力価)/250 g 混合物, 蜂群数)	余剰蜜	
	0 番蜜	1 番蜜
0 (対照群, n=2)	<LOQ	<LOQ
200(常用群, n=5)	0.20±2.29	0.02±2.28

・ 値：幾何平均値±SD

・ LOQ：0.02 μg/g

表 22 みつばちにおけるタイロシン酒石酸塩を代用花粉により 3 回投与後の巣蜜及び蜜蝋中残留濃度 (μg/g)

投与群 (mg(力価)/250 g 混合物, 蜂群数)	巣蜜		蜜蝋
	最終投与後 1 週	1 番蜜採取時	
0 (対照群, n=2)	<LOQ	<LOQ	<LOQ
200(常用群, n=5)	0.16±2.94	0.03±2.76	0.06±2.68 ^a

・ 値：幾何平均値±SD

・ LOQ：0.02 μg/g ・ n=3（蜂群数）

（8）残留試験（はちみつ、蜂児）

粉砂糖による散布投与と代用花粉による混餌投与で、タイロシンの蜂児に移行する量を比較することを目的とし、みつばち（西洋みつばち雑種、40,000 匹/蜂群、対照群：2 蜂群、粉砂糖及び代用花粉投与群：各 6 蜂群）を用いたタイロシンの 3 回投与試験が実施された。粉砂糖投与群は、3 回散布投与（育児箱 1 箱当たり、タイロシンとして 200 mg(力価)/20g 混合物(粉砂糖との混合)、1 回/週）し、代用花粉投与群は、3 回混餌投与（育児箱 1 箱当たり、タイロシンとして 200 及び 400 mg(力価)/250 g 混合物(代用花粉との混合)、混合物のトレイ交換による投与 1 回/週）した。蜂児は各投与 1 週間後（投与開始 7、14、21 日後）、巣蜜は投与開始 7、21 日後、余剰蜜は投与開始 21 日後に継箱設置後、1、2、3 週後に採材し、採取した試料は LC-MS/MS を用いてタイロシン A 及び B の濃度を測定した。得られたデータは、タイロシン A + B でタイロシンとしての濃度を算定した。

結果を表 23、表 24、表 25 に示した。

²⁵ タイロシン A 及びタイロシン B をタイロシン A に換算（換算係数 1.19）したものの合計値

蜂児中のタイロシン濃度は、投与開始 21 日後では、代用花粉 200 mg 投与群は 400 mg 投与群に比較して有意に高値であり、粉砂糖投与群と代用花粉 400 mg 群の間に差はみられなかった。

巣蜜中濃度は、投与開始 7 及び 21 日後いずれにおいても、粉砂糖投与群が、代用花粉投与群よりも高値であった。

余剰蜜中濃度は、継箱開始 1 から 3 週間での粉砂糖投与群の平均値は 0.57～1.19 µg/g であり、代用花粉 400 mg 投与群での平均値は 0.04～0.11 µg/mL であった。なお、対照群からは採材できず、代用花粉 200 mg 投与群では 1 蜂群以外は採材できなかった。

代用花粉による混餌投与では、粉砂糖による散布投与と比較し、蜂児中のタイロシン濃度は同等であったものの、余剰蜜及び巣蜜中の濃度は減少した。(参照 82、83)

表 23 蜂児中のタイロシン濃度 (µg/g)

投与量 (mg(力価))	採取日 (濃度, µg/g)		
	第 1 回投与 7 日後	第 2 回投与 7 日後	第 3 回投与 7 日後
	試験 7 日	試験 14 日	試験 21 日
対照群	<0.01	<0.01	<0.01
粉砂糖 (200)	0.04±3.04	0.08±2.50	0.07±1.97
代用花粉 (200)	0.06±13.10	0.10±5.92	0.22±1.48
代用花粉 (400)	0.02±3.66	0.03±5.06	0.03±3.99

値：幾何平均値±SD

表 24 巣蜜中のタイロシン濃度 (µg/g)

投与量 (mg(力価))	採取日(濃度, µg/g)	
	第 1 回投与 7 日後	第 3 回投与 7 日後
	試験 7 日	試験 21 日
対照群	<0.02	—
粉砂糖 (200)	0.54±8.83	3.21±2.18
代用花粉 (200)	0.07±4.09	0.10±5.65
代用花粉 (400)	0.16±1.88	0.23±3.62

・ 値：幾何平均値±SD

・ —：採取せず

表 25 余剰蜜中のタイロシン濃度 (μg/g)

投与量 (mg(力価))	採取日 (濃度, μg/g)		
	第 1 回	第 2 回	第 3 回
粉砂糖 (200)	1.19±1.27	1.10±2.66	0.57±3.43
代用花粉 (200)	—	0.23	—
代用花粉 (400)	0.11±1.82	0.07±1.95	0.04±4.14

- ・ 値：幾何平均値±SD
- ・ —：採取せず

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 26 にまとめた。

表 26 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>	遺伝子突然変異試験	L5178Y マウスリンパ腫細胞	10～1,000 μg/mL(-S9) 10～750 μg/mL(+S9)	陽性 ^a
		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	マウス骨髓細胞	1,250、2,500、5,000 mg/kg 体重/日：2 日間経口投与	陰性

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

CHO 細胞を用いた遺伝子突然変異試験及び染色体異常試験並びにマウス骨髓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遺伝子突然変異試験では、代謝酵素非存在下において、変異頻度が、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 細胞を用いた遺伝子突然変異試験では、マウスリンパ腫細胞を用いた遺伝子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、変異頻度の増加は観察されなかった。

以上のことから、食品安全委員会は、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 27 に示した。(参照 2、7、57、58)

表 27 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 100,000ppm）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、100,000ppm 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。

10,000ppm 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 10,000ppm）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、5,000ppm 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 10,000ppm 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、1,000ppm (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 10,000ppm) による慢性毒性試験が実施された。10,000ppm 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 10,000ppm 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、10,000ppm 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 1,000ppm) 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 1,000ppm 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 10,000ppm) による慢性毒性試験が実施された。

10,000ppm 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、10,000ppm 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、100ppm (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 200,000ppm) による慢性毒性試験が実施された。

100,000ppm 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。

200,000ppm 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 10,000ppm）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%）になったが、用量依存性はなかった。

5,000ppm 以上投与群の雌雄で摂餌量が増加し、10,000ppm 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 10,000ppm 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 28）。試験 1 の 5,000ppm 投与群と試験 2 の 10,000ppm 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 28 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
試験 1	1/60	3/40	10/40 ^{ab}	8/40 ^b
試験 2	5/60	6/40	8/40	12/40 ^{ab}

a：背景データより高い発生率

b：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、10,000ppm) 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 10,000ppm (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 10,000ppm) 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 10,000ppm 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 10,000ppm (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 10,000ppm) 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 10,000ppm 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、10,000ppm 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 (LOD : 0.1 µg/mL)。

本試験における NOAEL は、最高用量である 10,000ppm (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 100,000ppm）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 100,000ppm）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 100,000ppm 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。100,000ppm 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、100,000ppm 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、10,000ppm（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 750ppm）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 3,300ppm（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 1,500ppm）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 5,000ppm）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 5,000ppm）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 1,500ppm）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 29 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 µg/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 29 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 ^a	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

^a：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 5×10⁶ CFU/spot における MIC が調べられている (表 30)。(参照 67)

表 30 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 ($\mu\text{g/mL}$)	
		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	$\leq 0.06 \sim 4$
<i>Eubacterium</i> sp.	20	≤ 0.06	$\leq 0.06 \sim 0.25$
<i>Clostridium</i> sp.	30	4	0.5~>128
<i>Peptococcus</i> sp./ <i>Peptostreptococcus</i> sp.	30	0.25	$\leq 0.06 \sim 2$
<i>Prevotella</i> sp.	20	0.25	$\leq 0.06 \sim 1$
<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 $\mu\text{g/mL}$ 以下であった。本調査結果から MICcalc²⁶は 0.308 $\mu\text{g/mL}$ (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 $\mu\text{g/mL}$ (0.3 $\mu\text{g/mL}$ 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、実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

²⁶ 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

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）

1 2. 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则认为られる。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ミコシンであった。糞中の主要物質はタイロシン D 及びジヒドロデスミコシンで、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。粉砂糖による散布投与は、成蜂数に応じて投与量を調整することで、余剰蜜、巣蜜及び蜜蝋いずれも、残留濃度は減少した。また、代用花粉による混餌投与は、粉砂糖による散布投与と比較して蜂児中の濃度は同等であったものの、余剰蜜及び巣蜜中の残留濃度は減少した。

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、5,000ppm 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 1,000ppm (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、10,000ppm (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 100ppm (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 10,000ppm (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 10,000ppm) 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 500 mL/日、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。

$$\text{ADI} = \frac{0.000308^{*1} \times 500^{*2}}{0.224^{*3} \times 60^{*4}} = 0.011 \text{ mg/kg 体重/日}$$

*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
の下限值

*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 (0.011 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、0.011 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 0.011 mg/kg 体重/日

表 31 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、10,000ppm・塩基 混餌投与	1,500 (10,000ppm) 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、 10,000ppm・塩基 混餌投与	39 (1,000ppm) 5,000ppm 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、 10,000ppm・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、1,000ppm・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、200,000ppm・塩基 混餌投与	— 100,000ppm 以上で体重増加抑制、摂餌量低下。200,000ppm は 12 か月以内に全例死亡。
	2 年間慢性毒性試験	0、100、10,000ppm・塩基 混餌投与	5 (100ppm) 10,000ppm 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、 10,000ppm・塩基 混餌投与	402 (10,000ppm) 雄ラット (反復試験 1 の 5,000ppm 投与群、反復試験 2 の 10,000ppm 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、10,000ppm・塩基 混餌投与	500 (10,000ppm) 投与の影響なし。
	生殖毒性試験	0、1,000、5,000、 10,000ppm・塩基 混餌投与	635 (10,000ppm) 投与の影響なし。
	発生毒性試験	0、1,000、10,000、 100,000ppm・塩基 混餌投与	725 (10,000ppm) 100,000ppm 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、5,000ppm・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、5,000ppm・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、3,300ppm(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、1,500ppm・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、1,500ppm・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、750ppm・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 32 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、10,000ppm 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、5ppm 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、10,000ppm) 混餌投与	50 (1,000ppm) 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	～200,000ppm・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、10,000ppm) 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、10,000ppm・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、10,000ppm) 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、100,000ppm) 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
LOD	Limit of Detection：検出限界
LOQ	Limit of Quantification：定量限界
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
PQL	Practical Quantitation Limit：実用的定量限界
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：R-12（未公表）

- [illegible]

- [illegible]

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. AustralianGovernment: ADI List, Acceptable daily intakes for

agricultural and veterinary chemicals. 2015

80. 食品、添加物等の規格基準の一部を改正する件（平成 29 年厚生労働省告示第 249 号）
81. タイラン水溶散の残留試験成績 平成 30 年 10 月 25 日（平成 31 年 1 月 16 日改訂）農林水産省消費・安全局畜水産安全管理課
82. エランコジャパン株式会社. 動物用医薬品製造販売事項変更承認申請資料
タイラン水溶酸みつばち 概要書（未公表）
83. エランコジャパン株式会社. 動物用医薬品製造販売事項変更承認申請資料
タイラン水溶酸みつばち 添付資料（未公表）

タイロシンに係る食品健康影響評価に関する審議結果(案)についての意見・情報の募集結果について

1. 実施期間 令和5年 8月30日～令和5年 9月28日
2. 提出方法 インターネット、ファックス、郵送
3. 提出状況 1通
4. 頂いた意見・情報及び食品安全委員会の回答

	頂いた意見・情報	食品安全委員会の回答
1	ヒトへの医薬品としては使用されていないと のことですが、ヒトへの知見のなかで「健常な 成人におけるタイロシンの3か月間経口投与 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。」としています。細菌数の変動 が大きかったこととタイロシンに投与の関 係をあっさり否定する根拠は何でしょうか？ さらには、「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」と示唆された」ので あれば、使用および使用基準について、もっと慎重 に安全性に余裕をもって設定すべきでしょ う。	食品安全委員会は、国民の健康の保護が最も 重要であるという基本的認識の下、規制や指 導等のリスク管理を行う関係行政機関から 独立して、科学的知見に基づき客観的かつ中 立公正に食品に含まれる可能性のある危害 要因が人の健康に与える影響について食品 健康影響評価を行っています。 本成分については、「動物用医薬品に関する 食品健康影響評価指針」（平成30年4月10 日食品安全委員会決定）に基づき評価を行 いました。 本評価書の「ヒトにおける知見」は、いづれ も JECFA（FAO/WHO 合同食品添加物専門家会 議）レポートの内容を全て記載したもので す。JECFA の記述によると、タイロシンの経 口投与の前から細菌数の変動を継続して測 定しており、その変動にタイロシン投与によ る影響はみられなかったとされています。 また、食品安全委員会では、抗菌性物質であ るタイロシンが、畜水産物を介してヒトに摂 取された際の腸内細菌叢に与える影響を考 慮する必要があるため、最小発育阻止濃度 （MIC）から微生物学的 ADI を設定していま す。本評価では、タイロシンの微生物学的 ADI は、毒性学的 ADI 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、微生物学的 ADI を採用しており、微生物 学的な影響も勘案された結論になっていま す。 また、本成分の使用及び使用基準の設定に関 するご意見は、リスク管理に関するものと考 えられることから、農林水産省及び厚生労働 省に情報提供いたします。

※頂いたものをそのまま掲載しています。