（案）

動物用医薬品評価書

グリチルリチン酸モノアンモニウムを有効成分とする牛の乳房注入剤（マストリチン）

２００７年１０月

食品安全委員会　動物用医薬品専門調査会

目次

		頁
○　審議の経緯	・・・・・・・・・・	２
○　食品安全委員会委員名簿	・・・・・・・・・・	２
○　食品安全委員会動物用医薬品専門調査会専門委員名簿	・・・・・・・・・・	２
１．はじめに	・・・・・・・・・・	３
２．マストリチンについて	・・・・・・・・・・	３
３．安全性に関する知見等について	・・・・・・・・・・	３
４．食品健康影響評価について	・・・・・・・・・・	４
５．参考資料	・・・・・・・・・・	４

（別添）　（案）動物用医薬品評価書　グリチルリチン酸モノアンモニウム

〈審議の経緯〉

2007 年 4 月 20 日	農林水産大臣より製造承認に係る食品健康影響評価について要請（18 消安第 14995 号） 厚生労働大臣より残留基準設定に係る食品健康影響評価について要請（厚生労働省発食安第 0420001 号）
2007 年 4 月 23 日	関係書類の接受
2007 年 4 月 26 日	第 188 回食品安全委員会（要請事項説明）
2007 年 5 月 30 日	第 75 回動物用医薬品専門調査会
2007 年 7 月 20 日	第 79 回動物用医薬品専門調査会
2007 年 10 月 18 日	第 211 回食品安全委員会（報告）

〈食品安全委員会委員名簿〉

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

〈食品安全委員会動物用医薬品専門調査会専門委員名簿〉

（平成19年9月30日まで）

三森　国敏　（座長）
井上　松久　（座長代理）

青木　宙	寺本　昭二
明石　博臣	長尾　美奈子
江馬　眞	中村　政幸
小川　久美子	林　真
渋谷　淳	平塚　明
嶋田　甚五郎	藤田　正一
鈴木　勝士	吉田　緑
津田　修治	

（平成19年10月1日から）

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

グリチルリチン酸モノアンモニウムを有効成分とする牛の乳房注入剤（マストリチン）の食品健康影響評価について（案）

1. はじめに

食品安全委員会は食品安全基本法（平成 15 年法律第 48 号）第 24 条第 1 項第 8 号の規定に基づき農林水産大臣から「グリチルリチン酸モノアンモニウムを有効成分とする乳房注入剤（マストリチン）」について意見を求められた。（平成 19 年 4 月 23 日に関係書類を接受）

2. マストリチンについて (1)

① 主剤

主剤はグリチルリチン酸モノアンモニウムである。

② 効能・効果

適応症は、牛の泌乳期乳房炎における炎症の改善である。

③ 用法・用量

1 分房当たり 10ml（グリチルリチン酸として 600mg）を泌乳期の乳房炎発症乳房内に 1 症例につき 1 回注入する。本剤投与後、直ちに泌乳期用乳房注入剤（有効成分セファゾリン）を用法・用量に従って投与する。

食用に供する目的で出荷等行わない期間は牛：3 日間、牛乳：72 時間としている。

3. 安全性に関する知見等について (2) (3)

マストリチンの有効成分はグリチルリチン酸モノアンモニウムである。グリチルリチン酸モノアンモニウムは、国内では、食品添加物及び肝臓疾患用剤や漢方薬等の医薬品として使用され、海外でも医薬品や食品添加物として幅広く使用されている。

2005 年の第 63 回 JECFA の評価では、「100mg/日を摂取した成人の大多数では悪影響を生じないだろう。しかし、感受性の高い群ではこの量より低いレベルの暴露で生理的影響が生じる可能性がある。」とし、感受性の高い群についての十分な情報がないことから ADI を設定していない。

EC においても ADI は現在設定されていない。1991 年の EC の評価では「通常の摂取量は 100mg/日を超えるべきでない。」としており、2003 年には「通常の摂取量の上限 100mg/日は大部分の人にとって十分な水準と考えられている。」としている。

1985 年に FDA は、グリチルリチンを「一般に安全と認められる」(GRAS:Generally Recognized as Safe)物質として確認しており、食品添加物として食品分類別の使用量の上限を定めている。

【ウシにおける安全性試験】[(4)]

グリチルリチン製剤と抗生剤の併用の安全性を確認するため、泌乳牛（Holstein 3頭/群）に 3 日間連続の乳房内投与試験（抗生剤＋グリチルリチン酸モノアンモニウムをグリチルリチン酸として 600mg、抗生剤＋グリチルリチン酸として 1800mg、抗生剤のみ、無投与）が実施された。どの投与群でも乳房や乳頭を含むウシの一般状態、体温、体重、飼料摂取量、乳量、尿検査、血液学検査及び血液生化学検査において変化は認められず、投与による影響は認められなかった。

4. 食品健康影響評価について

本製剤は牛の乳房に注入して使用されるが、国内においては詳細な毒性評価が実施されておらず、食用動物に動物用医薬品としての使用歴もないことから、グリチルリチン酸モノアンモニウムについて別添のとおり食品健康影響評価を実施し、グリチルリチン酸モノアンモニウムの食品健康影響評価については、ADI を設定するにはいたらないとされた。

以上により、本製剤が動物用医薬品として適切に使用されるに限りおいては、動物用医薬品を由来とするグリチルリチン酸が食品を通じてヒトの健康に影響を与える可能性は無視できるものと考えられる。

5. 参考資料

⑴マストリチン動物用医薬品製造承認申請書（未公表）

⑵WHO Technical Report Series 928「EVALUATION OF FOOD ADDITIVES」 Sixty-third of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives

⑶OPINION OF THE SCIENTIFIC COMMITTEE ON FOOD ON GLYCYRRHIZINIC ACID AND ITS AMMONIUM SALT

⑷マストリチン動物用医薬品製造承認申請書添付資料：安全性に関する資料（未公表）

別添

（案）

動物用医薬品評価書

グリチルリチン酸モノアンモニウム

2007年10月

食品安全委員会　動物用医薬品専門調査会

目次

		頁
・審議の経緯	・・・・・・・・・・	２
・食品安全委員会委員名簿	・・・・・・・・・・	２
・食品安全委員会動物用医薬品専門調査会専門委員名簿	・・・・・・・・・・	２
・要約	・・・・・・・・・・	３
１．薬剤の概要	・・・・・・・・・・	４
２．毒性試験の概要		
2-1. 吸収・分布・代謝・排泄	・・・・・・・・・・	５
2-2. 毒性試験	・・・・・・・・・・	８
⑴急性毒性試験	・・・・・・・・・・	８
⑵亜急性毒性試験	・・・・・・・・・・	９
⑶慢性毒性及び発がん性試験	・・・・・・・・・・	９
⑷生殖毒性及び催奇形性試験	・・・・・・・・・・	１０
⑸遺伝毒性試験	・・・・・・・・・・	１１
⑹その他	・・・・・・・・・・	１２
３．食品健康影響評価について	・・・・・・・・・・	１５
４．参考資料	・・・・・・・・・・	１６

〈審議の経緯〉

2007 年 4 月 20 日	厚生労働大臣より残留基準設定に係る食品健康影響評価について要請（厚生労働省発食安第 0420001 号）
2007 年 4 月 23 日	関係書類の接受
2007 年 4 月 26 日	第 188 回食品安全委員会（要請事項説明）
2007 年 5 月 30 日	第 75 回動物用医薬品専門調査会
2007 年 7 月 20 日	第 79 回動物用医薬品専門調査会
2007 年 10 月 18 日	第 211 回食品安全委員会（報告）

〈食品安全委員会委員名簿〉

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

〈食品安全委員会動物用医薬品専門調査会専門委員名簿〉

（平成19年9月30日まで）

三森　国敏　　(座長)
井上　松久　　(座長代理)

青木　宙	寺本　昭二
明石　博臣	長尾　美奈子
江馬　眞	中村　政幸
小川　久美子	林　　眞
渋谷　淳	平塚　明
嶋田　甚五郎	藤田　正一
鈴木　勝士	吉田　緑
津田　修治	

（平成19年10月1日から）

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

要　　約

「グリチルリチン酸モノアンモニウム（Monoammonium Glycyrrhizinate）」について、食品健康影響評価を実施した。

評価に供した試験成績は、動物代謝・残留（マウス、牛)、急性毒性（ラット、マウス)、亜急性毒性（ラット、ヒト)、慢性・発がん性（マウス)、生殖毒性（ラット、マウス)、催奇形性試験（ラット）及び遺伝毒性試験である。

遺伝毒性試験においては *in vitro* の染色体異常試験において一部陽性が認められたが、*in vivo* のマウス骨髄小核試験は陰性であったことから、生体にとって問題となる遺伝毒性を示す可能性は低いと考えられた。マウスを用いた発がん性及びラットにおける催奇形性は認められず、各毒性試験の無影響量の最小値はヒト毒性試験の 2mg/kg 体重/日であった。

本成分を主成分とする動物用医薬品製剤は、乳房炎の治療として乳房炎発症乳房内に 1 症例に 1 回投与することとされ、使用機会が限定されている。また、本製剤の休薬期間である 72 時間後のウシの乳汁中残留試験の結果から得られた 1 日摂取量は、JECFA 及び EU で示している 1 日摂取量 100mg/人/日、CEM van Gelderen *et al.*で設定された ADI である 10 mg/人/日を十分下回っている。

以上より、グリチルリチン酸モノアンモニウムが動物用医薬として適切に使用される限りにおいては、動物用医薬品を由来とするグリチルリチン酸が食品を通じてヒトの健康に影響を与える可能性は無視できるものと考えられる。

グリチルリチン酸モノアンモニウムの食品健康影響評価について（案）

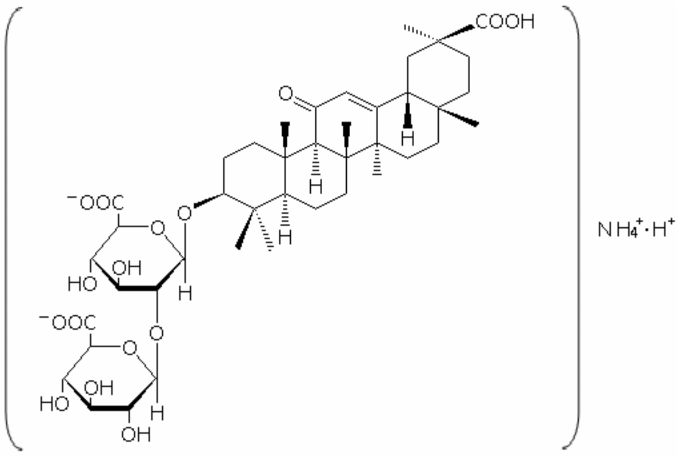
１． 薬剤の概要[(1)(2)]

(1) 物質名

グリチルリチン酸モノアンモニウム（Monoammonium Glycyrrhizinate）

(2) 構造式

グリチルリチン酸モノアンモニウム



(3) 分子式

$C_{42}H_{65}NO_{16}$

(4) 分子量

839.97

(5) 性状

白色～微黄色の結晶性の粉末で、匂いはなく、特異な甘味がある。熱水（100℃）には溶けやすいが水（20℃）には溶けにくく、エタノールには殆ど溶けない。

(6) 融点

207~207.5℃

(7) 使用目的及び使用状況等

グリチルリチン酸は、甘草由来物質で、ヒスタミン（血管透過性の亢進や血管拡張を招く）やロイコトリエン等（好中球等の乳汁中への遊走を促す）の炎症誘起因子の産生を抑制することにより、炎症を速やかに改善する。さらに、サイトカイン誘導能及び調節能、抗ウイルス作用、胸腺外 T 細胞の活性化作用、肝機能の改善作用などのほか様々な生物学的作用が報告されている。

グリチルリチン酸モノアンモニウムは、国内では、食品添加物及び肝臓疾患用剤、アレルギー用薬、漢方薬などとして使用され、海外でも医薬品、食品添加物として幅広く使用されている。また、ヒトにおいては、グリチルリチン酸を多く含有する

医薬品の大量使用、或いは長期連用による偽アルドステロン症（低カリウム血症、血圧上昇、ナトリウム・体液の貯留、浮腫、体重増加等）が報告されている。

２．毒性試験の概要

毒性試験では、被験物質としてグリチルリチン酸モノアンモニウムのほか、グリチルリチン酸二ナトリウム、グリチルリチン酸またはグリチルリチン酸アンモニウムが使用されているが、これらは化学構造から胃内の強酸性下では大半が結合型のグリチルリチン酸として存在することが推察されることから、これら物質は同様の体内動態および毒性を示すと考えられている。

2-1. 吸収・分布・代謝・排泄

グリチルリチン酸そのものはヒトの胃や腸管からはほとんど吸収されないが、腸内細菌により加水分解され代謝物であるグリチルレチン酸として吸収される。

^{3}H-グリチルリチン酸モノアンモニウムをヒトに経口投与すると、投与後 24 時間で糞便中にほぼ全てが排泄され(98%)、尿中にはほとんど排泄されず(0.8%以下)、糞便中からはグリチルレチン酸のみしか検出されないとされている。[3]

ヒトにグリチルリチン酸製剤（グリチルリチン酸 100mg）を経口投与した結果、グリチルリチン酸濃度は誤差範囲で明確にできなかったが、グリチルレチン酸は静脈投与よりも血中濃度が高く、最高血中濃度が 2 回確認することができる。1 回目は投与後 1～4 時間(50～500μg/ mL 程度)、2 回目は 10～24 時間後(200～500μg/mL)であった。尿中におけるグリチルリチン酸濃度は 10 時間までの採尿しか行っていないが、10 時間までの尿中にはグリチルリチン酸及びグリチルレチン酸はほとんど検出されなかった。[4]

ラットとヒトの研究結果から、グリチルリチン酸及びその加水分解により生成されるグリチルレチン酸はどちらもその大部分が血漿中に存在しているということが判明している。グリチルリチン酸及びグリチルレチン酸は血漿中で血清アルブミンと結合し、ある一定の限度を超えない限り組織に吸収されないとされている。[5]

【マウスにおける投与試験】[6]

ICR マウス（6 週齢　雄）100 匹（10 匹/群）に ^{3}H 標識したグリチルリチン製剤（グリチロン注一号）を尾静脈内投与（7.1μCi/0.1ml）し、肝臓、腎臓、肺、心臓、副腎、糞便、尿中の放射活性量を投与後 24 時間まで経時的に測定した。採取した全ての臓器で投与後 10 分に放射活性の最高値が認められ、肝臓が最も高かった。総投与放射能値を 100 とした場合、肝臓では投与後 10 分に最高値（36.06）となったが、その後漸次減少し、投与後 8 時間では最高値の 20%まで減少した。腎臓、

肺、心臓では投与後 30 分で各最高値（3.80、1.27、0.56）の約 30%に低下した。血中では投与後 18 時間までに最高値の 10%まで低下した。投与後 24 時間までに尿から全投与量の 30%が、糞便からは 7%が排泄された。

ICR マウス（6 週齢　雄）80 匹（10 匹/群）に ^3H 標識したグリチルリチン製剤（強力ネオミノファーゲンシー）を尾静脈内投与（7.1μCi/0.1ml）し、生体内、糞便、尿中の放射活性量を投与後 24 時間まで経時的に測定した。採取した全ての臓器で投与後 10 分に放射活性が認められ、肝臓が最も高かった。総投与放射能値を 100 とした場合、肝臓では投与後 10 分に最高値（62.29）となったが、30 分で最高値の 46%になり、1 時間後に一端上昇した後時間経過と共に減少した。腎臓、肺では投与後 10 分でそれぞれ最高値（3.70、2.68）を示し、時間の経過と共に減少した。心臓では 30 分に最高値（0.16）を示した。副腎では 10 分後と 18 時間後に最高値(0.003)を示し、以後波状曲線状に推移した。血液では 10 分後に最高値となり、以降比較的急減した。尿では 30 分後に最高値となった。

ICR マウス（6 週齢　雄）80 匹（10 匹/群）に ^3H 標識したグリチルリチン製剤（グリチロン錠二号末）を経口投与（0.1ml の水に 21μCi/1.8mg を懸濁）し、生体内、糞便、尿中の放射活性量を投与後 24 時間まで経時的に測定した。投与後 10 分には、採取した全ての臓器で放射活性が認められ、総投与放射能値を 100 とした場合、最も放射活性の高かった肝臓では投与後 2 時間で最高値（2.8）となったが、投与後 24 時間に最高値の 23%まで低下した。他の臓器では、投与後 10 分~12 時間に最高値（腎臓 0.15、肺 0.22、心臓 0.03、副腎 0.001）に達し、その後減少した。血中では、投与後 1 時間で最高値に達した。尿への投与放射能値は 10 分後には認められ、1 時間後に最高値に達し、18 時間後には最高値の 10%以下となった。糞便では、6 時間後から最高値が認められ、24 時間後にはその 10%以下となった。

【ウシにおける吸収試験】[6]

搾乳牛（Holstein）3 頭にグリチルリチン製剤を乳房内単回投与（グリチルリチン酸モノアンモニウムをグリチルリチン酸として通常用量の 2 倍量である 1,200mg/分房を 4 分房に投与）し、直ちにセファゾリン 150mg 力価（泌乳期用乳房注入剤）を投与した。投与後 120 時間まで経時的に血中濃度を調べた。グリチルリチンは投与後 1 時間までに血中に認められ、12 時間でピーク（5.0~9.7μg/g）に達した。その後血中濃度はゆっくりと低下し、投与後 72 時間の濃度は 0.14~0.32μg/g となり、120 時間後においても 3 頭中 2 頭で検出され（0.07、0.10μg/g）、検出限界値（0.05μg/g）未満になるには 120 時間以上必要であることがわかった。

【ウシにおける分布試験】[6]

搾乳牛（Holstein）3 頭にグリチルリチン製剤を乳房内単回投与（グリチルリチ

ン酸モノアンモニウムをグリチルリチン酸として通常用量の 2 倍量である 1,200mg/分房を 4 分房に投与）し、直ちにセファゾリン 150mg 力価（泌乳期用乳房注入剤）を投与した。投与後 12 時間後に主要臓器・組織中分布を調べた。投与後 12 時間後において、全個体の筋肉、脂肪、腎臓、肝臓及び小腸からグリチルリチン酸が検出され、その含有量は腎臓（平均 1.9μg/g :1.2~3.1）＞肝臓（1.3 :0.99~1.9）＞小腸（0.89 :0.59~1.4）＞脂肪（0.39 :0.37~0.43）＞筋肉（0.26 :0.21~0.36）の順であった。

【ウシにおける排泄試験】(6)

搾乳牛（Holstein）3 頭にグリチルリチン製剤を乳房内単回投与（グリチルリチン酸モノアンモニウムをグリチルリチン酸として通常用量の 2 倍量である 1,200mg/分房を 4 分房に投与）し、セファゾリン 150mg 力価（泌乳期用乳房注入剤）を投与した。投与後 72 時間まで経時的に糞便及び尿中への排泄を調べた。糞便においては、投与後 12 時間に 3 例中 2 例、24 及び 36 時間に 3 例中 1 例から微量に検出された。48 時間以降は、全ての試料が検出限界値（0.05μg/g）未満であった。尿においては、投与後 0.5 日の全例で検出され、その濃度は緩やかに低下したが投与後 3 日においても全例から微量（0.05～0.1μg/g）が検出された。

【ウシにおける乳汁中残留試験】(7)

搾乳牛（Holstein）6 頭（3 頭/群）にグリチルリチン製剤を乳房内単回投与（グリチルリチン酸モノアンモニウムをグリチルリチン酸として通常用量の 600mg/分房 又は 通常用量の 2 倍量である 1,200mg/分房を 4 分房に投与）し、直ちにセファゾリン 150mg 力価（泌乳期用乳房注入剤）を投与した。投与後 240 時間まで経時的に乳汁中のグリチルリチン酸の残留量を調べた。

両群ともに投与後 12 時間で高濃度（平均 162, 288μg/g）に検出された後減衰し、600mg 投与群では投与後 72 時間で平均 0.08μg/g(0.05～0.1μg/g)となり 1,200mg 投与群では平均 1.4μg/g(0.05～4.0μg/g)まで減衰した。その後、それぞれ投与後 108 時間、132 時間で全例が検出限界値（0.05μg/g）未満となった。

同じ試験を異なる搾乳牛（Holstein）6 頭（3 頭/群）に実施した。両群ともに投与後 12 時間で高濃度（平均 146, 227μg/g）に検出された後、投与後 72 時間に 600mg 投与群では 3 頭のうち 2 頭が検出限界値（0.05μg/g）未満となり、1 頭は 0.15μg/g まで減衰し投与後 96 時間で検出限界値未満となった。1,200mg 投与群では投与後 72 時間に 3 頭のうち 1 頭が検出限界値未満となり、残り 2 頭の平均は 0.15μg/g であった。その後、108 時間で全例が検出限界値(0.05μg/g)未満となった。

【ウシにおける抗生剤併用時の残留・吸収試験】(6)

健康な搾乳牛（Holstein）2 頭を用いて、グリチルリチン酸とセファゾリンの単

回投与試験（グリチルリチン酸として通常用量の２倍量である 1,200mg/分房を全分房に投与、グリチルリチン酸 1200mg/分房＋セファゾリン 150mg（併用）、セファゾリン 150mg）を行い、経時的に乳汁中及び血清中のグリチルリチン酸及びセファゾリン濃度を調べた。同じ牛にグリチルリチン酸単独投与を１回、併用及びセファゾリン単独投与を各３回（セファゾリン製剤を３種類）10 日間隔で行った。

乳汁中のグリチルリチン酸濃度は、グリチルリチン酸単独投与においては、投与後 12 時間にピーク（500.4～752.1μg/ml）に達し、72 時間後に 0.1.～0.2μg/ml まで低下し、96 時間後検出限界値(0.1μg/ml)未満になった。併用群においては、投与後 12 時間後にピーク（324.6～719.4μg/ml）に達し、72 時間後に 2 例で検出限界値未満、3 例で 0.1～0.2μg/ml、1 例で 0.9μg/ml、84 時間後に 5 例で検出限界値未満となった。

血清中のグリチルリチン酸濃度はグリチルリチン酸単独投与においては 72 時間後で 0.4～0.5μg/ml、併用群においては 72 時間後で 0.3～0.6μg/ml であった。

乳汁中のセファゾリン濃度は、セファゾリン単独投与においても、併用においても、72 時間後、全例で検出限界値未満となった。血清中のセファゾリン濃度はセファゾリン単独投与においても併用においても 9 時間後に検出限界値未満となった。

【ウシの乳房中における代謝・残留量】[8]

乳房炎に罹っているウシ及び健康なウシの乳房に投与（マストリチン常用量：グリチルリチン酸 600mg/分房）後、乳房中のグリチルリチン酸及びグリチルレチン酸について濃度を調べた。グリチルリチン酸の投与 3 日後の残留量に関しては健康なウシの乳房と乳房炎に罹っている乳房との差は認められず､0.05～0.09μg/mL(検出限界値値 : 0.05μg/mL)の範囲であった。また、グリチルリチン酸の代謝物としてのグリチルレチン酸は乳房炎乳房では検出されなかった｡(検出限界値 : 0.03μg/mL)このことから､乳房内においてはグリチルリチン酸からグリチルレチン酸への代謝が起こらないと考えられる。

2-2. 毒性試験

(1) 急性毒性試験[9]

Std:Wistar 系ラット（8 週齢　雌）におけるグリチルリチン酸の急性毒性は、経口投与では極めて低く、LD_{50} は 2,000mg/kg 以上と算出された。一方、腹腔内投与の LD_{50} は 300~500mg/kg と算出された。

Wistar 系ラットにおけるグリチルリチン酸モノアンモニウム単回経口投与試験の LD_{50} は 10,000mg/kg 以上となった。BALB/c マウス（雄雌）における同試験での LD_{50} は雌が 9,818mg/kg、雄が 10,214mg/kg で、単回腹腔内投与試験での LD_{50} は雌雄とも 300mg/kg 以上となった。

(2) 亜急性毒性試験

【ラットを用いた 30 日間亜急性毒性試験】[9]

Wistar 系ラット（雌雄各 20 匹/群）を用いたグリチルリチン酸モノアンモニウムの経口投与（0、7、28mg/kg 体重/日）による 30 日間亜急性毒性試験において認められた毒性所見は以下のとおりであった。

両投与群において死亡例は認められず、症状、血液、血液生化学的検査及び臓器重量において有意差は認められなかった。28mg 投与群では、脳及び腎臓内の酵素活性値の軽微な変化と肝臓での好酸性壊死が認められた。本試験におけるラットの NOAEL は 7mg/kg であった。

【反復投与毒性試験】[10]

マウス(種類不明、雌、40 匹/群)を用いたグリチルリチン酸を 30 mg/kg 体重、18-βグリチルレチン酸及び 18-βグリチルレチン酸を 15 mg/kg 体重投与するように各物質を水で溶解し、30 日間飲水投与した。対照群には水のみを与えた。うち 10 匹は投与前に剖検し、1 群あたり投与後 15 日及び 30 日に 15 匹ずつ剖検し、投与終了後 30 日に 1 群あたり 10 匹剖検した。認められた毒性所見は以下のとおりであった。

心筋の不可逆的な障害(急性毒性試験より軽度)は、グリチルリチン酸及び 18-βグリチルレチン酸投与後 15 及び 30 日に観察された。グリチルリチン酸及び 18-βグリチルレチン酸投与後 15 日に腎尿細管の結石及び肺の気管支関連リンパ組織の軽微な肥大が認められたが、18-βグリチルレチン酸では認められなかった。

18-βグリチルレチン酸投与後 30 日の尿所見では、ナトリウム、カリウム、カルシウム濃度がわずかに上昇した。投与終了 30 日の尿中電解質は、18-βグリチルレチン酸投与群のラットで正常化したが、18-βグリチルレチン酸投与群では悪化が認められた。全群投与後、15 及び 30 日に血漿中ナトリウムの上昇が認められたが、終了後 30 日に全群ともに正常値に回復した。著者らは、18-βグリチルレチン酸の方が 18-βグリチルレチン酸よりも毒性がかなり強いと考察しているが、毒性の機序に関する言及はなかった。心臓への作用が直接の作用であるか。また、レニン-アンジオテンシン系の変化による二次的な作用であるか明らかになっていない。

(3) 慢性毒性及び発がん性試験[11]

マウスを用いた慢性毒性・発がん性試験が実施されているが、ラットでの癌原性試験に関する情報は得られていない。

【マウスを用いた 96 週間慢性毒性・発がん性試験】

B6C3F1 マウス(雌雄、8 週齢、50～70 匹/群)を用いたグリチルリチン酸二ナトリ

ウムの飲水投与（雄：0,40,80,150mg/L(投与量換算；0,71,166,229mg/kg 体重/日)、雌：0,80,150,300 mg/L(投与量換算；0,117,217,407mg/kg 体重/日))による 96 週間癌原性試験において認められた毒性所見は以下のとおりであった。

対照群と比較して、投与群で雄に飲水量の減少が認められた。死亡率、体重について投与群と対照群に有意差は認められなかった。両性ともに腫瘍発生率及び発生時期に影響は認められなかった。試験で観察された腫瘍は、雄で肝細胞腫瘍であり、雌ではリンパ性白血病であったが、投与との因果関係は認められていない。なお、グリチルリチン酸二ナトリウム及びグリチルリチン酸モノアンモニウムは、それらの化学構造から胃内の強酸性下では大半が結合型のグリチルリチン酸として存在すると推察されることから、両物質は同様の体内動態を示すと考えられた。

(4) 生殖毒性及び催奇形性試験

【マウス及びラットにおける生殖毒性試験】（１０）

グリチルリチン酸（の塩類）における通常の生殖毒性試験の報告は見当たらない。しかし、グリチルリチン酸アンモニウムの最大耐容量までの混餌投与（マウス、雄：8 週間、ラット、雄：10 週間）による優性致死試験（マウス、ラット）及び遺伝性転座試験（マウス）が実施されている。その結果、雄の受胎能に対する影響は認められなかった。

【ラットにおける催奇形性試験】（１０）

ラット（雌、14~17 匹/群）を用いて妊娠 0~20 日のグリチルリチン酸二ナトリウム（0、0.08、0.4、2%）の混餌投与試験（平均用量：0、60、290、1480mg/kg 体重/日）が行われている。妊娠 20 日に各群 9~12 匹の母ラットについて、胎児の外表、骨格、内臓異常等を検査した。妊娠を継続した残りの母ラットについては児を自然分娩させ、児ラットを生後 8 週まで観察した。中用量及び高用量投与群で分娩後の母ラットの体重増加抑制が認められたほかには、悪影響は認められなかった。グリチルリチン酸二ナトリウムの催奇形性は認められなかった。

Mantovani ら（1988 年）は、妊娠ラット（16~20 匹/群）の妊娠 7~18 日にグリチルリチン酸アンモニウムの飲水投与試験（0、100、1000、2500mg/l: 0、21、239、680mg/kg 体重/日）を実施している。妊娠 20 日に胎児の外表、骨格、内臓異常等について調べた。母動物については中用量及び高用量投与群において飲水量増加がみられたのみであった。胎児については、胸骨分節の変異を有する胎児が中用量及び高用量で増加した。低用量及び高用量投与群において出血／血腫、腎臓位置異常を有する胎児の増加が認められたが、中用量投与群においては出現頻度に有意差は認められず、用量依存的な増加ではなかった。催奇形性は認められなかった。

(5) 遺伝毒性試験

グリチルリチン酸の遺伝毒性に関する *in vitro* 試験の結果を次表にまとめた。

【遺伝毒性に関する試験の結果】

in vitro 試験

試験	対象	投与量	結果
Ames 試験	*S. typhimurium* TA100[2],TA98[2], *E.coli* WP2*uvr*A[2] *S. typhimurium* TA1535[3],TA1537[4]	156~5000µg/plate(-S9) [1]	陰性(9)
	S. typhimurium TA100,TA98, TA1535,TA1537 *E.coli* WP2*uvr*A	156~5000µg/plate(+S9) [1、5]	陰性(9)
	S. typhimurium TA92,TA1535, TA100,TA1537, TA94, TA98	5000、10000µg/plate(-S9) [8]	陰性(10)(11)
	S. typhimurium TA92,TA1535,TA100, TA1537, TA94, TA98	5000、10000µg/plate (+S9) [8]	陰性(10)(12)
染色体異常	CHL/IU 細胞	313~5000µg/ml(-S9) [1、6] 1250~5000µg/ml(+S9) [1、7]	陰性(9)
	CHO 細胞 [9]	4000µg/ml	陽性(10)(12)

1. グリチルリチン酸モノアンモニウムを使用。投与量はグリチルリチン酸として示した
2. 陽性対照として 2-(2-フリル)-3-（5-ニトロ-2-フリル）アクリルアミド
3. 陽性対照としてアジ化ナトリウム
4. 陽性対照として 9-アミノアクリジン
5. 陽性対照として 2-アミノアントラセン
6. 陽性対照としてマイトマイシン C
7. 陽性対照としてベンゾ[a]ピレン *in vivo*
8. グリチルリチン酸二ナトリウム（5000µg/plate）、グリチルリチン酸三ナトリウム（10,000µg/plate）を使用。投与量はグリチルリチン酸二ナトリウム、グリチルリチン酸三ナトリウムとして示した
9. チャイニーズハムスター卵巣由来細胞株

in vivo 試験

試験	対象	投与量	結果
小核試験	マウス骨髄	0～140mg/kg [10] 0～2000mg/kg [11] 単回腹腔内投与	陰性(10)

10. グリチルリチン酸二ナトリウムを使用。投与量はグリチルリチン酸二ナトリウムとして示した
11. グリチルリチン酸三ナトリウムを使用。投与量はグリチルリチン酸三ナトリウムとして示した

上記のように *in vitro* の染色体異常試験では一部陽性であったが、*in vivo* の小核試験において陰性であったことから、グリチルリチン酸は遺伝毒性を示す可能性は低いと考えられる。

ただし、主な代謝物であるグリチルレチン酸に関する *in vitro* 遺伝毒性試験の情報はない。

(6) その他

【細胞毒性確認試験】(13)

グリチルリチン酸のウシ乳腺上皮細胞（BMEC）及び Madin-Darby bovine kidney（MDBK）における細胞毒性試験が行われたところ、BMEC では 1000μg/ml、MDBK では 4000μg/ml で細胞障害活性が確認されず、いずれにおいても 50%細胞毒性濃度（CC_{50}）は確認できなかった。

【細菌に及ぼす影響】(14)

グリチルリチン酸の抗菌作用について、*Staphylococcus aureus* 2 株、*Escherichia coli* 2 株、*S. xylosus, S. epidermidis* を用いたディスク拡散法（0~1000μg/50μl）で検討されている。これらの菌に対して、グリチルリチン酸はいずれの濃度でも阻止円を形成しなかったことから抗菌作用を示さないことが推察された。また、グリチルリチン酸として 200μg/ml 濃度の液状培地における増殖細菌数（24 時間）は、非添加の対照培地の菌数と差が認められなかった。

【ラットの神経行動に及ぼす作用】(14)

SD ラット（30~35 日齢　雄各 120 匹/群）を用いてグリチルリチン酸モノアンモニウム混餌（0、2、3、4%、各 0、1.2、1.9 及び 2.6g/kg 体重/日）投与試験が 4~6 ヶ月間実施され、神経行動学の観点から、ラットの生理的数値（血圧、心拍数及び体温）、認知（能動的回避、受動的回避及びオペラント反応）、及び運動性機能（探索、一般的な行動性及び運動協調性）について試験した。

投与群においては、高血圧、相対的な腎臓及び心臓の重量増加及び体重の減少が認められ、徐脈及び多飲症も示した

行動学的な特性として、能動的回避については、4%投与群で回避スコアが対照群より有意に高く、2%投与群では対照群よりいくらか減少した。

【ヒトにおける知見】

グリチルレチン酸は、11-オキソレダクターゼとともに酵素複合体である 11β-ヒドロキシステロイド脱水素酵素を形成する 11β-脱水素酵素と競合的に結合している。この酵素複合体はコルチゾール及びコルチゾンの相互転換を引き起こす。グリ

チルレチン酸による 11β-脱水素酵素の結合によりコルチゾールの酸化の阻害が起きる。正常ならば酵素複合体によりコルチゾールから保護されている遠位尿細管のミネラルコルチコイドの受容体は、このことからコルチゾールにより活性化される。このようにしてコルチゾールはアルドステロンに模擬し、尿細管からのナトリウム再吸収及び尿中へのカリウム分泌の刺激を起こす。従って、グリチルレチン酸は明らかにミネラルコルチコイドの過剰状態を引き起こす可能性がある。ナトリウム再吸収の増加によりレニン-アンギオテンシン-アルドステロン系が抑制される。液体保持による心房拡張の結果、心房性ナトリウム利尿ペプチド（ANP）の血清中濃度の増加が起こる。

ヒトにおいては、1 日あたり甘草 60~100g（含有量 2%としてグリチルリチン酸 120~200mg）の摂取によるグリチルレチン酸の慢性中毒、1 日あたり 25~200g の甘草摂取（グリチルリチン酸 50~400mg）、1 日あたりガム 2 パック（グリチルリチン酸として 48mg）を摂取することによる慢性中毒、内科医による 1 日 40mg のグリチルリチン酸処方による中程度の中毒（低カリウム血症及びレニン-アルドステロン系の抑制）の報告がある。(15)

健常女性（19~40 歳　女性は予備試験で男性より顕著な作用を示した）39 人にグリチルリチン酸（0, 1, 2, 4mg/kg 体重それぞれ 10, 9, 9, 11 人）の 8 週間経口投与試験が実施された。0~2mg 投与群では体重、血圧、浮腫、血漿中のカリウム濃度、レニン活性、アルドステロン濃度及び心房性ナトリウム利尿ペプチドに異常や変化は認められなかったが、4mg 投与群で 2 週目以降に、対照群と比べて、血漿中のカリウム濃度、レニン活性、アルドステロン濃度の有意な低下が認められた。また、血漿中の心房性ナトリウム利尿ペプチド濃度は、8 週目に比べて投与中止後 2 週間の経過観察後の 10 週目に有意な低下が認められた。2mg 投与群では対照群と比較して有意な変化はみられなかったため、グリチルリチン酸 2mg/kg を NOEL とした。 (15)

EC におけるヒトの知見の検討(10)

European Commission(EC)では、グリチルリチン酸のヒトの知見について次のように整理、検討している。

グリチルリチン酸として 100mg/日（甘草菓子）を摂取した 1 人の男性は、頭痛、嘔吐、神経障害、高血圧、低カリウム血症、アルドステロン値の低下が認められた。グリチルリチン酸量が不明であるが甘草菓子 40g を摂取した 1 人の男性は、衰弱、頭痛、眠気、低カリウム血症、心電図異常、アルドステロン値低下、レニン活性低下が認められた。

また、グリチルリチン酸として 375mg/日（ハーブティー）を摂取した 1 人の女性は、高血圧、筋肉痙攣、筋力低下、低カリウム血症を示した。その他の症

例として、グリチルリチン酸として 50mg/日（チューインガム）を摂取した 1 人の男性は、腹痛、血圧上昇、レニン活性低下、低カリウム血症を示した。
グリチルレチン酸として 130mg/日（処置 A：グリチルレチン酸水溶液)、グリチルリチン酸として 225mg/日（処置 B：グリチルリチン酸水溶液)、グリチルリチン酸として 225mg/日（処置 C：甘味甘草キャンディー)、グリチルリチン酸として 225mg/日（処置 D：塩味甘草キャンディー)、を男性 8 名及び女性 8 名に投与し、薬理動態の調査が実施されている。その結果、全処置では血漿中グリチルレチン酸は摂取後 56 時間まで検出され、最高濃度到達時間は処置 A では 3 時間後、それ以外の処置では 8 から 10 時間後であった。また、性別による薬物動態の差は認められなかった。

グリチルリチン酸として 540mg/日（甘草菓子）を男性 1 名及び女性 9 名に、270mg/日（甘草菓子）を男性 11 名及び女性 19 名に、75mg/日（甘草菓子）を男性 12 名及び女性 12 名にそれぞれ投与（低用量と中・高用量はそれぞれ別の製造元である）した試験が実施され、グリチルリチン酸摂取量の増加により血圧上昇が認められたが、EC では、試験方法に不備が多いと指摘している。

男性 3 名、女性 3 名からなる 4 群に甘草丸薬(グリチルリチン酸として 108, 217, 380, 814mg/日）を 4 週間投与した試験が実施された。380 mg/日投与群では、投与前のレベルと比較して有意なレニン活性の低下、アルドステロンの低下、腎ナトリウム排泄の変化が認められた。814mg/日投与群では、女性の 1 人が頭痛、体重増加、浮腫を呈し、男性の 1 人が高血圧、浮腫、体重増加を示した。814mg/日群では、投与前のレベルと比較して有意なレニン活性の低下、アルドステロンの低下、腎ナトリウム排泄低下、血清カリウムの低下、体重増加が認められた。当該を研究報告では、NOAEL を 217mg/日としており、女性は男性よりもグリチルリチン酸に対する感受性が強いと述べている。

EC では前述の CEM van Gelderen *et al.*[15] の報告について、その元データ（Bijlsma JA *et al.*）も含め次のように検討している。4mg/kg 投与群においては、被験者の大部分に頭痛、吐き気、顔のむくみ、手足の掻痒感が発生し、無投与の群と比べて有意な体重増加・アルドステロン値低下・レニン活性低下・血症中カリウム濃度の低下が認められた。2mg/kg 投与群では、1 名だけが低カリウム血症を発生（1 週間後回復）したが、無投与対照群と比較して他のパラメーターに有意差は認められなかった。平均の血漿中グリチルレチン酸は、曝露期間の開始 7 日間で徐々に増加し、その後 8 週間濃度を維持した（0mg/kg 群：0mg/L、1mg/kg 群：0.16mg/L、2mg/kg 群：0.26mg/L、4mg/kg 群：0.94mg/L）が、曝露を停止して 2 週間後には検出できなくなった。グリチルリチン酸の LOAEL（最小毒性量）は、4mg/kg 体重/日であり、この量でグリチルリチン酸に感受性が高いヒトでは、生化

学的及び臨床症状の影響を受けた。本試験でグリチルリチン酸の無毒性量（NOAEL）は、2mg/kg 体重/日（平均して約 130mg/ヒト/日）と設定されている。この投与量では、血漿中グリチルレチン酸濃度が 800μg/L 以下であった。

３．食品健康影響評価について

遺伝毒性については *in vitro* の染色体異常試験において一部陽性が認められたが、*in vivo* マウス骨髄小核試験では陰性であったことから、生体にとって問題となる遺伝毒性を示す可能性は低いと考えられる。マウスを用いた発がん性及びラットにおける催奇形性は認められず、各毒性試験の無影響量の最小値はヒト毒性試験の 2mg/kg 体重/日であった。CEM van Gelderen *et al.* では、この NOAEL からヒト（体重 50kg、不確実係数 10）の１日許容摂取量（ADI）を 10mg/人/日としている。JECFA 及び EC ではヒトの毒性試験成績が非常に限定されており、またヒトにおけるグリチルリチン酸の摂取 100mg/日以上では副作用の報告が認められていることから、定期摂取量の上限限界を 100mg/人/日とすることで人口の大部分の健康を守る上で十分な数値であると提案している。

本成分を主成分とする動物用医薬品製剤は、乳房炎の治療として乳房炎発症乳房内に 1 症例に 1 回投与することとされ、使用機会が限定されている。また、本製剤の休薬期間である 72 時間後のウシの乳汁中残留試験の結果が 0.05～4.0μg/ml であり、仮にヒトが 1 日当たり 1L 牛乳を飲用したとしても 0.05～4.0mg/人/日となる。この量は JECFA 及び EU で示している 1 日摂取量 100mg/人/日、CEM van Gelderen *et al.* で設定された ADI である 10mg/人/日を十分下回っている。

これらのことから、グリチルリチン酸モノアンモニウムは動物用医薬品として適切に使用される限りにおいては、動物用医薬品を由来とするグリチルリチン酸が食品を通じてヒトの健康に影響を与える可能性は無視できるものと考えられる。

４．参考資料

(1) マストリチン動物用医薬品製造承認申請書添付資料：物理的、科学的試験
(2) マストリチン動物用医薬品製造承認申請書添付資料：起源又は発見（開発）の経緯
(3) Carlat L.E., et al：Human Metabolism of Orally Ingested Glycyrrhetinic Acid and Monoammonium Glycyrrhizinate.；Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 102,245(1959)
(4) 中野直子ら：グリチルレチン酸およびグリチルリチンの酵素免疫測定法（第２報）－血中グリチルレチン酸，グリチルリチンの測定－，治療と薬理，8(11)；4171-4173，1980
(5) WHO Technical Report Series 928 「EVALUATION OF FOOD ADDITIVES」Sixty-third of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives
(6) マストリチン動物用医薬品製造承認申請書添付資料：吸収等試験
(7) マストリチン動物用医薬品製造承認申請書添付資料：残留試験
(8) 食品健康影響評価に関する補足資料 マストリチン （2007 年 7 月 3 日）：グリチルリチン酸の残留試験でグリチルレチン酸の残留量に関するデータ
(9) マストリチン動物用医薬品製造承認申請書添付資料：毒性試験
(10) EUROPEAN COMMISSION: OPINION OF THE SCIENTIFIC COMMITTEE ON FOOD ON GLYCYRRHIZINIC ACID AND ITS AMMONIUM SALT
(11) Kobuke,T.et al:Tumorigenicity study of disodium glycyrrhizinate administered orally to mice, Food and Chemical Toxicology,23,979-983,1985
(12) Ishidate, M. et al: Primary mutagenicity screening of food additives currently used in Japan; Food and Chemical Toxicology,22,623-636, 1984.
(13) マストリチン動物用医薬品製造承認申請書添付資料：安全性に関する試験
(14) マストリチン動物用医薬品製造承認申請書添付資料：薬理試験
(15) Van Gelderen, C. E. M. et al:Glycyrrhizinic acid :the assessment of a no effect level; Human and Experimental Toxicology,19,434-439,2000