

(5)遺伝毒性試験

オフロキサシンの変異原性に関する各種の *in vitro* 及び *in vivo* 試験の結果を次表にまとめた。

【変異原性に関する各種試験の結果一覧】

in vitro 試験

試験	対象	投与量	結果
不定期 DNA 合成試験 (UDS 試験)	WI-38 ヒト胎児肺組織由来細胞	0.1～300 µg/mL	陰性 ⁽²⁴⁾
Ames 試験	<i>S. typhimurium</i> TA1535, TA1537, TA1538, TA98, TA100, <i>E. coli</i> WP2 <i>uvrA</i>	0.001～0.5 µg/plate(±S9)	陰性 ¹ (24)
Rec-assay	<i>Bacillus subtilis</i> M45(Rec ⁻), <i>Bacillus subtilis</i> H17(Rec ⁺)	3.1～25µg/mL	陽性 ⁽²⁴⁾
染色体異常試験	培養ヒトリンパ球	0.1、0.3、1、3、10、30、100、300 µg/mL(-S9 ; 22h)	陰性 ² (24)
姉妹染色分体交換試験	CHL 繊維芽細胞	0.1～1000 µg/mL	陰性 ³ (24)
	培養ヒトリンパ球	0.1～300 µg/mL	陰性 ⁴ (24)

1 0.5µg/plate で 生育阻害が認められた

2 100µg/mL 以上で 細胞毒性が認められた

3 1000µg/mL で 細胞毒性が認められた

4 100µg/mL 以上で 細胞毒性が認められた

in vivo 試験

試験系	試験対象	投与量	結果
染色体異常試験 (<i>in vivo</i> / <i>in vitro</i>)	健常男性リンパ球	600 mg/kg 単回経口投与	陰性 ⁽²⁴⁾
小核試験	マウス骨髄	10、90、810、2500mg/kg 単回経口投与	陰性 ⁽²⁴⁾
		10、40、160、500 mg/kg/日、1 回/日、5 回連続経口投与	陰性 ⁽²⁴⁾
優性致死試験	SLC-BDF ₁ マウス	250、2500mg/kg 単回経口投与	陰性 ⁽²⁵⁾
		125、1250mg/kg/日 1 回/日、5 回連続経口投与	陰性 ⁽²⁵⁾

オフロキサシンの遺伝毒性については *in vitro* で細菌を用いた Rec-assay、細菌を用いる復帰突然変異試験、培養細胞を用いた UDS、ほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験、およびほ乳類培養細胞を用いる姉妹染色分体交換試験、ヒトの *in vitro/in vivo* 染色体異常試験、および *in vivo* げっ歯類を用いる小核試験、優性致死試験が行われている。ほとんどの試験系で陰性であったが、細菌を用いた Rec-assay で陽性の結果が報告されている。一方、健常男性における *in vivo* / *in vitro* リンパ球の染色体異常試験、マウスを用いた骨髄小核試験、マウスを用いた優性致死試験のいずれも陰性であった。

これらのことから、*in vitro* の細胞遺伝学的指標を検討する試験系では陽性を示すものもあるが、*in vivo* の試験系では陰性の結果であり、オフロキサシンに生体にとって問題となる遺伝毒性はないと考えられる。

【レボフロキサシン及びR-オフロキサシンの変異原性】

この他、オフロキサシン(ラセミ体)の各光学異性体成分であるレボフロキサシンおよび R-オフロキサシンのそれぞれについても、いくつかの試験が実施されている。

レボフロキサシン

in vitro 試験

試験	対象	投与量	結果
Ames 試験	<i>S. typhimurium</i> TA1535, TA1537, TA98, TA100, <i>E. coli</i> WP2 <i>uvrA</i>	0.0016~0.1µg/plate (±S9)	陰性 ¹ (26)
前進突然変異試験	CHO(K-1/ <i>Hprt</i>)	0.375、0.750、1.50 mg/mL (±S9)	陰性 ⁽²⁶⁾
染色体異常試験	CHL 培養細胞	250、500、1000 µg/mL (±S9 ; 6h)	陰性 ² (26)
		50、100、200、300、400、 500 µg/mL(-S9 ; 24h)	陽性 ⁽²⁶⁾
		50、100、200、300µg/mL (-S9 ; 48h)	陽性 ⁽²⁶⁾
姉妹染色分体交換試験	CHL 繊維芽細胞	50、100、200、300µg/mL(-S9)	陽性 ⁽²⁶⁾
		125、250、500、1000µg/mL (+S9)	陽性 ≥250 (26)

1 0.025µg/plate 以上で 生育阻害が認められた(+S9 の TA1537、TA98 は 0.05µg/plate 以上)

2 1000 µg/mL で細胞毒性が認められた

in vivo 試験

試験系	試験対象	投与量	結果
UDS 試験 (<i>in vivo/in vitro</i>)	F344/N ラット肝細胞	300、600 mg/kg 単回経口投与	陰性 ¹ (26)
姉妹染色分体交換試験	マウス骨髄	150、300、600mg/kg 単回経口投与	陰性 ⁽²⁶⁾
小核試験	マウス骨髄	150、300、600mg/kg 単回経口投与	陰性 ⁽²⁶⁾
		100、200、400mg/kg/日 1 回/日、5 回連続経口投与	陰性 ² (26)
優性致死試験	SLC-BDF ₁ マウス	30、90、270mg/kg/日 1 回/日、5 回連続経口投与	陰性 ⁽²⁶⁾

¹ 投与 3、12 時間後に肝細胞を採取し培養

² 200mg 以上で多染性赤血球出現頻度が低下。

レボフロキサシンは CHL 培養細胞を用いた染色体異常試験、CHL 繊維芽細胞を用いた姉妹染色分体交換試験で陽性を示したが、*in vivo* のマウス骨髄姉妹染色分体交換試験、マウス骨髄小核試験、マウス優性致死試験のいずれも陰性であった。

R-オフロキサシン

in vitro 試験

試験	対象	投与量	結果
Ames 試験	<i>S. typhimurium</i> TA1535, TA1537, TA98, TA100, <i>E. coli</i> WP2 <i>uvrA</i>	0.39~25µg/plate (±S9)	陰性 ¹ (26)
染色体異常試験	CHL 培養細胞	250、500、1000、2000µg/mL (±S9 ; 6h)	陰性 ² (26)
		50、100、200、300、400、 500 µg/mL(-S9 ; 24h)	弱陽性 ⁽²⁶⁾
		50、100、200、300µg/mL (-S9 ; 48h)	弱陽性 ⁽²⁶⁾

1 12.5µg/plate 以上で 生育阻害が認められた

2 2000µg/mL で細胞毒性が認められた

in vivo 試験

試験系	試験対象	投与量	結果
小核試験	マウス骨髄	150、300、600mg/kg 単回経口投与	陰性 ⁽²⁶⁾
		100、200、400mg/kg/日 1 回/日、5 回連続経口投与	陰性 ¹ (26)

¹ 400mg 以上で多染性赤血球出現頻度が低下。

R-オフロキサシンは CHL 培養細胞を用いた染色体異常試験で弱いながらも陽性を示したが、*in vivo* マウス骨髄小核試験では陰性であった。

以上、各光学的単体を用いた試験でも、生体にとって問題となる様な遺伝毒性は検出されなかった。

(7) 幼若動物の関節影響に関する特殊試験

【幼若ラットを用いた 7 日間関節毒性試験】^{(27), (28)}

3 及び 5 週齢の CD(SD)雄ラット(各 10 匹/群)を用いた 7 日間のオフロキサシン(OFLX)及びナリジクス酸(NA)の強制経口投与(OFLX:0、30、100、300、900mg/kg 体重/日、NA:100、300mg/kg 体重/日) 試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。

OFLX では、900mg 投与群で軟便、投与直後の流涎、体重増加量減少が認められたが他の群では特に被験物質の投与に起因した変化は認められなかった。NA では両投与群とも体重増加量抑制が認められた。

肘及び膝関節軟骨の病理組織学的検査では、OFLX の 300mg 投与群の 6/10、OFLX の 900mg 投与群及び NA の両投与群で 10/10 に、肘関節の上腕骨滑車、膝関節の大腿骨遠位端に水疱ないしはびらんが認められた。⁽²⁷⁾

本試験における NOAEL は 30 mg/kg 体重/日であった。

6、8 及び 10 週齢の CRj:CD 系雄ラット(各 7 匹/群、対照群は 3 匹/群)に OFLX 900mg/kg 体重/日を 7 日間強制経口投与し、それぞれの週齢における関節軟骨への影響が調査されている。

6 週齢のラットでは肉眼的に 1/7 に大腿骨顆下面の関節軟骨に小隆起巣が、病理組織学的には 2/7 で膠原

線維の露出を伴う基質の水腫性膨化巣が認められた。8 週齢以上のラットではこれらの異常は認められなかった。⁽²⁸⁾

【若齢犬を用いた 8 日間関節毒性試験】⁽⁶⁾

3 カ月齢の雄ビーグル犬(各 3 頭/群、20mg 投与群は 6 頭/群)を用いた強制経口投与(0、5、10、20mg/kg 体重/日) による 8 日間の関節毒性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。投与はゼラチンカプセルを用いて行い、対照群には空のカプセルを同様に投与した。なお、20mg 投与群の 3 頭は、2 日目の投与終了後に安楽死させ、剖検に供した。

跛行と運動性の低下が 20mg 投与群の 2 頭(2/3)で投与 7-8 日の間に認められた。剖検では、上腕骨(humerus)及び大腿骨(femur)の関節軟骨表面の水疱形成が 10mg 以上投与群に認められた。病理組織学的には中間層の空隙形成、空隙周囲の軟骨細胞壊死、軟骨細胞集簇の病変が 10mg 以上投与群に認められた。病変は近位端でより強く認められ、用量相関的であった。また、20mg 投与群では 2 日の剖検の時点で認められたが、8 日の剖検で頻度がより高く、周辺細胞間質のヘマトキシリン・エジオン染色の強度が顕著であった。

血清中及び関節軟骨中の薬剤濃度は用量相関的に増加し、両者の比較では関節軟骨中濃度が血清中濃度より 2 倍程度高い値を示したが、投与 2 日目と 8 日目の濃度に差はなく、蓄積性は認められなかった。

本試験における NOAEL は 5 mg/kg 体重/日であった。

(7)眼毒性についての特殊試験

白色ウサギの摘出眼球をオフロキサシン含有溶液(18、36、108、180 μ g/mL)で 15 分灌流し、ERG¹が測定された。180 μ g で B 波の振幅と振動電位の減少、108 μ g で振動電位の減少が認められたが、36 μ g 以下の濃度では測定したパラメーターに影響は認められなかった。

白色ウサギ 5 匹及び有色ウサギ 3 匹のガラス体を切除し、50 もしくは 100 μ g/mL のオフロキサシン含有溶液を灌流し、1、2、4 週後に ERG、4 週後に VEP^mが測定された。VEP 測定後、眼球の病理組織学的検査が実施された。100 μ g で A 波の振幅増大、B 波の振幅増大、C 波の振幅減少が認められたが、いずれも 4 週以内に回復した。VEP、病理組織学的検査では異常は認められなかった。50 μ g では異常は認められなかった。また、白色ウサギと有色ウサギで差は認められなかった。⁽²⁹⁾

(8)一般薬理試験⁽³⁰⁾

【一般症状及び行動】

Irwin の多次元観察法(マウス)において 300mg/kg 体重の経口投与でグルーミングの軽度の低下、自発運動の低下、1000mg/kg 体重でグルーミング、運動活性の低下、うずくまり、軽度の振戦、体温下降、意識低下が認められた。これらは投与後 20 分以内に発現し、約 2 時間持続した。100mg/kg 体重の投与では一般症状及び行動に著変は認められなかった。

【中枢神経系への作用】

¹ Electroretinogram

^m Visual evoked potential

脳波及び心臓に対する作用(ネコ； EEG、ECGⁿ)においては 10mg/kg の静脈投与で脳波の徐波化及び血圧低下が認められた(3mg/kg では影響なし)。自発運動(マウス； wheel cage 回転数)においては 300mg/kg の経口投与で低下が認められた(100mg/kg では影響なし)。ヘキソバルビタール睡眠(マウス； 正向反射)においては 1000mg/kg の経口投与で睡眠の延長が認められた(300mg/kg では影響なし)。鎮痛作用(マウス； 酢酸の腹腔内注射に対する writhing 数の測定、尾根部圧刺激に対する疼痛閾値)においては 100mg/kg 以上の経口投与で writhing 数の抑制、300mg/kg 以上の経口投与で鎮痛係数の上昇を示し、鎮痛作用が認められた(それぞれ 30、100mg/kg では影響なし)。抗炎症作用(ラット； カラギーナン注射による炎症惹起)においては、1000mg/kg の経口投与で浮腫の抑制作用が認められた(300mg/kg では影響なし)。

抗痙攣作用(マウス； 電撃痙攣、ペンテトラゾール痙攣、ストリキニーネ痙攣)、体温測定(ウサギ； 直腸温)、条件回避反応(ラット； shuttle box)、脊髄反射(ネコ； 電気刺激によるシナプス電位測定)には試験条件において被験物質投与による影響は認められなかった。

【自律神経系への作用】

血圧(麻酔イヌ； ノルエピネフリン(NE)、アセチルコリン(Ach)に対する反応)においては、NE による昇圧反応が 30mg/kg、Ach による降圧反応が 10mg/kg の静脈内投与で抑制された(それぞれ 10、3mg/kg では影響なし)。

瞳孔(ウサギ)、瞬膜収縮(ネコ； 電気刺激)には試験条件において被験物質投与による影響は認められなかった。

【平滑筋に対する作用】

摘出回腸、摘出輸精管、摘出気管(モルモット； 自発収縮)においては、 10^{-3} g/mL の濃度で摘出気管を単独で収縮させ、ヒスタミン及びアセチルコリンによる収縮を軽度 to 増強し、摘出輸精管の NE による収縮を増強した(10^{-4} g/mL では単独影響なし)。摘出回腸に対しては、 10^{-4} g/mL の濃度^oでニコチン及び塩化バリウムによる収縮をやや抑制した。摘出非妊娠及び妊娠子宮(ラット； 自発収縮)においては、非妊娠子宮について 10^{-3} g/mL の濃度で一過性の振幅抑制と持続的な頻度亢進を示した。妊娠子宮については 10^{-4} g/mL の濃度^pで単独及びオキシトシンによる律動亢進に影響を示さなかった。胃内容物排出速度(ラット)においては 300mg/kg 以上の経口投与で排出速度が抑制された(100mg/kg では影響なし)。胃液分泌(ラット； 胃液量、pH、総酸度、ペプシン活性)においては 300mg/kg 以上の経口投与で胃液量及び酸度の低下、pH の上昇、総酸度の低下、総ペプシン活性の抑制が認められた(100mg/kg では影響なし)。胃腸管運動(イヌ； 自動運動測定)においては、3mg/kg 以上の静脈内投与で腸管運動の抑制が認められた(1mg/kg では影響なし)。

腸管輸送能(マウス； 炭末移動)、胃粘膜(ラット； 損傷測定)には試験条件において被験物質投与による影響は認められなかった。

【呼吸循環器系への作用】

3mg/kg の静脈内投与における、呼吸、血圧、心拍数、左心室内圧、左心室内圧最大収縮速度、股動脈血流量、心筋収縮力、股動脈血管抵抗、心電図(いずれも麻酔イヌ)を観察したが、一過性の股動脈血流

ⁿ Electroencephalogram, Electrocardiogram

^o 10^{-3} g/mL では溶媒で影響が認められたため 10^{-4} g/mL 以下についてのみ実施。

^p 10^{-3} g/mL では溶媒で影響が認められたため 10^{-4} g/mL 以下についてのみ実施。

量の増加、軽度の呼吸数の増加のみが認められた。10mg/kg では呼吸数の増加、呼吸振幅の軽度の低下、収縮期、拡張期、及び平均血圧の一過的下降、左心室内圧の減少、末梢抵抗の減少が認められた。30mg/kg では上記の変化が増強された他、心拍数、左心室内圧最大収縮速度の低下が認められた。心電図に一定の変化は認められず、心筋収縮力に変化は認められなかった。

血圧、心拍数(無麻酔ラット) には 1g/kg 体重までの経口投与において被験物質投与による影響は認められなかった。

【その他】

前脛骨筋(ウサギ；電気収縮)においては 30mg/kg の静脈内投与で神経を介した間接及び筋への直接刺激による収縮が増加し、血圧が一過性に軽度(10mg/kg では影響なし)に下降した。利尿作用(ラット；尿量、 Na^+ 、 K^+ 、 Cl^- 測定)においては 300mg/kg 以上の経口投与で尿量、 Na^+ 、 Cl^- の排泄が減少した。

局所麻酔作用(モルモット；瞬目反射) は 0.1～1%の濃度において被験物質投与による影響は認められなかった。

(9) 微生物学的影響に関する特殊試験

【*in vitro* の MIC 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)

ヒト臨床分離株等に対するオフロキサシンについての MIC が複数の公表論文で報告されている。そのうち微生物学的 ADI の設定に際して MIC₅₀ を用いる場合に適切な菌種として推奨されている菌種についての概要は次の通りであった。

菌名	株数	最小発育阻止濃度 (μg/mL)		範囲	出典
		MIC ₅₀	MIC ₉₀		
偏性嫌気性菌					
<i>Bacteroides bivius</i>	46	4	8		31
<i>Bacteroides caccae</i>	10	8	8	1->128	32
<i>Bacteroides distasonis</i>	10	2	8	2-64	33
	12	2	16	2-64	32
<i>Bacteroides fragilis</i>	42	1.56	6.25	0.78-12.5	34
	13	2	4	2-16	35
	51	4	4	2->64	36
	29	4	8	1-16	37
	27	2	2	0.5-8	38
	50	2	4	2-4	39
	20	4	8	2-16	40
	41	3.13	12.5	0.78->25	41
	32	1.0	4.0	1-16	5
	4	2	4		31
	23	1	4	1-128	42
	11	2	4	1-8	33
	23	2	8	2-64	32

	25	1.56	3.13	0.78-3.13	43
<i>Bacteroides fragilis</i> group	52	4	32	1-128	42
<i>Bacteroides melaninogenicuss</i>	20	1	2	0.5-2	39
<i>Bacteroides ovatus</i>	12	16	32	16-32	33
	10	16	16	8-16	32
<i>Bacteroides thetaiotaomicrom</i>	14	16	16	8-256	33
	17	8	128	4-128	32
<i>Bacteroides uniformis</i>	10	8	16	2-64	33
	12	4	8	2-8	32
<i>Bacteroides ureolyticus</i> group	11	0.125	0.5	<0.06-1	32
<i>Bacteroides vulgatus</i>	12	4	8	1-16	33
	12	2	16	1-16	32
<i>Bacteroides</i> spp.(fragilis 除く)	29	8	32	<0.03-64	36
	29	8	32	2-128	42
	17	2	4	0.25-8	33
<i>Bifidobacterium</i> spp.	10	4	4	1-8	42
<i>Clostridium perfringens</i>	17	0.39	0.78	0.39-12.5	34
	50	0.5	1	0.5-1	39
	20	1.0	1.0	0.5-1	5
	6	0.5	1	0.5-1	42
	10	1	1	0.5-1	33
	12	0.5	0.5	0.5-1	32
<i>Clostridium ramosum</i> / <i>innocuum</i> / <i>clostridiiforme</i>	15	16	128	1->128	32
<i>Clostridium</i> spp.	13	2	>64	0.5-16	36
	20	1	8	0.25-16	40
	17	2	8	0.5-256	33
	23	4	16	0.5-32	32
<i>Eubacterium</i> spp.	12	0.5	2	0.5-8	42
	10	1	2	0.25-4	33
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	5	1	2		31
<i>Fusobacterium nucleatum</i> / <i>necrophorum</i>	15	2	2	1-4	33
<i>Fusobacterium mortiferum</i> / <i>varium</i>	19	4	16	2-64	33
<i>Fusobacterium varium</i> / <i>ulcerans</i> / <i>gonidiaformans</i>	14	8	16	2-128	32
<i>Fusobacterium</i> spp.	10	4	4	0.25-64	42
	20	2	16	0.5-64	32
<i>Peptococcus</i> spp.	11	8	16	0.25-16	36
	25	1.56	6.25	0.39-12.5	41
<i>Peptostreptococcus</i> spp.	8	0.5	4	0.25-4	36
	50	2	4	1-4	39
	18	0.5	2	0.12-8	42

	20	0.5	8	0.125-16	33
	22	0.5	8	0.125-16	32
	25	6.25	25	0.20-25	44
<i>Peptococcus / Peptostreptococcus</i>	10	1	2	0.25-2	40
<i>Prevotella bivia</i>	12	8	8	2-8	32
<i>Prevotella</i> spp. (pigmented)	17	1	16	0.25-64	32
<i>Prevotella</i> spp. (nonpigmented)	14	2	2	1-2	32
<i>Prevotella</i> spp	6	2	8	0.5-32	42
通性嫌気性菌					
<i>Enterococcus faecalis</i>	25	2	2	1-4	40
	50	3.13	6.25	0.78-25	41
	16	4	4	2-4	5
	25	1.56	3.13	0.78-3.13	43
<i>Enterococcus faecium</i>	16	2.0	16.0	1-16	5
<i>Enterococci</i>	10	2	32	1-32	42
	29	2	4	1-4	38
	100	2	4	1-8	39
<i>Escherichia coli</i>	100	0.05	0.19	0.025-1.56	34
	54	0.063	0.125	0.031-1	35
	23	0.06	0.125	$\leq 0.06-0.125$	37
	49	0.06	0.06	$\leq 0.03-0.5$	38
	100	0.06	0.12	0.06-0.12	39
	35	0.06	0.125	0.03-1	40
	50	0.05	0.10	0.025-3.13	41
	32	0.06	0.13	0.03-0.25	5
	39	0.5	1		31
	10	0.06	32	0.03-64	42
	25	0.05	0.05	0.013-0.10	43
<i>Lactobacillus</i> spp.	50	4	32		31
	13	4	32	1-32	42
<i>Propionibacterium acnes</i>	14	1	4	1-8	36
<i>Propionibacterium granulosum</i>	6	1	4	1-4	36
<i>Propionibacterium</i> spp.	11	0.5	0.5	0.25-0.5	32

これらの調査は $10^3 \sim 10^7$ CFU/spotの菌濃度⁹で実施されたが、一部の菌種を用いた確認試験において $10^4 \sim 10^6$ CFU/spotにおいて⁽³⁴⁾、またオフロキサシンの主要な抗菌活性を担う(S)-(-)-アイソマーは $10^3 \sim 10^7$ CFU/spotにおいてMICへの影響はほとんど認められなかったと報告されている⁽⁴¹⁾。

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 *Escherichia coli* の 0.05 μ g/mL であった。次いで *Bacteroides ureolyticus* group の 0.125 μ g/mL 、*Clostridium perfringens* の 0.39 μ g/mL であった。この他では、*Eubacterium* spp.、*Peptostreptococcus* spp.、*Propionibacterium* spp. 等、複数の菌種で 0.5 μ g/mL の MIC₅₀ が報告されている。

⁹ 論文 8 は未記載

②ATCC標準株におけるMIC₅₀

ATCC の標準株である *Bacteroides fragilis* ATCC25285、*Bacteroides thetaiotaomicron* ATCC29741、*Eubacterium lentum* ATCC43055 についての MIC の範囲は順に 1-2(2)、8-8(8)、1-1(1)[†]であった⁽³²⁾。

③pH による MIC の変化

異なる pH 条件下(6.6、7.3、8.1)におけるオフロキサシンの MIC の変動が報告されている。*Bacteroides fragilis*(6 菌株)については pH の上昇とともに MIC(幾何学平均)が低下した。*Bacteroides* spp.(7 菌株)、*Fusobacterium* spp.(2 菌株)、*Clostridium* spp.(4 菌株)、*Peptococcus*/*Peptostreptococcus* spp.(5 菌株)については pH7.3 で最も高い MIC が見られ、その前後の pH では低下していた⁽³⁶⁾。

【ヒトボランティアにおける微生物学的影響】

5 名の健常ボランティアについて、200mg のオフロキサシンを 1 日 2 回、5 日間経口投与し、投与前、投与 2、3、4、5 及び投与終了後 6 日までの糞便を採取し、嫌気性菌、腸内細菌科、*Staphylococci*、グループ D *Staphylococci* を調べた結果は次のとおりであった。

腸内細菌科の菌数はオフロキサシンの投与開始とともに減少し、4 日目には検出されなくなった。この状態は投与終了後 4 日まで持続した。嫌気性菌の菌数、MIC₅₀ 及び MIC₉₀、優勢菌種に有意差は認められなかったが、偏性嫌気性菌の割合が有意に増加していた。グループ D *Staphylococci* の菌数は減少した。また、酵母については、投与開始前は 2/5 で検出されたのみであったが、投与 4 日目には全ての被験者の糞便から *Candida* sp. が検出された。

筆者らは、嫌気性腸内細菌叢の優占種に変化は認められなかったが、*Candida* sp. が出現したことから、オフロキサシンの投与によりコロニー形成耐性がかく乱されたと推定している。

また、糞便中のオフロキサシン濃度は数百 µg/g であったが、投与によって消失が認められたのは *in vitro* の MIC₅₀ が 1µg/mL 以下のもののみであり、オフロキサシンは *in vitro* でより強い抗菌活性を示すと考えられた。なお、耐性菌は検出されなかった⁽⁴⁴⁾。

【耐性の出現について】

MIC の 8 倍のオフロキサシンを含む培地に 7 菌種(*Enterobacter aerogenes*、*Escherichia coli*、*Klebsiella pneumoniae*、*Pseudomonas aeruginosa*、*Staphylococcus aureus*、*Providencia stuartii*、*Serratia marcescens*)を接種した時の耐性菌の出現頻度 8.5×10^{-9} (*S. marcescens*) $\sim$ $< 1.6 \times 10^{-9}$ (*P. stuartii*)であった⁽³⁷⁾。

(10)ヒトにおける知見について

【ヒトボランティアにおける毒性影響】

24 名の健常男性ボランティア(オフロキサシン投与群、プラセボ投与群各 12 名)について、400mg のオフロキサシンを 1 日 2 回、10 日間経口投与したときの、一般状態、血液学、血液生化学、尿、視覚、聴覚、心電図検査が実施されている。

群間で発生頻度に有意差が認められた副作用は消化器系に関するもののみであった。最も高頻度で認

[†] 0 はモード

められたのは消化器系の不調/痛み(5/5⁵)、吐き気(2/3)及び下痢(2/3)であった。また、3 名で頭痛(3/9)、うち 1 名で頭痛に伴う視力障害が 1 例報告された。頭痛は対照群でも 3 名に報告された(3/9)。血液学、血液生化学、尿、視覚、聴覚、心電図検査に異常は認められなかった。⁽⁴⁵⁾

【フェイズⅡ、Ⅲ及びⅣ試験に関する報告】

オフロキサシンは現在でもヒト臨床において使用されているが、日本及び欧州におけるフェイズⅡ、Ⅲ及びⅣ試験中に収集された有害影響が報告されている。

13,717 名の患者にオフロキサシンが投与され、577 件の有害影響が報告されている。577 件のうち 361 例は消化器系に関するものであった。また、124 例が中枢神経系に関するもので、うち 84 例が頭痛もしくは睡眠障害であった。その他皮膚影響について 45 例、心臓血管系について 8 例であった。まれな例として幻覚(1 例)、悪夢(1 例)、混乱(1 例)、沈鬱(2 例)が報告されていた。⁽⁴⁶⁾

【薬剤耐性菌について】

オフロキサシン及び(S)-(-)体であるレボフロキサシンはヒト臨床において広く使用されている。

3. 食品健康影響評価について

【眼に関する知見について】

一般にフルオロキノロン剤はメラニンに高い親和性を示すことが報告されている。オフロキサシンについて直接の知見は得られていないが、¹⁴C 標識レボフロキサシン単回投与後のメラニン含有組織中濃度はアルビノラットと比較して有色ラットにおいて高値を示し、その半減期は約 20 日であったことから⁽⁴⁷⁾、他のキノロン剤と同様の傾向を示すものと考えられる。

毒性影響については、白色及び有色ウサギの眼にオフロキサシン溶液を直接灌注した試験において、100µg/mL の灌注では ERG に変化が認められたものの、50µg/mL では ERG、VEP ともに変化は認められておらず、ヒト臨床試験においても眼の異常は主要な副作用とは見なされていない。また、レボフロキサシンのサルを用いた 26 週間の亜急性毒性試験では、最高用量(62.5mg/kg 体重/日)においても眼検査に異常は認められなかった。これらのことから、オフロキサシンについては、眼毒性よりも他の毒性影響がより感受性の高い指標となるものと考えられる。

【関節影響に関する知見について】

キノロン剤については、幼若動物において関節影響が認められることが知られており、これまで国内外で検討された毒性評価のほとんどで最も感受性の高い毒性指標となっている。

オフロキサシンについてはラットとイヌを用いた関節影響に対する特殊試験が実施されており、他のキノロン剤と同様、イヌにおいてより高い感受性が認められた。これは他の毒性と比較しても最も鋭敏な指標であった。本試験は 8 日間の短期間の試験であるが、感受性が高い幼若犬を用いて、NOAEL が求められていることから、適切な安全係数を適用した上で毒性評価に用いることが可能であると判断された。

【繁殖毒性及び催奇形性について】

繁殖毒性及び催奇形性については、多世代の繁殖毒性試験は実施されていないが、ラットを用いた妊

⁵ 報告被験者数 / 総報告回数

妊娠前及び妊娠初期投与試験、ラット及びウサギを用いた胎児の器官形成期投与試験、ラットを用いた周産期及び授乳期投与試験が実施され、F₁を繁殖したF₂児の検査まで行われており、繁殖毒性は認められていない。また、ラット及びウサギにおいても催奇形性は認められていない。

【遺伝毒性／発がん性について】

慢性毒性/発がん性試験については実施されていないが、一般にキノロン剤には生体において問題となる遺伝毒性や発がん性は認められていない。

オフロキサシンの遺伝毒性については、細菌を用いた復帰突然変異試験、ヒト培養細胞を用いたUDS試験、ほ乳類培養細胞を用いた染色体異常試験、姉妹染色分体交換試験で陰性であったが、細菌を用いたRec-assayで陽性であった。しかし、健常男性における *in vivo* / *in vitro* リンパ球の染色体異常試験、マウスを用いた骨髄小核試験、マウスを用いた優性致死試験のいずれも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はないと考えられる。この他、オフロキサシンの各光学異性体成分であるレボフロキサシンおよびR-オフロキサシンのそれぞれについても、いくつかの試験が実施されているが、生体にとって特に問題となるような遺伝毒性は認められていない。

また、オフロキサシン(ラセミ体)の一方の光学異性体であるレボフロキサシンは、発がん物質であるDEN、MNU、DHPNの標的となる臓器である、肝臓、腎臓、前立腺、肺、前胃、腺胃、甲状腺等における腫瘍発生について、プロモーション作用を示さなかった。

さらに、ラットを用いた6ヵ月間までの混餌投与試験においてオフロキサシンによる前腫瘍性病変の発生頻度の増加は報告されておらず、比較的長いヒト臨床における使用歴があるが、副作用として腫瘍の発生は知られていない。

これらのことから、発がん性試験を欠いていてもADIの設定は可能であると判断された。

【光毒性について】

1990年代後半からフルオロキノロン剤について光毒性／光遺伝毒性があることが報告されてきており、そのメカニズムについては光照射によって活性化された分子のDNAとの直接作用、光照射によって生じた活性酸素やフリーラジカルの生成による二次的傷害が提案されている。フルオロキノロン剤の光毒性や光遺伝毒性の程度についてはいくつかの報告があり、構造的に6位及び8位にハロゲン置換基を有するフルオロキノロン剤が明らかに強い光毒性を示すこと、8位にメトキシ基を有する場合、光毒性は著しく減弱することが報告されている⁽⁴⁸⁾。オフロキサシンは8位と1位で環構造を有しており構造的に光毒性が強い部類には相当しない。オフロキサシンあるいはレボフロキサシンについて、*in vivo* 光遺伝毒性については報告がない。*in vitro* ではCHLV79培養細胞を用いたUV照射による細胞毒性の増強、コメットアッセイ⁽⁴⁹⁾や光小核試験⁽⁵⁰⁾でいずれもUV照射による毒性の増強が認められたが、他のフルオロキノロン剤との比較では相対的に弱いものであった。また、UV照射後のマウスの耳介炎症を指標とした試験⁽⁴⁸⁾において光毒性は比較的弱いこと、レボフロキサシンのヒトボランティアのUV照射後皮膚紅斑を指標とした試験においては、1回100mg、1日3回の投与で影響は認められなかったこと⁽⁵¹⁾、市販後調査において強い光毒性が認められた例は1/1,800,000であったことが報告されている⁽⁵²⁾。これらのことから、オフロキサシンについてはフルオロキノロン剤の中では光毒性／光遺伝毒性は弱い部類に分類される。また、適切に管理される限り、通常食品中のオフロキサシンの残留はごく微量であり、食品を介して生体にとって問題となる光遺伝毒性が生じる可能性は無視できる程度と考えられる。なお、現在得られている用法、用量においては、残留試験において5日間の休薬期間後の残留値は検出限界以下と報告されている。