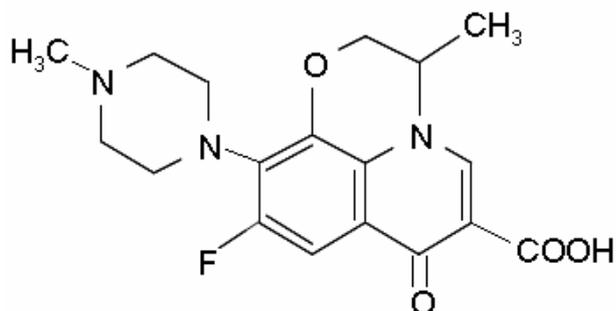


オフロキサシンの食品健康影響評価について(案)

1. 薬剤の概要

(1) 物質名^{(1),(2)}

オフロキサシン(Ofloxacin)



分子式 : $C_{18}H_{20}FN_3O_4$

分子量 : 361.37

常温における性状 : 帯微黄白色～淡黄白色の結晶または結晶性粉末

融点 : 260～270 (分解)

溶解度 : 2 g/L (20)

蒸気圧 : nonvolatile

(2) 効能・効果

オフロキサシンはニューキノロン^a剤に属し、グラム陰性菌に加え、多くのグラム陽性菌に対しても有効である。作用は殺菌的であり、細菌の型トポイソメラーゼ^bであるDNA ジャイレース、あるいはトポイソメラーゼに作用しDNA複製を阻害するものと考えられている(グッドマンギルマン薬理学)。オフロキサシンは2つの光学異性体のラセミ体であるが、(S)-(-)-アイソマーが(R)-(+)-アイソマーと比較してより強い抗菌活性を示し、オフロキサシンが示す抗菌活性の主要をなすことが明らかになっている。現在、(S)-(-)-アイソマーは単独でレボフロキサシン(Levofloxacin)として利用されている。

(3) その他

オフロキサシンを主剤とする動物用医薬品は、国内では鶏の呼吸器性マイコプラズマ病、大腸菌症を対象に使用されている。欧州、米国では食用動物に対しては使用されていない。また、オフロキサシン及びレボフロキサシンはヒト臨床において上・下気道感染症や尿路感染症の治療薬として使用されている。

^a ノルフロキサシン以降に合成された塩基性環の6位にフッ素、7位に環状塩基性基を有するキノロン薬を総称して言う。

^b DNA鎖に一時的な切れ目を導入し、閉環DNAの超らせんの程度の調節や連環状二量体の形成・解離に作用する。

2. 毒性試験の概要

2-1. 吸収・分布・代謝・排泄

【マウスにおける単回投与試験】(追加資料10、論文5)

ICR系マウス(雄5匹)におけるオフロキサシン(5mg/kg体重)の単回強制経口投与において、 T_{max} は0.5時間以内であり、その時の C_{max} は約1.3 $\mu\text{g/ml}$ であった。 $T_{1/2}$ (相)は1.0時間であった。(追10)

ICR系マウス(雄最低8匹/群)にオフロキサシン40mg/kgを経口あるいは筋肉内投与し、最長180分までの血液を経時的に採取した。 C_{max} は経口投与で14.5 $\mu\text{g/mL}$ 、筋肉内投与で16.8 $\mu\text{g/mL}$ 、 $T_{1/2}$ (相)はそれぞれ46と45分、AUCは15.1と23.5 $\mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$ で生物学的利用率は64%であった。また、24時間までの尿から経口投与で39.5%、筋肉内投与で35.1%が回収された。(論文5)

【ラットにおける単回投与試験】(追加資料10)

Wister系ラット(5匹;性別不明)におけるオフロキサシン(5mg/kg体重)の単回強制経口投与において、 T_{max} は0.5時間以内であり、その時の C_{max} は約1.7 $\mu\text{g/ml}$ であった。 $T_{1/2}$ (相)は1.8時間であった。

Wister系ラット(3匹;性別不明)にオフロキサシン(10mg/kg体重)を単回強制経口投与し、投与0.5, 1, 2時間後の血清中及び各組織中濃度が測定された。心臓、肝臓、腎臓、脾臓、筋肉、小腸のいずれにおいても血清中より高い濃度が検出されたが、特に肝臓、腎臓、小腸で高く認められた。しかしながら、いずれの器官においても経時的な減少傾向を示し、蓄積性は認められなかった。脳からはほとんど検出されなかった。

【イヌにおける単回投与試験】(論文6)

雄ビーグル犬(各3頭/群)におけるオフロキサシン(5, 10, 20mg/kg体重)の7日の強制経口投与において、投与初日と7日目の T_{max} 、 C_{max} 、 $T_{1/2}$ (相)に差は認められなかった。

投与初日の T_{max} は用量順に1.7, 1.0, 1.7時間、その時の C_{max} は約3.4, 6.8, 12.1 $\mu\text{g/mL}$ 、 $T_{1/2}$ (相)は5.2, 4.3, 4.8時間であった。投与7日目の T_{max} は用量順に2.0, 1.0, 2.0時間、その時の C_{max} は約3.3, 6.0, 11.5 $\mu\text{g/mL}$ 、 $T_{1/2}$ (相)は5.2, 4.7, 4.5時間であった。

【鶏における単回投与試験】(資料10-1)

ブロイラー(雄5羽/群)にオフロキサシン(12.5, 25, 50mg/kg体重)を単回強制経口投与し、0.25, 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 12, 24時間後の血清中薬物濃度の消長が測定されている。 T_{max} は投与量順に1, 1.6, 2.4時間であり、その時の C_{max} は5.8, 8.5, 12.9 $\mu\text{g/mL}$ 、 $T_{1/2}$ (相)は1.73, 2.47, 2.58時間であった。いずれも24時間後には検出限界未満(0.8ppm)となった。

雄ブロイラーにオフロキサシン25mg/kg体重を単回強制経口投与し、1, 2, 4, 6, 8, 12, 24時間後に5羽ずつを用いて組織中薬物濃度の消長が測定されている。各組織の T_{max} は筋肉が2時間、腎臓、肝臓、脾臓、肺、心臓は1時間で、 C_{max} は順に9.4, 44.7, 37.6, 10.7, 8.8, 6.9 $\mu\text{g/g}$ 、 $T_{1/2}$ (相)は順に1.35, 2.11, 1.82, 1.85, 1.28, 1.75時間であった。いずれも24時間後には検出限界未満となった。

採卵用SPF鶏ラインS(雄3羽)にオフロキサシン100mg/kg体重を強制経口投与し、24時間までの尿を採取した^c。TLCでは未変化体、N-脱メチル化体の2スポットが認められた。HPLCを用いた定量による未変化

^c 総排泄腔から尿のみ排泄されるよう処置

体:N-脱メチル化体比は最大でも 1:0.0044 であった。

【ヒトボランティアにおける投与試験】(論文1,2,3,4)

6名の健常ボランティア(女性5、男性1)に200mgのオフロキサシンを12時間間隔で1日2回を3.5日間(合計7回)経口投与し、投与前及び最終投与後0.25, 0.5, 1, 1.5, 2, 3, 6, 12, 27, 36時間後に血液が採取された。本試験における T_{max} は1.9時間(0.5-3.0時間)、その時の C_{max} は2.96 $\mu\text{g/mL}$ (2.17-4.01 $\mu\text{g/mL}$)、 $T_{1/2}$ (相)は6.6時間(6.5-7.0時間)であった。(論文1)

14名の男性健常ボランティアに400mgのオフロキサシンを12時間間隔で1日2回を3.5日間(合計7回)経口投与し、1及び7回目の投与の際に投与前及び投与後0.25, 0.5, 1, 1.5, 2, 3, 6, 12時間後の血液を採取した。7回目についてはさらに投与後16, 20, 24, 28及び32時間後の血液も採取した。初回投与後における T_{max} は1.5時間、その時の C_{max} は4.5 $\mu\text{g/mL}$ 、 $T_{1/2}$ (相)は4.6時間、7回目の投与後における T_{max} は1.8時間、その時の C_{max} は6.5 $\mu\text{g/mL}$ 、 $T_{1/2}$ (相)は6.5時間であった。(論文2)

6名の健常ボランティアに600mgのオフロキサシンを単回経口投与したときの T_{max} は1.2時間、その時の C_{max} は10.7 $\mu\text{g/mL}$ 、 $T_{1/2}$ (相)は7時間であった。また、48時間までに80.3%が尿中に排泄された。(論文3)

10名の健常ボランティア(男女各5名)に100あるいは200mgのオフロキサシンを静脈内投与したときの $T_{1/2}$ (相)はそれぞれ約4.5、4.2時間でAUCは7.3、14.4 $\text{mg}\cdot\text{h/L}$ であった。また、24時間までに73.1、77.0%が尿中に排泄された。同じボランティアに200あるいは400mgのオフロキサシンを経口投与したときの T_{max} はそれぞれ約1.3、1.9時間、その時の C_{max} は2.19、3.51 $\mu\text{g/mL}$ 、 $T_{1/2}$ (相)は約5.6、4.9時間で、AUCは14.6、28.0 $\text{mg}\cdot\text{h/L}$ であった。また、24時間までに73.6、73.3%が尿中に排泄された。経口及び静脈投与時のAUCの比較からオフロキサシンの生物学的利用率は極めて高いと考えられた。代謝物について、200mgを経口、静脈内投与したときの尿を分析したところ、未変化体が73.6、77.0%、脱メチル化体が3.0、3.2%、N-オキサイドが1.0、1.1%であった。その他グルクロン酸抱合体が胆汁あるいは糞中に3.9%認められたと報告されている。(論文4)

2-2.毒性試験

(1)急性毒性試験(資料4-1, 4-2, 論文7)

オフロキサシンの経口投与による LD_{50} はマウス(Std:ddY系)の雌で5290 mg/kg 体重、雄で5450 mg/kg 体重、ラット(Wister系)の雌で3750 mg/kg 体重、雄で3590 mg/kg 体重、イヌ(ビーグル)では雌雄とも $>200\text{mg}^d$ 、リスザルの雄で500-1000 mg/kg^e であった。静脈内投与では、マウス(Std:ddy系)の雌で233 mg/kg 体重、雄で208 mg/kg 体重、ラット(Wister系)の雌で276 mg/kg 体重、雄で273 mg/kg 体重、イヌ(ビーグル)では雌雄とも $>70\text{mg}^f$ であった。皮下投与ではマウス(Std:ddy系)では雌雄とも $>10000\text{mg/kg}$ 体重、ラット(Wister系)の雌で9000 mg/kg 体重、雄で7070 mg/kg 体重であった^g。(資料4-1)

また、主要代謝物であるN-脱メチル体をマウス(Slc:ddY)に静脈投与した場合の LD_{50} は雌で40.2 mg/kg 体重、雄で38.5 mg/kg 体重で未変化体より強い急性毒性を示した。(資料4-2)

^d 200,400mgの2用量について実施し、死亡は認められなかったが嘔吐が観察された(1/2, 2/2)。

^e 500mgで死亡なし(0/3)、1000mgではすべて死亡(4/4)

^f 50,70mgで死亡なし(各0/2)、100mgで1頭死亡(1/2)

^g 皮下投与では投与部位に薬剤の残留が認められ、吸収が不十分であったと考えられた。

レボフロキサシンの経口投与による LD₅₀ はマウス(Std:ddY 系)の雌で 1803mg/kg 体重、雄で 1881mg/kg 体重、ラット(SD)の雌で 1507mg/kg 体重、雄で 1478mg/kg 体重、カニクイザルの雌で >250mg/kg 体重であった。(論文 7)

(2) 亜急性毒性試験

【ラットを用いた 4 週間亜急性毒性試験】(資料 5-1)

約 6 週齢の Slc:Sprague-Dawley 系ラット(雌雄各 5 匹/群)を用いた強制経口(0, 30, 90, 270, 810 mg/kg 体重/日)投与における 4 週間の亜急性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。なお、試験期間中に 810mg 投与群の雌雄各 1 匹が死亡したが、剖検所見から気管内への誤投与が原因と考えられた。

一般的な臨床症状観察では、270mg 以上の投与群で流涎、軟便、尿道口周囲の汚れ及び粗毛が認められた。

体重変化では、270mg 以上投与群の雄で体重増加量が減少していた。統計学的に有意ではないが 90mg 投与群の雄でも体重増加の低値が認められた。雄の 270mg 以上投与群の最終体重は対照群と比較して低値を示した。

摂餌量では、270mg 以上投与群の雌雄で投与の初期に減少傾向が認められたが、その後差は認められなくなった。飲水量は 270mg 以上の投与群で用量相関的に増加していた。

眼検査(眼底カメラ)、聴覚検査^h、心電図検査では投与に起因した異常は認められなかった。

血液学、血液生化学的検査は投与終了時についてのみ実施されている。

血液学的検査では、雌の全ての投与群で好中球の減少が認められたが用量相関性はなかった。810mg 投与群の雄で Hb の増加と骨髓液の顆粒球/赤芽球比の低値が認められた。

血液生化学的検査では、90mg 以上投与群の雄及び 810mg 投与群の雌でビリルビンの低値が認められたが、雄では用量相関性は認められなかった。また、810mg 投与群の雌雄で無機リン酸の高値、雄で AP、Cl⁻ の高値、BUN の低値、総たん白質の低値、雌で Tcho の高値、ロイシンアミノペプチダーゼの低値が認められた。

尿検査は投与 4 週目の始めのみ実施されているが、270mg 以上投与群の雌雄で Na⁺ の排せ量の用量相関的な減少が認められた。

臓器重量では、雌の全ての投与群と雄の 90mg 投与群で盲腸の相対及び絶対重量の増加が認められた。810mg 投与群の雌雄で心臓の相対及び絶対重量の低値、雄で肺の相対及び絶対重量の低値が認められた。心臓については 270mg 投与群の雌で相対重量の低値が認められた。その他、270mg 以上投与群の雌で脳の絶対重量の低値、810mg 投与群の雄で腎臓の絶対重量の低値が認められた。盲腸を除き、これらに関連する生化学的あるいは病理組織学的所見は認められなかった。

剖検及び病理組織学的検査では、盲腸の拡張が全ての投与群で認められ、病理組織学的には吸収上皮細胞の腫大が 810mg 投与群の雌雄で認められた。270mg 以上の投与群で十二指腸又は空腸の粘液原増加を伴う杯細胞の軽度の腫大・増数が認められた。810mg 投与群の雄で大腿骨及び上腕骨遠位端の関節軟骨表層部における基質の限局性粗しょう化が認められた。その他の臓器・組織には、特に被験物質投与に起因した異常は認められなかった。

本試験においては、全ての投与群で盲腸重量の増加、盲腸の拡張が認められたため、NOAEL は求めら

^h ガルトン笛に対する Preyer's 反射の観察

れなかった。ただし、この盲腸の所見は腸内細菌叢のかく乱の二次的影響と考えられる。これを除いた場合の NOAEL は 90mg/kg 体重であった。

【ラットを用いた 26 週間亜急性毒性試験】(資料 5-2)

約 5 週齢の Slc: Sprague-Dawley 系ラット(雌雄各 15 匹/群、対照群と最高用量群は 25 匹/群)を用いた強制経口(0、10、30、90、270 mg/kg 体重/日)投与における 26 週間の亜急性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。なお、各投与群の雌雄各 5 匹は 13 週時点で安楽死させ、尿、血液学、血液生化学、剖検、病理組織学的検査を実施した。また、対照群と最高用量群の雌雄各 5 匹について投与終了後 5 週及び 13 週の回復期間が設定された。

一般的な臨床症状観察では、90mg 以上投与群で流涎、270mg 以上の投与群で軟便、尿道口周囲の汚れが認められた。

体重、摂餌量、飲水量は週 1 回の頻度で測定されている。

体重変化では、270mg 投与群の雄で初期の体重増加量が減少していた他、体重増加量、最終体重とも被験物質の投与に起因した影響は認められなかった。

摂餌量では、270mg 投与群の雄で投与 1 週目に減少傾向が認められたが、その後差は認められなくなった。飲水量は 270mg 投与群の雌雄で増加していた。

眼検査(眼底カメラ)、聴覚検査¹では投与に起因した異常は認められなかった。心電図検査では心拍数及び QRS 間隔に軽度の変動が見られたが、値は正常範囲内であった。

血液学、血液生化学的検査は 13 週と 26 週の投与終了時についてのみ実施されている。

血液学的検査では、13 週では雌の 270mg 投与群で好中球の低値、26 週では 30mg 以上投与群の雌で好中球の減少とリンパ球の増加が認められ、270mg 投与群では WBC は増加していた。このうち、好中球の減少は 4 週間の試験でも認められた。雄ではこれらの変化は認められなかった。

血液生化学的検査では、13 週では 270mg 投与群の雄で AP の高値、雌でアルブミンの高値が認められた。26 週では雌の 270mg 投与群で AST、無機リン酸、Tcho の高値が認められた。雄の全ての投与群でアルブミンの高値と、30mg 以上投与群ではアルブミン/グロブリン比の高値が認められたが、用量相関性は定かではなかった。その他には被験物質の投与に起因した異常は認められなかった。

尿検査は投与 13 週及び 26 週の投与終了後のみ実施されている。13 週では 270mg 投与群の雄で Na⁺の排泄量の減少が認められた。これは 10mg 投与群の雄でも認められたが、13 週の雌、26 週の雄では認められず、26 週の雌の 90mg 投与群では増加していた。26 週では雄の 90mg 以上投与群で pH の高値、雌では Cl⁻の高値が認められた。その他には特に被験物質の投与に起因した異常は認められなかった。

臓器重量では、13 週の剖検では 30mg 以上投与群の雄で盲腸の相対及び絶対重量の増加が認められ、雌では盲腸の相対重量の増加が 30mg 以上投与群で認められ、270mg 投与群では絶対重量も増加していた。26 週の剖検では、盲腸の相対及び絶対重量の増加が雌の 30mg 投与群及び 90mg 以上投与群の雌雄で認められた。その他、90mg 以上投与群の雌で脾臓の相対及び絶対重量の増加、270mg 投与群の雌で甲状腺と副腎の相対及び絶対重量の増加が認められた。脾臓について病理組織学的異常は認められなかった。また、盲腸、副腎の変化は投与中止後 5 週、13 週の回復期間に回復した。

剖検及び病理組織学的検査では、13 週では雄の 30mg 以上投与群と雌の 90mg 以上投与群に、26 週の時点では盲腸の拡張が 30mg 以上投与群の雌雄で認められたが、病理組織学的な異常は認められなかった。

¹ ガルトン笛に対する Preyer's 反射の観察

また、大腿骨遠位端の関節軟骨の異常が対照群を含めて全ての群で認められ、その発生頻度と程度は高用量でより強かったが、動物数が少なく、明確な NOAEL は求められなかった。副腎の束状帯細胞に脂質滴の軽度の増加が 26 週の 270mg 投与群の雌雄で認められた。

本試験においては、間接軟骨に対する影響の NOAEL が明確に求められなかったため、NOAEL は決定できなかった。

【ラットを用いたレボフロキサシンの 26 週間亜急性毒性試験】(論文 8)

約 5 週齢の CD(SD)ラット(雌雄各 20 匹/群) を用いた強制経口(0, 20, 80, 320 mg/kg 体重/日)投与における 26 週間の亜急性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。

一般的な臨床症状観察では、80mg 以上投与群で流涎、320mg 投与群で大きめの糞、被毛の汚れが認められた。

体重、摂餌量は週 1 回の頻度で測定されている。

体重変化では、被験物質の投与に起因した影響は認められなかったが、摂餌量は、80mg 以上投与群でやや増加していた。

眼検査、心電図検査では被験物質の投与に起因した影響は認められなかった。

血液学、血液生化学的検査は 26 週の投与終了時についてのみ実施されている。

血液学的検査では、全ての投与群の雌雄で好中球の低値が認められたが、WBC や骨髄に影響は認められなかった。好中球の減少はオフロキサシンの 30mg 以上投与群でも認められていた(10mg では影響なし)。

血液生化学的検査では、雄の全ての投与群で LDH、クレアチニン、Ca⁺の高値が認められたが用量相関性はなく、80mg 以上投与群で総たん白質の低値が認められたが、A/G 比に差はなかった。雌の 320mg 投与群で AP の高値、中性脂肪の低値が認められた。ただし、これらの変化の原因と考えられる病理学的所見は認められなかった。

尿検査は 26 週のみ実施されている。80mg 以上投与群の雌雄で pH の高値が認められた。その他には特に被験物質の投与に起因した異常は認められなかった。

臓器重量では、全ての投与群で盲腸(内容物含む)の絶対重量が増加し、80mg 以上投与群では統計学的に有意となった。内容物を除去した盲腸では 80mg 以上投与群で増加傾向が認められ、雌の 320mg 投与群では有意であった。その他には特に被験物質の投与に起因した異常は認められなかった。

剖検では、延長した盲腸(elongated)が 80mg 以上投与群の雌雄で、盲腸の拡張が雄の全ての投与群と 320mg 投与群の雌で認められた。胃の腺粘膜(glandular mucosa)の肥厚が雄の全ての投与群と雌の 20 及び 320mg 投与群で認められたがこれは病理組織学的異常を伴っていなかった。

病理組織学的検査では 320mg 投与群で盲腸粘膜の杯細胞が対照群と比較して顕著に認められた。胃には顕著な異常は認められなかった。

本試験において関節影響は認められなかったが、先だって実施された 4 週間の亜急性毒性試験では水疱形成が認められている。筆者らは試験期間中の回復が関与しているのではないかと推測している。

本試験においては、全ての投与群で盲腸の拡張が認められたため、NOAEL は求められなかった。ただし、この盲腸の所見は、腸内細菌叢のかく乱の二次的影響と考えられる。これを除いた場合の NOAEL は 20mg/kg 体重であった。

【サルを用いたレボフロキサシンの 26 週間亜急性毒性試験】(論文 8)

2-4 齢のカニクイザル(雌雄各 4 匹/群) を用いた強制経口(0, 10, 25, 62.5mg/kg 体重/日)投与における 26

週間の亜急性毒性試験が実施されている。

一般的な臨床症状観察、体重変化、摂餌量、眼検査(直接検眼鏡)、心電図検査、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、臓器重量、剖検、病理組織学的検査に被験物質の投与に起因した影響は認められなかった。

なお、体重、摂餌量は週1回の頻度、眼検査は26週のみ、心電図検査は25週のみ、採血は25週のみ、採尿は26週のみ実施されている。

本試験におけるNOAELは62.5mg/kg体重/日であった。

(3)慢性毒性試験

慢性毒性試験・発がん性試験は実施されていない。

発がんプロモーション作用について種々の発がん物質であらかじめ処置されたラットに対するレボフロキサシンの影響が報告されている。

あらかじめ3種の発がん性物質(DEN; diethylnitrosamine、MNU; N-methylnitrosourea、DHPN; dihydroxy-di-N-propylnitrosamine)で処理(DMD処理)した雄ラット(F344/Du Crj; 1群15匹)に、5種類の被験物質(レボフロキサシン(LV; 0.9%混餌投与)、N-butyl-N-(4-hydroxybutyl)-nitrosamine(BBN; 0.1%飲水投与)、N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine(MNNG; 0.005%飲水投与)、catechol(CC; 0.8%混餌投与)、phenobarbital(PB; 0.05%混餌投与))を16週間投与し、各組織への影響が調査された。対照群として未処理対照群、DMD処理対照群、LV処理対照群が設定された。摂餌量あるいは摂水量から求められた各被験物質の実摂取量は、LVが667.8、BBNが81.7、MNNGが4.1、CCが601.6、PBが32.9mg/kg体重/日であった。

剖検では未処理対照群、LV処理対照群ではLV処理対照群で盲腸の拡張が認められた(16/16)他に、異常所見は認められなかった。盲腸の拡張はDMD処理されたLV処理群でも同様に認められた。DMD処理対照群では肺で半透明の灰白色病変(15/15)、肝臓で退色病変(1/15)、結節(1/15)が認められた。各処理群では、BBN処理群で膀胱の結節(15/15)、CC処理群で前胃の結節(8/15)が認められ、これら発生頻度は、DMD処理対照群と比較して有意であった。肺ではDMD処理された全ての群で半透明の灰白色病変が高頻度で認められ、肝臓では退色した病変がPB処理群(2/15)で、結節がBBN処理群(3/15)、CC処理群(1/15)、PB処理群(4/15)で認められた。この他、腎臓で退色した病変がBBN処理群(1/15)に、前立腺で結節がCC処理群(1/15)に、空腸で結節がMNNG処理群(1/15)に認められた。

病理組織学的検査では、未処理対照群、LV処理対照群では異常所見は認められなかった。DMD処理対照群では肺で気管支上皮過形成(13.1/cm²)、気管支/肺泡腺腫(2/15)、肝臓で細胞変性病変(altered cell foci; 5.0/cm²)、前胃で上皮細胞乳頭腫(1/15)、精巣で中皮腫(2/15)、精嚢で上皮過形成(1/15)、甲状腺で濾胞性嚢胞(1/15)、濾胞細胞癌腫(2/15)、脊髄でシュワン細胞過形成(1/15)が認められた。各処理群ではBBN処理群の膀胱の移行上皮過形成(15/15)、移行上皮乳頭腫(14/15)、CC処理群の前胃の扁平上皮細胞過形成(14/15)、扁平上皮乳頭腫(7/15)、腺胃の粘膜下組織増殖(8/15)、PB処理群の肝臓の細胞変性病変(10.5/cm²)、甲状腺の濾胞性嚢胞(14/15)、濾胞細胞過形成(7/15)がDMD処理対照群と比較して統計学的に有意に高頻度で認められた。また、MNNG処理群では統計学的に有意ではないが尿管の移行上皮過形成(2/15)、前胃の扁平上皮細胞過形成(3/15)、精嚢の上皮過形成(4/15)、甲状腺の濾胞性嚢胞(5/15)がDMD処理対照群と比較して高頻度で認められた。

^j LV処理対照群、LV処理群は16匹

一方、LV 処理群では特に発生頻度の上昇が認められたがんや前がん病変はなく、肺の気管支上皮過形成(10.0/cm²)、肝臓の細胞変性病変(altered cell foci ; 2.8/cm²)はむしろ有意に低下していた。

これらのことから、レボフロキサシンは発がんプロモーション作用を有さないことが示唆された。(論文9)

(4)繁殖毒性試験及び催奇形性試験

2 世代繁殖試験は実施されていない。

【ラットを用いた妊娠前及び妊娠初期投与試験(第 節)】(資料6-1)

Slc:SD 系ラット(雌雄各 24 匹/群)を用いた強制経口 (0, 10, 60, 360mg/kg 体重/日)投与による試験を行ったにおいて認められた毒性所見は以下の通りであった。被験物質の投与は、雄では交配前9週間及び 63 日から交配期間中(最長2週間)とし、を通じて実施し、さらに交尾が成立した雄には妊娠 21 日まで行った。雌では交配の2週間前 14 日から妊娠 7 日までの間行った。雄は交配終了後、雌は妊娠 21 日に屠殺した。試験期間中に雄の対照群の 1 匹、360mg 投与群の 2 匹、雌の 60mg 投与群の 1 匹が投与時と体重測定時の事故により死亡した。

一般的な臨床症状観察では、360mg 投与群の雌雄で投与直後に流涎が認められた。雄で軟便及び下痢、雌で尿失禁が散見された。10 mg 投与群の雌雄親動物の体重、摂餌量及び摂水量に投与に起因した変化はみられなかった。60 mg 投与群では雄の摂水量増加及び雌の摂餌量・摂水量の減少、360mg 投与群では雄の体重増加抑制、雌雄の摂餌量の増減、摂水量の増加が認められた。、投与8及び50日目の体重は低値を示した。その他の投与群の雄及び雌には投与に起因すると考えられる体重の変化は認められなかった。摂餌量は360mg 投与群の雄で投与4日まで減少し、15-22日では増加した。雌では60mg 以上投与群で4日まで減少した。摂水量は雄では60mg 投与群で一時的に、360mg 投与群でしばしば増加した。雌では60mg 投与群で一時的な減少、360mg 投与群で一時的に増加していた。

母動物の性周期、交尾率、受胎率に異常は認められなかった。

黄体数、着床数、着床率、生存胎児数、胚/胎児死亡吸収率、生存胎児体重、性比に投与の影響は認められなかった。何れの群の胎児にも外表の異常は観察されなかった。胎児の骨格及び内部器官の検査では投与に関連した異常は観察されなかった。骨格変異として頸肋骨が60mg 以上投与群、腰肋骨が60mg 投与群、第13肋骨短小が360mg で対照群と比較して発生頻度の増加が認められたが、順位和検定では有意差はなかった。その他骨格、内臓の異常が散見されたが、いずれも対照群と比較して発生頻度に有意差は認められなかった。

本試験における NOAEL は、親動物の一般毒性に対して 1010 mg/kg 体重/日(摂餌量、摂食量の変動)、生殖発生に対して 360 mg/kg 体重/日であった。

【ラットを用いた催奇形性試験(第 節)】(資料6-2)

Slc:SD 系ラット(雌各 36 匹/群)を用いた強制経口 (0, 10, 90, 810mg/kg 体重/日)投与による試験を行った。において認められた毒性所見は以下の通りであった。被験物質の投与は、F₀雌の妊娠 7 日から 17 日までの間行い各群 24 匹を妊娠 21 日に剖検した。12 匹の F₀については自然分娩させ、離乳まで F₁児を哺育させた。F₁児は11 - 15週齢の同群内の雌雄の F₁を交配妊娠させ、妊娠21日に剖検し、F₂への影響を調べた。投薬せずに育成、交配し、妊娠させた。また、発育、行動が観察された。

F₀ 母動物の一般的な臨床症状観察では、810mg 投与群でほぼ全例に流涎、少数例に被毛の汚れ、軟便

及び尿失禁が**みられた**。散見されたが死亡例は認められなかった。体重では 810mg 投与群で、妊娠後期に体重増加抑制が認められ、妊娠 21 日の体重は低値を示した。摂餌量及び摂水量では 810mg 投与群で投与初期の**に減少し、たがその後の増加がみられた**は回復した。摂水量は 810mg 投与群で投与初期に減少、その後は増加が認められた。

F₀ 母動物の平均黄体数、平均着床数、平均着床率、平均生存胎児数に**投与の影響差は認められなかった**。810mg 投与群で**胚 / 胎児死亡吸収率の上昇がみられ、90 mg 以上投与群で胎児体重の低下が観察された**。は 810mg 投与群で増加したが、順位和検定では有意ではなかった。性比、体重に投与の影響は認められなかった。

F₁ 胎児の**外表及び内部器官の検査では投与の影響は認められなかった**。奇形は 10mg 投与群の 1 匹に口腔内口蓋上皮の剥離が認められたのみで、内臓異常については対照群を含めて腎盂拡張がまれに認められたのみであった。骨格**検査では異常については、90mg 以上投与群で前肢基節骨、後肢基節骨、尾椎骨化骨等で数から見た化骨進行度の遅延が認められ、810mg 投与群では胸骨核の化骨不全及び未骨化ならびに中足骨の化骨不全、の出現率が増加した**。また頸肋骨、第 13 肋骨短小の**出現率の上昇がみられた**が増加した。**奇形胎児の出現率に投与の影響はみられなかった**。

各群 12 匹の F₀ 母動物については分娩、哺育させ、F₁ 離乳児は交配、妊娠させた。

F₀ 母動物の平均妊娠期間に異常は認められなかった。分娩率が 10 及び 90mg 投与群で低下したが、810mg 投与群では異常は認められなかった。

F₁ 出生児の性比に異常は認められなかった。810mg 投与群の F₀ 母動物が出産した F₁ 児動物において、**の生後4日までの生存率低下、出生時体重は低値を示し、雄の生後0日 11週及び雌の生後0日 78週で体重の低値がみられた**。雌児では哺育期間中を通じて低値を示した。生後 4 日までの生存率に差はなかった。F₁ 児動物の耳介展開、背部発毛、切歯萌出、眼瞼開裂に被験物質の投与に起因した異常は認められなかった。離乳後の**視覚及び聴視覚機能、聴覚機能の検査^k、情動性、学習能に投与の影響異常は認められなかったが、810 mg 投与群の雄において自発運動量の可逆性の低下が観察された**。内臓異常は認められなかったが、810mg 投与群で骨格変異(第 13 肋骨欠損)の増加が認められた。

離乳後の F₁ 児の体重については、810mg 投与群の出生児で増加抑制傾向が認められ、雌は 49 日、雄は 77 日まで低体重を示した。生後 4 週齢時に耳介反射閾値^l、5 週齢時に自発運動量測定^m、生後 6 週齢時に情動性の検査ⁿ、生後 7 週齢に条件回避学習試験^oを実施した。810mg 投与群出生児の雄で自発運動量の低下が認められた他には被験物質の投与に起因した異常は認められなかった。

F₁ 児の**精巣下降、膣開口等の性成熟、交尾率、妊娠率、黄体数、着床数、生存胎児数、死亡吸収胚 / 胎児死亡数、胎児性比、生存胎児体重等の F1 / F2 の生殖発生毒性指標に投与による影響に異常は認められなかった**。

本試験における NOAEL は、母動物に対して 90mg/kg 体重/日、**児動物胎児に対して 10mg/kg 体重/日であった。催奇形性は 810mg/kg 体重/日の用量まで認められなかった**。

^k 視覚性引き直し反応、ガルトンホイッスルによる耳介反射

^l Audiometer による 2、8、15KHz における耳介反射測定

^m 運動量測定装置(Varimex)による

ⁿ Dandiya らの装置による Open field test

^o Shuttle box を用いた刺激回避

【ラットを用いた周産期及び授乳期投与試験(第 節)】(追加資料6)

SD ラット(妊娠雌 20-24 匹/群)を用いた強制経口 (0, 10, 60, 360mg/kg 体重/日)投与による試験を行ったにおいて認められた毒性所見は以下の通りであった。被験物質の投与は、F0 の妊娠 17 日から分娩後 20 日まで行った。い、F0 を自然分娩させ、離乳まで F1 児を哺育させ、F1 の成長、行動、生殖能を調べ、同群内の雌雄の F1 を交配妊娠させ、F2 への影響を調べた。60mg 投与群で F0 の摂餌量と摂水量の増加、の間行った。その後、F1 児は投薬せずに育成、交配し、妊娠させ、発育、行動が観察された。

一般的な臨床症状観察で、母動物への影響として、60mg 投与群で摂餌量及び摂水量の増加、360mg 投与群で妊娠期間中の摂餌量減少、授乳期間中の摂餌量と摂水量の増加が認められた。

妊娠期間、分娩状態、着床数、出生児数、出生児体重、外表異常胎児出現率、児の生存率、成長、行動及び生殖能等の F0 / F1 及び F1 / F2 の生殖発生に投与による影響はみられなかった。異常は認められなかった。

児ラットの出生後 4 日及び 21 日までの死亡率に差はなかった。また、外表観察において奇形は認められなかった。

F1 児の発育、行動、生殖能力に異常は認められなかった。

本試験における母動物に対する NOAEL は 109 0 10mg/kg 体重/日、児動物に対して 360 mg/kg 体重/日であった。

【ラットを用いた器官形成期における骨格異常発現時期特定試験】(追加資料6)

SD ラット(妊娠雌 5-10 匹/群)に 810mg/kg 体重/日のオフロキサシンを妊娠 7-8、9-10、11-12、13-14、15-17、7-17 日にの各期間強制経口投与し、投与時期が胎児の骨格変異異常発現率の感受期を調べた。に及ぼす影響について検討されている。

妊娠 9-10 日または及び 7-17 日にの間被験物質を投与された群で、頸肋骨、第 13 肋骨短小の出現率が上昇増加した。他の骨格奇形及び異常外表奇形は認められなかった。

【ラットを用いた高用量における催奇形性骨格異常試験】(追加資料6)

SD ラット(妊娠雌 23-24 匹/群)に高用量のオフロキサシン(0, 810, 1100, 1600mg/kg 体重/日)を妊娠 9 及び 10 日に強制経口投与し、胎児に及ぼす影響が検討された。

投与群で用量依存的に胎児体重低下、化骨化遅延、骨格変異(頸肋骨出現、第 13 肋骨短小、第 13 肋骨欠損等)の骨格変異の出現発生率の上昇がみられたが増加した。一方、内臓、外表、骨格及び内部器官の奇形は認められなかった。

【ラットを用いた胎児と哺育児における骨格変異出現率比較試験】(追加資料6)

SD ラット(妊娠雌数不明)にオフロキサシン(0, 810 mg/kg 体重/日)を妊娠 9 10 日に強制経口投与し、頸肋と第 13 肋骨短小の出現率を妊娠 21 日の胎児と生後 21 日の哺育児で比較した。

頸肋は、投与群の胎児と哺育児のいずれにおいても有意に増加した。第 13 肋骨短小の出現率は投与群の胎児において有意に増加したが、生後 21 日の哺育児では対照群と差がみられず、第 13 肋骨短小は骨化遅延を意味する変化と考えられた。

【ウサギを用いた催奇形性試験】(追加資料6)

ニュージーランドホワイト種のウサギ(妊娠雌 10-15 匹/群)を用いた強制経口(0, 10.0, 40.0, 160.0 mg/kg 体

重/日)投与による催奇形性試験において、認められた毒性所見は以下の通りであった。被験物質をの投与は、妊娠6日から18日まで投与したの間行った。

160mg 投与群において親動物の体重及び摂餌量の減少が認められた。また、この用量では胚/胎児の死亡率が増加した。

黄体数、着床数、着床率、生存胎児数、胎児死亡率、生存胎児体重に投与に関連した影響は認められなかったが、160mg 投与群において胚/胎児死亡率が上昇し生存胎児数が減少した。

外表異常、内部器官臓異常及び骨格奇形、化骨化遅延、骨格変異異常の出現率に投与の影響は認められなかった。

本試験における NOAEL は母動物及び胎児に対して 40.0 mg/kg 体重/日であった。催奇形性は 160mg/kg 体重/日の用量まで認められなかった。

(5) 遺伝毒性試験

変異原性に関するオフロキサシン(OFLX)、レボフロキサシン(LVFX)及び(+)-(R)-オフロキサシン(R-OFLX)について実施された、各種の *in vitro* 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 (OFLX)	陰性 ¹ (資料 6-4)
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 ; OFLX)	陰性 ² (資料 6-4)
	<i>S. typhimurium</i> TA1535, TA1537, TA98, TA100, <i>E. coli</i> WP2 <i>uvrA</i>	0.0016 ~ 0.1 µg/plate (± S9 ; LVFX)	陰性 ³ (論文 10)
	<i>S. typhimurium</i> TA1535, TA1537, TA98, TA100, <i>E. coli</i> WP2 <i>uvrA</i>	0.39 ~ 25 µg/plate (± S9 ; R-OFLX)	陰性 ⁴ (論文 10)
前進突然変異試験	CHO(K-1/ <i>Hprt</i>)	0.375 , 0.750 , 1.50 mg/mL (± S9 ; LVFX)	陰性 ⁵ (論文 10)
Rec-assay	<i>Bacillus subtilis</i> M45(Rec ⁻) , <i>Bacillus subtilis</i> H17(Rec ⁺)	3.1 ~ 25 µg/mL (OFLX)	陽性 ⁶ (資料 6-4)
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 ; OFLX, 22h)	陰性 ⁷ (資料 6-4)
	CHL 培養細胞	250 , 500 , 1000 µg/mL (± S9 ; LVFX, 6h)	陰性 ⁸ (論文 10)
		250 , 500 , 1000 , 2000 µg/mL (± S9 ; R-OFLX, 6h)	陰性 ⁸ (論文 10)
		50, 100, 200, 300, 400, 500 µg/mL(-S9 ; 24h, OFLX)	陽性 ⁸ (論文 10)
		50, 100, 200, 300, 400, 500 µg/mL(-S9 ; 24h, R-OFLX)	微陽性 ⁸ (論文 10)
		50, 100, 200, 300 µg/mL (-S9 ; 48h, OFLX)	陽性 ⁸ (論文 10)
		50, 100, 200, 300 µg/mL	弱陽性 ⁸

		(-S9 ; 48h,R-OFLX)	(論文 10)
姉妹染色体交換試験	CHL 繊維芽細胞	0.1 ~ 1000 µg/mL (OFLX)	陰性 ⁹ (資料 6-4)
		50,100,200,300µg/mL (-S9 ; LVFX)	陽性 ¹⁰ (論文 10)
		125,250,500,1000µg/mL (+S9 ; LVFX)	陽性 ¹¹ 250 (論文 10)
	培養ヒトリンパ球	0.1 ~ 300 µg/mL (OFLX)	陰性 ¹² (資料 6-4)

- 1 陽性対照として 4-nitro-quinolone-1-oxide 及び N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine を使用
- 2 0.5µg/plate で 生育阻害が認められた
- 3 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)
- 4 12.5µg/plate 以上で 生育阻害が認められた
- 5 陽性対照としてベンゾ()ピレン(+S9)、ethyl methansulfonate(-S9) を使用
- 6 陽性対照として mitomycin C、対照として kanamycin を使用
- 7 100µg/mL 以上で 細胞毒性が認められた
- 8 陽性対照として ベンゾ()ピレン(+S9) 及び mitomycin C(-S9) を使用
- 9 1000µg/mL で 細胞毒性が認められた
- 10 陽性対照として mitomycin C を使用。200µg/mL 以上で細胞毒性が認められた。
- 11 陽性対照として cyclophosphamide を使用。
- 12 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
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(LVFX)	陰性 ¹ (論文 10)
染色体異常試験 (<i>in vivo/in vitro</i>)	健常男性リンパ球 ²	600 mg/kg 単回経口投与(OFLX)	陰性 (資料 6-4)
姉妹染色体交換試験	マウス骨髄	150 , 300 , 600mg/kg 単回経口投与(LVFX)	陰性 ³ (論文 10)
小核試験	マウス骨髄	10 , 90 , 810 , 2500mg/kg 単回経口投与(OFLX)	陰性 ⁴ (資料 6-4)
		10 , 40 , 160 , 500 mg/kg/日、1 回/日、5 回連続経口投与(OFLX)	陰性 ⁴ (資料 6-4)
		150 , 300 , 600mg/kg 単回経口投与(LVFX)	陰性 ⁵ (論文 10)
		100 , 200 , 400mg/kg/日 1 回/日、5 回連続経口投与(LVFX)	陰性 ⁶ (論文 10)
		150 , 300 , 600mg/kg 単回経口投与(R-OFLX)	陰性 ⁵ (論文 10)

		100, 200, 400mg/kg/日 1回/日、5回連続経口投与 (R-OFLX)	陰性 ⁷ (論文 10)
優性致死試験	SLC-BDF ₁ マウス	250, 2500mg/kg 単回経口投与(OFLX)	陰性 ⁸ (資料 6-5)
		125, 1250mg/kg/日 1回/日、5回連続経口投与 (OFLX)	陰性 ⁸ (資料 6-5)
		30, 90, 270mg/kg/日 1回/日、5回連続経口投与 (LVFX)	陰性 ⁸ (論文 10)

¹ 投与 3, 12 時間後に肝細胞を採取し培養

² 投与 3, 24 時間後に血液を採取し血漿を培養

³ 陽性対照として cyclophosphamide を使用

⁴ 陽性対照として ethylmethanesulfonate を使用

⁵ 陽性対照として cyclophosphamide を使用

⁶ 陽性対照として cyclophosphamide を使用。200mg 以上で多染性赤血球出現頻度が低下。

⁷ 陽性対照として cyclophosphamide を使用。400mg 以上で多染性赤血球出現頻度が低下。

⁸ 陽性対照として methylmethanesulfonate を使用

オフロキサシンは細菌を用いた Rec-assay および CHL 培養細胞を用いた染色体異常試験で陽性であった。レボフロキサシンは CHL 線維芽細胞を用いた姉妹染色分体交換試験で陽性であった。また、R-OFLX は CHL 培養細胞を用いた染色体異常試験で陽性であった。しかし、オフロキサシンは in vivo/in vitro ヒトリンパ球染色体異常試験、in vivo マウス骨髄小核試験およびマウス優勢致死試験で陰性であった。レボフロキサシンは in vivo/in vitro ラット肝細胞 UDS 試験、in vivo マウス骨髄姉妹染色分体交換試験、in vivo マウス骨髄小核試験、マウス優勢致死試験で陰性であった。R-OFLX はマウス骨髄小核試験で陰性であった。即ち、in vivo 試験では全て陰性であった。これらのことから、オフロキサシンは生体にとって問題となる遺伝毒性はないと考えられる。

(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】(資料 6-6,7)

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。(資料 6-6)

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で膠原繊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。(資料6-7)

【若齢犬を用いた8日間関節毒性試験】(論文6)

3ヵ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5mg/kg体重/日であった。

(8)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、180µg/mL)で15分灌流し、ERGが測定された。180µgでB波の振幅と振動電位の減少、108µgで振動電位の減少が認められたが、36µg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100µg/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。100µg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。50µg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。(論文11)

(9)一般薬理試験(資料9-1)

【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】

脳波に対する作用(ネコ; EEG、ECG^P)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

^P Electroencephalogram, Electrocardiogram

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(マウス；Litchfield-Wilcoxon 法(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^q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頻度亢進を示した。妊娠子宮については 10^{-4} g/mL の濃度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】

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)においては3mg/kg の静脈内投与で一過性の股動脈血流量の増加、軽度の呼吸数の増加が認められた。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、

^q 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。

^r 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。

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。

【その他】

前脛骨筋(ウサギ；電気収縮)においては 30mg/kg の静脈内投与で間接及び直接両刺激による収縮が増加し、血圧が一過性に軽度で下降した(10mg/kg では影響なし)。利尿作用(ラット；尿量、Na⁺、K⁺、Cl⁻ 測定)においては 300mg 以上の経口投与で尿量、Na⁺、Cl⁻ の排泄が減少した。

局所麻酔(モルモット；瞬目反射) 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。

(10) 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】

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		21
<i>Bacteroides caccae</i>	10	8	8	1->128	24
<i>Bacteroides distasonis</i>	10	2	8	2-64	23
	12	2	16	2-64	24
<i>Bacteroides fragilis</i>	42	1.56	6.25	0.78-12.5	12
	13	2	4	2-16	13
	51	4	4	2->64	14
	29	4	8	1-16	15
	27	2	2	0.5-8	16
	50	2	4	2-4	17
	20	4	8	2-16	18
	41	3.13	12.5	0.78->25	19
	32	1.0	4.0	1-16	20
	4	2	4		21
	23	1	4	1-128	22

	11	2	4	1-8	23
	23	2	8	2-64	24
	25	1.56	3.13	0.78-3.13	25
<i>Bacteroides fragilis</i> group	52	4	32	1-128	22
<i>Bacteroides melaninogenicuss</i>	20	1	2	0.5-2	17
<i>Bacteroides ovatus</i>	12	16	32	16-32	23
	10	16	16	8-16	24
<i>Bacteroides thetaiotaomicrom</i>	14	16	16	8-256	23
	17	8	128	4-128	24
<i>Bacteroides uniformis</i>	10	8	16	2-64	23
	12	4	8	2-8	24
<i>Bacteroides ureolyticus</i> group	11	0.125	0.5	<0.06-1	24
<i>Bacteroides vulgatus</i>	12	4	8	1-16	23
	12	2	16	1-16	24
<i>Bacteroides</i> spp.(<i>fragilis</i> 除く)	29	8	32	<0.03-64	14
	29	8	32	2-128	22
	17	2	4	0.25-8	23
<i>Bifidobacterium</i> spp.	10	4	4	1-8	22
<i>Clostridium perfringens</i>	17	0.39	0.78	0.39-12.5	12
	50	0.5	1	0.5-1	17
	20	1.0	1.0	0.5-1	20
	6	0.5	1	0.5-1	22
	10	1	1	0.5-1	23
	12	0.5	0.5	0.5-1	24
<i>Clostridium ramosum</i> / <i>innocuum</i> / <i>clostridiiforme</i>	15	16	128	1->128	24
<i>Clostridium</i> spp.	13	2	>64	0.5-16	14
	20	1	8	0.25-16	18
	17	2	8	0.5-256	23
	23	4	16	0.5-32	24
<i>Eubacterium</i> spp.	12	0.5	2	0.5-8	22
	10	1	2	0.25-4	23
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	5	1	2		21
<i>Fusobacterium nucleatum</i> / <i>necrophorum</i>	15	2	2	1-4	23
<i>Fusobacterium mortiferum</i> / <i>varium</i>	19	4	16	2-64	23
<i>Fusobacterium varium</i> / <i>ulcerans</i> / <i>gonidiaformans</i>	14	8	16	2-128	24
<i>Fusobacterium</i> spp.	10	4	4	0.25-64	22
	20	2	16	0.5-64	24
<i>Peptococcus</i> spp.	11	8	16	0.25-16	14
	25	1.56	6.25	0.39-12.5	19
<i>Peptostreptococcus</i> spp.	8	0.5	4	0.25-4	14

	50	2	4	1-4	17
	18	0.5	2	0.12-8	22
	20	0.5	8	0.125-16	23
	22	0.5	8	0.125-16	24
	25	6.25	25	0.20-25	26
<i>Peptococcus/ Peptostreptococcus</i>	10	1	2	0.25-2	18
<i>Prevotella bivia</i>	12	8	8	2-8	24
<i>Prevotella</i> spp. (pigmented)	17	1	16	0.25-64	24
<i>Prevotella</i> spp. (nonpigmented)	14	2	2	1-2	24
<i>Prevotella</i> spp	6	2	8	0.5-32	22
通性嫌気性菌					
<i>Enterococcus faecalis</i>	25	2	2	1-4	18
	50	3.13	6.25	0.78-25	19
	16	4	4	2-4	20
	25	1.56	3.13	0.78-3.13	25
<i>Enterococcus faecium</i>	16	2.0	16.0	1-16	20
<i>Enterococci</i>	10	2	32	1-32	22
	29	2	4	1-4	16
	100	2	4	1-8	17
<i>Escherichia coli</i>	100	0.05	0.19	0.025-1.56	12
	54	0.063	0.125	0.031-1	13
	23	0.06	0.125	0.06-0.125	15
	49	0.06	0.06	0.03-0.5	16
	100	0.06	0.12	0.06-0.12	17
	35	0.06	0.125	0.03-1	18
	50	0.05	0.10	0.025-3.13	19
	32	0.06	0.13	0.03-0.25	20
	39	0.5	1		21
	10	0.06	32	0.03-64	22
	25	0.05	0.05	0.013-0.10	25
<i>Lactobacillus</i> spp.	50	4	32		21
	13	4	32	1-32	22
<i>Propionibacterium acnes</i>	14	1	4	1-8	14
<i>Propionibacterium granulosum</i>	6	1	4	1-4	14
<i>Propionibacterium</i> spp.	11	0.5	0.5	0.25-0.5	24

これらの調査は $10^3 \sim 10^7$ CFU/spotの菌濃度で実施されたが、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(論文12)、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(論文19)。

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、

^s 論文8は未記載

Eubacterium spp., *Peptostreptococcus* spp., *Propionibacterium* spp. 等、複数の菌種で 0.5µg/mL の MIC₅₀ が報告されている。

ATCC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(論文24)。

pH 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(論文 14)。

【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(論文 26)。

【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*) ~ $< 1.6 \times 10^{-9}$ (*P. stuartii*)であった(論文 15)。

(11)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。

[†] () はモード

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。最も高頻度で認められたのは消化器系の不調/痛み(5/5^u)、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。(論文 27)

【フェイズ 、 及び 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 、 及び 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。(論文 28)

【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】

【関節影響に関する知見について】

【繁殖毒性及び催奇形性について】

【遺伝毒性/発がん性について】

【光毒性について】

【毒性学的影響のエンドポイントについて】

【微生物学的影響のエンドポイントについて】

【一日摂取許容量(ADI)の設定について】

【食品健康影響評価について】

以上より、オフロキサ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。

オフロキサシン mg/kg 体重/日

^u 報告被験者数 / 総報告回数

本評価書中で使用した略号については次にならった

ADI	一日許容摂取量
ALT	アラニンアミノトランスフェラーゼ
AP	アルカリフォスファターゼ
AST	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
AUC	血中薬物濃度 - 時間曲線下面積
BUN	血液尿素窒素
cAMP	サイクリック AMP
CHL	チャイニーズハムスター肺由来細胞株
CHO	チャイニーズハムスター卵巣由来細胞株
C _{max}	最高血(漿)中濃度
CPK	クレアチンフォスフォキナーゼ
GOT	グルタミン酸オキサロ酢酸トランスアミナーゼ(AST)
GPT	グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ(ALT)
Hb	ヘモグロビン(血色素)
Ht	ヘマトクリット
LOAEL	最小毒性量
LOEL	最小作用量
MCH	平均赤血球血色素量
MCHC	平均赤血球血色素濃度
MCV	平均赤血球容積
MBC	最小殺菌濃度
MIC	最小発育阻止濃度
MLA	マウスリンフォーマ試験
NOAEL	無毒性量
NOEL	無作用量
T _{1/2}	消失半減期
TBIL	総ビリルビン
Tcho	総コレステロール
TDI	耐用一日摂取量
TG	トリグリセリド
T _{max}	最高血(漿)中濃度到達時間