

不定期 DNA 合成試験	ラット初代肝細胞	2.54～102 µg/mL 5.02～100 µg/mL	陽性 陽性
	ラット初代肝細胞	62.5～250 µg/mL 62.5～500 µg/mL ^e	陽性 陽性
<i>in vivo</i> 試験			
不定期 DNA 合成試験	Fischer 344 ラット肝細胞	250～2,000 mg/kg 体重/日 単回経口投与	陰性
小核試験	CD1 マウス骨髓細胞及び末梢血	250～1,000 mg/kg 体重/日 3 日間経口投与	陰性

d : 非誘導型げっ歯類の肝臓由来

e : 1.62 mmol/L のマグネシウムイオン（硫酸マグネシウム 6 水和物）を添加しても、同様の用量相関的な不定期 DNA 合成は阻止されなかった。

ダノフロキサシンでは、*in vitro* のヒトリンパ球を用いた染色体異常試験においてのみ陽性であった。これは培養液への硫酸マグネシウムの添加及び/又は細胞洗浄により低減又は消失したことから、ダノフロキサシンによる染色体異常の出現は、ピリドンカルボン酸系薬物の一般的特徴であるカチオンキレート作用によるものと考えられた。また、脱メチル化体では、*in vitro* のラット初代肝細胞を用いた不定期 DNA 合成試験 2 試験で陽性結果が得られた。しかし、ダノフロキサシン及び脱メチル化体のいずれも *in vivo* 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ような遺伝毒性はないと考えた。

4. 急性毒性試験（マウス及びラット）

ダノフロキサシン及び脱メチル化体は、いずれも経口の急性毒性は低い。実験動物では、ダノフロキサシンは消化器系に軽い影響を及ぼす。ヒトでは、一部のキノロン系抗菌性物質が治療用量で胃腸障害を引き起こすと報告されているが、ダノフロキサシンは、軽度の一過性の皮膚及び眼の炎症のみが報告されている。（参照 4）

各動物種におけるメシル酸ダノフロキサシン及び脱メチル化体のメシル酸塩の急性毒性試験の結果を表 23 に示した。（参照 3）

表 23 メシル酸ダノフロキサシン及び脱メチル化体のメシル酸塩の LD₅₀

動物種	投与経路	性別	LD ₅₀ (mg/kg 体重) ^a
ダノフロキサシン			
マウス (ICR 系)	経口	雌雄	>2,000
ラット (SD 系)	経口	雌雄	>2,000
マウス (ICR 系)	静脈内	雄	100～150
ラット (SD 系)	静脈内	雄	50～100

脱メチル化体			
マウス (ICR 系)	経口	雄	>2,000
マウス (ICR 系)	経口	雌	1,500~2,000
ラット (SD 系)	経口	雌雄	>2,000
マウス (ICR 系)	静脈内	雄	7.5~10
ラット (SD 系)	静脈内	雄	40~50

a: ダノフロキサシンとしての換算量

また、マウス (ICR 系) 及びラット (SD 系) を用いたメシル酸ダノフロキサシン製剤の急性毒性試験が実施されており、経口投与による LD₅₀ はいずれもダノフロキサシンとして 1,000 mg/kg 体重⁷より大きかった。(参照 5)

5. 亜急性毒性試験

(1) 亜急性毒性試験 (ラット)

① 3 週間亜急性毒性試験

ラット (SD 系、6 週齢、雌雄各 5 匹/群) を用いたメシル酸ダノフロキサシンの 3 週間 (21 日間) 経口投与 (ダノフロキサシンとして 0、100、300 又は 1,000 mg/kg 体重/日) 試験が実施された。

その結果、いずれの群にも死亡例はみられなかった。

一般状態では、1,000 mg/kg 体重/日投与群の雌雄で、流涎、鼻・口周囲の赤褐色汚れ、尿失禁、軟便、被毛粗剛、消瘦及び軽度の腹部膨満がみられた。

体重については、1,000 mg/kg 体重/日投与群の雌雄で摂餌量減少に伴う減少がみられ、300 mg/kg 体重/日投与群の雄で軽度な増加抑制がみられた。

血液学的検査では、1,000 mg/kg 体重/日投与群で WBC、PLT 及び網状赤血球の減少がみられた。

血液生化学的検査では、1,000 mg/kg 体重/日投与群で TP、Glob 及び K の低下がみられ、A/G 比、BUN、AST 及び ALT の上昇がみられた。

尿検査では、1,000 mg/kg 体重/日投与群で尿比重の上昇を伴う尿量減少がみられた。

剖検では、1,000 mg/kg 体重/日投与群で脂肪の減少、生殖器の縮小等及び栄養障害に起因すると考えられる消耗性変化が観察され、300 及び 100 mg/kg 体重/日投与群では盲腸の腫大がみられた。投与群に認められた盲腸所見は、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、げっ歯類等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考えられた。(参照 5)

本試験における NOAEL は 100 mg/kg 体重/日と考えられた。

⁷ 投与可能な最大量

② 1 か月間亜急性毒性試験

ラット (Long-Evans 系、雌雄各 10 匹/群) を用いたメシル酸ダノフロキサシンの 1 か月間強制経口投与 (ダノフロキサシンとして 0、25、75 又は 150 mg/kg 体重/日、水溶液で投与) 試験が実施された。血液生化学的試験及び血液学的試験を、投与前並びに投与開始 11~12 日後及び 30~31 日後に実施した。

毒性徴候はみられず、体重増加量及び摂餌量に投与の影響はみられなかった。

血液生化学的試験では、ALT が 150 mg/kg 体重/日投与群の雌で有意に増加した。

臓器重量では、肝臓の絶対及び比重量が 150 mg/kg 体重/日投与群の雄で有意に減少した。

0 及び 150 mg/kg 体重/日投与群の 30 種類の組織並びに他の投与群の剖検でみられた病変部の病理組織学的検査において、投与に起因する影響はみられなかった。(参照 3)

③ 3 か月間亜急性毒性試験 a

ラット (Long-Evans 系、雌雄各 20 匹/群) を用いたメシル酸ダノフロキサシンの 3 か月間経口投与 (ダノフロキサシンとして 0、25、75 又は 150 mg/kg 体重/日) による亜急性毒性試験が実施された。被験動物は、多世代生殖毒性試験に用いられた F₁ 児から選択されたもので、妊娠中 (子宮内) 及び母乳中にダノフロキサシンに暴露されていた。対照群には脱イオン水を投与した。

投与に起因する死亡例はみられず、摂餌量及び体重増加量に投与の影響はみられなかった。

血液学的検査及び血液生化学的検査において、用量相関的な傾向はみられなかった。

尿検査では、用量相関的なタンパク尿の増加が雌でみられたが雄ではみられず、個々の被験動物で尿細管性腎症所見との関連がみられた。

臓器重量では、腎臓重量に投与の影響はみられなかった。75 mg/kg 体重/日以上投与群における精巣の絶対及び比重量が対照群よりも約 10 % 少なかった。

病理組織学的検査では、主に心臓の病変が 75 mg/kg 体重/日以上投与群で発現し、多巣性心筋変性及び壊死並びに多巣性線維化が単独又は両方みられた。

尿細管性腎症が全投与群の雌でみられたため、NOAEL は得られなかった。

④ 3 か月間亜急性毒性試験 b

NOAEL を設定するため、より低い用量の投与試験が実施された。

離乳ラット (Long-Evans 系、雌雄各 20 匹/群) を用いたメシル酸ダノフロキサシンの 3 か月間経口投与 (ダノフロキサシンとして 0、1、2.5 又は 6.25 mg/kg 体重/日) による亜急性毒性試験が実施された。被験動物は上記試験と同様、多世代生殖毒性試験に用いられた F₁ 児から選択されたもので、妊娠中 (子宮内) 及び母乳中にダノフロキサシンに暴露されていた。雌雄各 20 匹の対照群には脱イオン水を投与した。

投与に起因する死亡例及び毒性徴候はみられなかった。

体重増加量、摂餌量、血液学的検査及び血液生化学的検査のパラメータに投与の影響はみられなかった。

尿検査では、6.25 mg/kg 体重/日投与群で、血尿を示した雄がわずかに増加し、また、雌 1 例で尿タンパクがわずかに増加した。腎臓に関連性のある病理学的変化がみられないことから、投与の影響ではないと考えられた。(参照 3)

本試験における NOAEL は最高用量の 6.25 mg/kg 体重/日と考えられた。

⑤ 3 か月間亜急性毒性試験 (脱メチル化体)

ラット (Long-Evans 系、雌雄各 20 匹/群) を用いた脱メチル化体のメシル酸塩の 3 か月間経口投与 (脱メチル化体として 0、1、2.5 又は 6.25 mg/kg 体重/日) による亜急性毒性試験が実施された。被験動物は多世代生殖毒性試験に用いられた F₁ 児から選択されたもので、妊娠中 (子宮内) 及び母乳中にダノフロキサシンに暴露されていた。雌雄各 20 匹の対照群には脱イオン水を投与した。

死亡率、体重増加量、摂餌量、血液学的検査及び血液生化学的検査のパラメータ、臓器重量、剖検及び病理組織学的検査に投与の影響はみられなかった。(参照 3)

本試験における NOAEL は、最高用量の 6.25 mg/kg 体重/日と考えられた。

(2) 亜急性毒性試験 (イヌ)

① 3 か月間亜急性毒性試験 a

イヌ (ビーグル種、約 6 か月齢、雌雄各 4 匹/群) を用いたメシル酸ダノフロキサシンの 3 か月間経口投与 (ダノフロキサシンとして 0、5、10 又は 25 mg/kg 体重/日、ゼラチンカプセルで 1 日量を同量 2 分割して投与) による亜急性毒性試験が実施された。試験終了時には、全被験動物を病理学的検査に供した。

投与開始 7 日後までに、25 mg/kg 体重/日投与群の 8 例及び 10 mg/kg 体重/日投与群の 3 例において、活動低下及び関節症の徴候が観察されたが、これらの影響がみられた被験動物の大部分は投与を続行したにもかかわらず、投与開始 6 週までに回復した。

臨床症状を示した動物では、体重増加量、摂餌量、心拍数及び呼吸数が減少した。

心電図、血圧並びに眼科学的検査、血液学的検査、血液生化学的検査及び尿検査のパラメータに投与の影響はみられなかった。

剖検では、5 mg/kg 体重/日投与群の雌 1 例を除く投与群の全例で、主要関節の関節軟骨に変化が観察された。病変は、軟骨解離及び軟骨減少 (糜爛) が特徴的であり、その程度は用量相関的であった。

病理組織学的検査では、偏光で観察すると、コラーゲン線維の著明な変化等が明らかとなった。

② 3 か月間亜急性毒性試験 b

NOAEL を設定するため、より低い用量の投与試験が実施された。

イヌ (ビーグル種、約 5 か月齢、雌雄各 4 匹/群) を用いたメシル酸ダノフロキサシンの 91 日間経口投与 (ダノフロキサシンとして 0、1 又は 2.4 mg/kg 体重/日、ゼラチンカプセルで 1 日 2 回に分けて投与) による亜急性毒性試験が実施された。

毒性徴候はみられず、体重増加量、摂餌量、血液生化学的検査及び尿検査のパラメータ並びに臓器重量に投与の影響はみられなかった。

投与に起因する病理学的所見もみられなかった。(参照 3)

本試験における NOAEL は、最高用量の 2.4 mg/kg 体重/日と考えられた。

③ 3 か月間亜急性毒性試験 (脱メチル化体) a

イヌ (ビーグル種、4~6 か月齢、雌雄各 3 匹/群) を用いた脱メチル化体のメシル酸塩の 3 か月間経口投与 (脱メチル化体として 0、2.5、5 又は 10 mg/kg 体重/日、ゼラチンカプセルで 1 日 2 回に分けて投与) による亜急性毒性試験が実施された。

体重増加量、心電図、血液生化学的検査及び血液学的検査並びに臓器重量に、注目すべき投与の影響はみられなかった。

10 mg/kg 体重/日投与群の雄 1 例で、投与開始 65 日後に左足首関節に圧力をかけたときに、疼痛徴候を示した。2.5 mg/kg 体重/日投与群の雌 1 例では、投与開始 92 日後に左側後肢上部の内側に圧力をかけたときに、疼痛徴候を示した。試験終了時には、10 mg/kg 体重/日投与群の雄 1 例で、典型的なキノロン系抗菌性物質誘発病変が右側大腿骨顆の関節軟骨にみられた。(参照 3)

④ 3 か月間亜急性毒性試験 (脱メチル化体) b

イヌ (ビーグル種、5~6 か月齢、雌雄各 3 匹/群) を用いた脱メチル化体のメシル酸塩の 3 か月間経口投与 (脱メチル化体として 0、0.25 又は 0.5 mg/kg 体重/日、ゼラチンカプセルで 1 日 2 回に分けて投与) による亜急性毒性試験を実施した。さらに、もう 1 群ダノフロキサシンを投与 (10 mg/kg 体重/日) する群を設定した。

脱メチル化体投与群に毒性徴候はみられなかった。ダノフロキサシン投与群では、後肢の脱力、行動減少及び強直性歩行がみられた。

心電図、血液生化学検査及び血液学的検査のパラメータ並びに臓器重量に投与の影響はみられなかった。

病理組織学的検査では、ダノフロキサシン投与群の全例に典型的なキノロン系抗菌性物質誘発性の関節症が判明した。脱メチル化体 0.5 mg/kg 体重/日投与群の雄 1 例で、右膝の膝蓋骨窩の関節糜爛がみられた。糜爛は関節軟骨の Zone 2 まで拡大しており、他のキノロン系抗菌性物質の投与でみられる変化と類似していた。(参照 3)

本試験における NOAEL は、0.25 mg/kg 体重/日と考えられた。

6. 慢性毒性及び発がん性試験

(1) 2 年間慢性毒性/発がん性併合試験 (マウス)

マウス (ICR 系、雌雄各 50 匹/群) を用いたメシル酸ダノフロキサシンの 2 年間混餌投与 (0、10、50 又は 100 mg/kg 体重/日) による慢性毒性/発がん性併合試験が実施された。

死亡率、体重、摂餌量及び血液学的検査のパラメータに、用量相関的な影響はみられなかった。100 mg/kg 体重/日投与群の雌では、他の群より体重が有意に増加した。試験終了時には、10 mg/kg 体重/日投与群の雄を除き、各群の生存率は 50 %未満であった。

100 mg/kg 体重/日投与群の雌で、腎臓の絶対重量が有意に増加したが、被験動物の体重増加によるものと考えられた。

発がん性はみられなかった。(参照 3)

(2) 2年間慢性毒性/発がん性併合試験(ラット)

ラット (Long-Evans 系、雌雄各 50 匹/群) を用いたメシル酸ダノフロキサシンの 2 年間混餌投与 (0、10、50 又は 100 mg/kg 体重/日) による慢性毒性/発がん性併合試験が実施された。対照群として雌雄各 2 群設けた。

一般状態の毒性徴候はみられず、生存率に投与の影響はみられなかった。試験終了時には、100 mg/kg 体重/日投与群の雌及び雄の対照群を除いて、生存率は 50 %未満であった。

体重では、100 mg/kg 体重/日投与群の雄で、有意な増加抑制が偶発的にみられたが、50 mg/kg 体重/日以上投与群の雌では、投与開始 3~16 か月後に摂餌量増加を伴う有意な増加がみられた。投与に起因する体重変化は非常に小さいものであった。

眼科学的検査が、投与開始 12、18 及び 23 週後に実施され、対照群と 100 mg/kg 体重/日投与群との違いはみられなかった。

血液学的検査及び血液生化学的検査では、試験終了時に、100 mg/kg 体重/日投与群の雄で WBC 及び好中球が有意に減少した。100 mg/kg 体重/日投与群の雌では、Hb、Ht 及びリンパ球が減少した。雄では AST 及びソルビトール脱水素酵素が有意に増加し、Glob の低下に伴う A/G 比の増加が認められた。ソルビトール脱水素酵素は、50 mg/kg 体重/日投与群の雄でも増加した。雌では血液生化学的検査の値に影響はみられなかった。

尿検査では、投与に起因する影響はみられなかった。

臓器重量では、精巣の比重量が 100 mg/kg 体重/日投与群で有意に減少した。絶対重量に有意な影響はみられなかった。

剖検では、投与群で盲腸腫大の発生率が増加したが、病理組織学的変化を伴うものではなかった (表 24)。

表 24 ラットにおけるダノフロキサシン 2 年間投与後の盲腸腫大の発現数

投与量 (mg/kg 体重/日)	盲腸腫大の発現数/被験動物数 (例)	
	雄	雌
0	0/50	1/50
0	0/50	0/50
10	5/50	1/50
50	3/50	1/50
100	6/50	2/50

病理組織学的検査では、100 mg/kg 体重/日投与群で、腎乳頭浮腫の発生頻度増加、精子減少症の増加及び精巣上体の異常内容物がみられた (表 25)。

表 25 ラットにおけるダノフロキサシン 2 年間投与後の非腫瘍性病理解剖学的変化
(発生例数)

投与量 (mg/kg 体 重/日)	腎乳頭浮腫		精子減少症		精巣上体の異常内容物	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌
0	1	0	17		25	
0	0	2	16		32	
10	0	2	18		28	
50	1	2	17		29	
100	4	4	31		36	

投与群の雌で、子宮及び膣の顆粒細胞腫が発生する傾向がみられた（表 26）。顆粒細胞巣（granular cell foci）は、その大きさが小さいこと及び周囲への圧迫がないことから腫瘍と識別されたが、これらの病変の形態は本質的に同じであった。子宮及び膣における細胞巣及び腫瘍の発生を合算した場合、発生の合計数に群間の有意差はみられなかった。

表 26 雌ラットにおけるダノフロキサシン 2 年間投与後の子宮及び膣の増殖性病変
(発生例数)

	病変	投与量 (mg/kg 体重/日)				
		0	0	10	50	100
子宮	被験動物数	48	50	50	50	50
	顆粒細胞腫	1	3	6	5	6
	顆粒細胞巣	5	6	1	1	2
膣	被験動物数	48	49	49	49	49
	顆粒細胞腫	3	2	2	3	7
	顆粒細胞巣	0	0	1	0	0
子宮+膣	顆粒細胞腫	4	5	8	8	13
	顆粒細胞巣	5	6	2	1	2
計		9	11	10	9	15

雌で下垂体腺腫の増加傾向がみられた（表 27）が、その発生率は、同じ研究室で過去に実施された 5 試験の対照群での発生率の範囲内（30/48～47/49 例）であった。

表 27 雌ラットにおけるダノフロキサシン 2 年間投与後の下垂体の増殖性病変
(発生例数)

病変	投与量 (mg/kg 体重/日)				
	0	0	10	50	100
被験動物数	49	50	50	50	50
下垂体腺腫	32	32	39	39	40
下垂体過形成	13	11	5	6	5
24 か月後の生存数	22	26	19	18	26

以上より、子宮及び膣の顆粒細胞病変及び下垂体腺腫のいずれも投与に起因する発がん性を示唆するものではないと考えられた。(参照 3)

7. 生殖発生毒性試験

(1) 2 世代生殖毒性試験 (ラット)

ラット (Long-Evans 系、雌雄各 45 匹/群) を用いたメシル酸ダノフロキサシンの強制経口投与 (ダノフロキサシンとして 0、25、75 又は 150 mg/kg 体重/日) による 2 世代生殖毒性試験が実施された。

150 mg/kg 体重/日投与群の母動物では、妊娠期間中の体重増加抑制、着床数の減少及び出生児数の減少がみられた。出生時及びほ乳期間中の児体重は有意に減少した。同様の影響は、F₁ の第 1 回の交配時にも観察された。この影響は F₁ の第 2 回目の交配時にはさらに強くなり、全投与群で妊娠率が低下した。F_{2b} 児の全群で用量相関的な体重の減少がみられた。(参照 3)

(2) 3 世代生殖毒性試験① (ラット)

上記 (1) の試験の 25 mg/kg 体重/日投与群の 2 か月齢の F_{2b} 児を用いて、生殖毒性試験が実施され、メシル酸ダノフロキサシンの投与が続行された。妊娠率は 38 % で (対照群は 65 %) であった。着床後胚死亡は有意に増加し、児の体重及び生存率は低下した。(参照 2)

(3) 3 世代生殖毒性試験② (ラット)

ラット (Long-Evans 系、雌雄各 30 匹/群) を用いたメシル酸ダノフロキサシンの強制経口投与 (ダノフロキサシンとして 0、1、2.5、6.25 又は 150 mg/kg 体重/日) による 3 世代生殖毒性試験が実施された。対照群を 2 群設け、脱イオン水を投与した。投与は、雄では交配 9 週間前から、雌では交配 2 週間前から開始し (1 : 1 の交配)、妊娠、出産及び F₁ 児が離乳するまで継続した。これらのうち、各群の雌雄各 25 匹を無作為抽出し F_{2a} 及び F_{2b} の作出まで投与を継続した。同様の方法で F_{2b} を交尾させ F₃ 児を得た。生後 4 日に同腹数の調整を行い、8 匹を選抜した。F_{2b} 児の出生後の発育については、離乳時の自発運動、聴覚機能及び眼科学的パラメータにより評価した。交配に用いた F₀、F₁ 及び F₂ 世代の全動物を剖検し、生殖器官及び主要器官 (腎臓、関節、脳、心臓及び肝臓)

の重量を測定し、病理組織学検査に供した。

親動物では、生存率、体重増加、摂餌量及び一般状態に投与に起因する影響はみられなかった。150 mg/kg 体重/日投与群では、交尾率及び妊娠率が低下し、妊娠期間が延長した。

児動物では、150 mg/kg 体重/日投与群で、同腹児数の減少、出生時体重の減少、新生児の体重増加抑制及び生後 4 日における生存児数の減少がみられた。150 mg/kg 体重/日投与群では、F₁ の 2 回目の交配前に試験を終了した。(参照 3)

本試験における NOAEL は 6.25 mg/kg 体重/日と考えられた。

(4) 3 世代生殖毒性試験 (ラット、脱メチル化体)

上記 (3) の試験と全く同じ試験デザインで、メシル酸ダノフロキサシンの代わりに脱メチル化体のメシル酸塩を用いた生殖毒性試験が実施された。

親動物の体重増加及び摂餌量、一般状態、妊娠率、妊娠期間並びに着床数及び着床後胚死亡数に投与に起因する影響はみられなかった。

児動物でも、体重増加及び生存率に投与の影響はみられなかった。

親動物には雌雄ともに肉眼的な異常は観察されなかった。(参照 3)

(5) 発生毒性試験 (マウス)

マウス (ICR 系、20 匹/群) の妊娠 6～13 日にメシル酸ダノフロキサシンを強制経口投与 (ダノフロキサシンとして 0、50、100 又は 200 mg/kg 体重/日、水溶液で投与) した発生毒性試験が実施された。母動物は妊娠 18 日に帝王切開し胎児を検査した。別の 1 群 (10 匹) に 200 mg/kg 体重/日を投与し、母動物の血漿及び羊水中のダノフロキサシン濃度を測定した。

200 mg/kg 体重/日投与群の最終投与 5 時間後の羊水中濃度は母動物の血漿中濃度と同様であったが、胎児ホモジネート中濃度は母動物の血漿中濃度の 2～3 倍であった。

試験は妊娠率が低かったため、少数の妊娠マウスを用いて試験を実施した (0、50、100 及び 200 mg/kg 体重/日投与群の妊娠動物はそれぞれ 13、16、11 及び 13 例)。

母動物では、200 mg/kg 体重/日投与群の 1 例が妊娠 7～10 日に立毛及び伏臥姿勢を呈し、剖検で皮膚の膿瘍がみられた。200 mg/kg 体重/日投与群で、投与期間中に体重の有意な増加抑制がみられた。

胎児では、胚吸収、胎児死亡率及び性比に影響はみられなかった。200 mg/kg 体重/日投与群で、胎児体重が雌雄ともに有意に減少し、骨化遅延の発現が増加した。(参照 3)

(6) 発生毒性試験 (ラット)

ラット (SD 系、20 匹/群) の妊娠 6～15 日にメシル酸ダノフロキサシンを強制経口投与 (ダノフロキサシンとして 0、50、100 又は 200 mg/kg 体重/日、水溶液で投与) した発生毒性試験が実施された。母動物は妊娠 20 日に帝王切開し、胎児を検査した。別の 1 群 (5 匹) に 200 mg/kg 体重/日を投与し、母動物の血漿及び羊水中のダノフロキサシン濃度を測定した。

200 mg/kg 体重/日投与群の最終投与5時間後の羊水中濃度は母動物の血漿中濃度と同様であったが、胎児ホモジネート中の濃度は母動物の血漿中濃度の約3倍であった。

各群で19から20匹の妊娠動物が得られた。母動物では、100 mg/kg 体重/日以上投与群では、有意で用量相関的な体重増加抑制がみられた。

胎児では、100 mg/kg 体重/日以上投与群で、胎児体重が有意に減少し、骨化遅延及び脳室拡張の発現が有意に増加した。(参照3)

母体毒性のみられなかった50 mg/kg 投与群で、胎児に対する影響は認められなかったことから、本試験におけるNOAELは、母動物及び胎児に対して50 mg/kg 体重/日と考えられた。

(7) 発生毒性試験(ウサギ)

ウサギ(NZW種、20匹/群)の妊娠6~20日にメシル酸ダノフロキサシンを経口投与(ダノフロキサシンとして0、2.5、7.5又は15 mg/kg 体重/日、水溶液で投与)し、母動物は妊娠28日に帝王切開し、胎児を検査した。

不妊率が高かったために、新しい動物を異なる用量群に割り付け、対照群:32匹、低用量(2.5 mg/kg 体重/日)群を29匹、中用量(7.5 mg/kg 体重/日)群を33匹及び高用量(15 mg/kg 体重/日)群を39匹とした。

母動物では、15 mg/kg 体重/日投与群において、摂餌量は妊娠13~20日に有意に減少した。11回の投与で、摂餌量減少を伴う体重減少がみられ、その後妊娠22~28日の間に流産した。

同腹児数、性比、胎児体重並びに奇形及び変異の発現率に用量相関的な影響はみられなかった。(参照3)

本試験におけるNOAELは、7.5 mg/kg 体重/日と考えられた。

8. 光毒性について

光毒性反応がキノロン系抗菌剤の副作用として知られており、ダノフロキサシンの光毒性/光感受性効果を誘導する可能性が、その構造に基づき評価された。

光毒性及び光感受性は多くのキノロン系抗菌剤で生ずるといわれている。キノロン系抗菌剤の構造は、その活性、さらには副作用に直接関係する。光反応性とそれによる光毒性はほとんどがキノロン環の8位の影響を受ける。8位はN、CF及びCClのような反応性の高い基を有することで、生体内での薬効を左右する。キノロン系抗菌剤における最も高い光毒性は8位がハロゲンに置換されたときにみられ、最も低いものは8位がCO-Rの時にみられる。その毒性はCO-R < CCF₃ < CH < N < CCl ≤ CFの順に高くなる。

雌のマウス(Balb/c)を用いた、キノロン系抗菌剤の構造と毒性の関連性を調査するいくつかの研究が行われている。

シプロフロキサシン、エノキサシン、フレロキサシン、ガチフロキサシン、ロメフロキサシン、ノルフロキサシン、オフロキサシン及びスパルフロキサシンを静脈内投与(100 mg/kg 体重)し、その光毒性を比較した。投与直後に紫外線A(21.6 J/cm²)を4時間照射し、投与96時間後に耳介の厚さの計測及び病理組織学的検査を実施した。各キノロン系抗菌剤による耳介病変の重篤度は、対照群(溶媒投与、光毒性なし) = ガチフロキサシン

ン＝オフロキサシン<シプロフロキサシン＝ノルフロキサシン<エノキサシン＝フレロキサシン<ロメフロキサシン＝スパルフロキサシンの順に高くなった。

構造と光毒性の関連性の観点から、8位にF又はH及び1,8-ナフチリジン誘導体の置換基を有するキノロン系薬剤は、マウス耳介に光毒性を誘導したものと考えられた。これらの研究結果により、キノロン系薬剤によって誘導される光毒性は、キノロン環の8位の置換基に関連することが証明された。

ダノフロキサシンの光毒性/光感受性を評価する試験は実施されていないが、上述の構造と光毒性関係から、ダノフロキサシンの光毒性/光感受性誘導の可能性が評価される。ダノフロキサシンが8位にハロゲンを持していない事実に基づいて、光毒性は最小と考えられた。(参照9)

9. 微生物学的影響に関する試験

(1) ヒト由来臨床分離菌に対する MIC₅₀

ヒト腸内嫌気性菌の代表的な6菌種64株(*Bacteroides*, *Fusobacterium*, *Clostridium*, *Eubacterium*, *Bifidobacterium* 及び *Peptostreptococcus*) に対するダノフロキサシンの MIC₅₀ が調べられた。さらに、通性嫌気性菌である *Lactobacillus*, *Proteus* 及び *Escherichia coli* のデータも得られた。*Escherichia coli* ATCC 25922 及び *Enterococcus faecalis* ATCC 29242 は参照株として加えられた。求められた MIC₅₀ を表28に、参照株の MIC を表29に示した。

表 28 ヒト腸内の代表的菌種に対するダノフロキサシン及び脱メチル化体の MIC₅₀

菌種	株数	接種濃度 (CFU/mL)	MIC ₅₀ (μg/mL)	
			ダノフロキサシン	脱メチル化体
嫌気性菌				
<i>Bacteroides fragilis</i> group	12	10 ⁷ ~10 ⁸	4	128
<i>Fusobacterium</i> sp.	10		4	16
<i>Clostridium</i> sp.	10		0.5	0.5
<i>Eubacterium</i> sp.	10		0.5	1
<i>Bifidobacterium</i> sp.	10		2	8
<i>Peptostreptococcus</i> sp.	12		0.5	2
通性嫌気性菌				
<i>Lactobacillus</i> sp.	14	10 ⁶	16	>128
<i>Proteus</i> sp.	11	10 ⁶	0.25	0.06

表 29 参照株に対するダノフロキサシン及び脱メチル化体の MIC ($\mu\text{g/mL}$)

菌種	嫌気性培養		好気性培養	
	ダノフロキサシン	脱メチル化体	ダノフロキサシン	脱メチル化体
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	0.06	0.06	0.03	0.015
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29242	1	4	2	1

代謝物である脱メチル化体は、同じ分離菌に対してダノフロキサシンの4分の1から2分の1の活性を示した。(参照3)

(2) ヒト由来臨床分離菌に対する MIC②

ヒト腸内嫌気性細菌叢の分離菌における MIC₅₀ を調べた結果、最も小さい MIC₅₀ は、*Eubacterium* sp. 及び *Peptostreptococcus* sp. の 0.5 $\mu\text{g/mL}$ であった。(参照10)

10. 一般薬理試験

非 GLP 試験であるが、ダノフロキサシンを用いた数種類の薬理学的試験が実施されており、表30に主要な特性を示した。(参照3)

表 30 ダノフロキサシンの薬理学的試験結果

対象	用量 (mg/kg 体重/日) 及び投与方法	結果
ラット (SD 系、6 匹/群)	0、5、10、20 蒸留水に溶かして、経口投与	有意な利尿効果なし
イヌ (ビーグル種、雌雄各 2 匹/群)	5 静脈内投与	2 例で血圧、心拍出量、左心室内圧、左心室拡張末期圧の一時的な軽度の低下 心電図の波形に影響なし
ラット (SD 系、雄 3 匹/群)	1、10、100、1,000 経口投与	100：中枢及び末梢神経系に影響なし 1,000：流涎及び振戦
マウス (CD-1 系、雄 8 匹/群)	0、5、10、20 蒸留水に溶かして、経口投与 (陽性対照：硫酸モルヒネ 4 mg/kg 体重/日投与)	溶媒対照と比べ、消化管運動性が 18、27、23 % 低下
ラット (SD 系、幽門結さつ雄 8 匹/群)	0、5、10、20 溶液 ^a を十二指腸内投与 (陽性対照：シメチジン 10 mg/kg 体重/日投与)	全投与群で胃液量の増加(用量相関的ではない) 全投与群で酸性度の増強

a：溶媒は、一部は 0.25 % メチルセルロース、他は蒸留水

1 1. その他

(1) 皮膚刺激性試験 (モルモット)

Buehler の閉塞パッチ法を用いた試験で、メシル酸ダノフロキサシンは、モルモットに遅延型接触性過敏症を引き起こすことはなかった。既知の増感物質であるジニトロクロロベンゼンを使用した場合は、明らかな陽性結果が得られた。(参照 3)

(2) 皮膚刺激性試験 (ウサギ)

ウサギ (NZW 種、3 匹) の健常皮膚部位及び角質層を除去した損傷皮膚部位を設け、メシル酸ダノフロキサシンの皮膚一次刺激性試験が実施された。メシル酸ダノフロキサシン (ダノフロキサシンとして 5.0 g/匹) を蒸留水で湿潤させて、各部位に塗布し、ガーゼで 24 時間覆った後、皮膚反応を 6 日間観察した。

健常皮膚群では、軽度の紅斑が 2~3 日間みられたが、浮腫等はみられなかった。

損傷皮膚群では、健常皮膚に比べてわずかに強い紅斑が観察期間終了までみられたが、浮腫はみられなかった。(参照 5)

(3) 眼刺激性試験 (ウサギ)

ウサギ (NZW 種、3 匹) を用いたメシル酸ダノフロキサシンの眼刺激性試験が実施され、左側結膜嚢に 0.1 mL (ダノフロキサシンとして 26 mg/匹) を点眼した。点眼後、眼は洗浄しなかった。軽度の結膜炎及び無色の分泌物が投与後 1 時間以内にみられたが、全ての徴候は 96 時間以内に消失した。(参照 3)

1 2. ヒトにおける知見

ダノフロキサシンはヒト用医薬品として承認されておらず、ヒトにおける知見は得られていない。(参照 3)

III. 食品健康影響評価

1. JECFA における評価

JECFA では、毒性学的 ADI としては、約 5 か月齢のイヌを用いた 3 か月間亜急性毒性試験における関節症から得られた NOAEL 2.4 mg/kg 体重/日に安全係数 100 を適用し、有効数字を一桁として 0.02mg/kg 体重/日の ADI を設定した。

微生物学的 ADI については、ヒト消化管由来の最も感受性の高い菌 (*Eubacterium* sp., *Bifidobacterium* sp. 及び *Peptostreptococcus* sp.) の 32 株のデータから求められた平均 MIC₅₀ (1 µg/mL) を用いて、次に示す式から算出した。(参照 3)

$$\text{ADI} = \frac{1^a \times 220^b}{0.1^c \times 1^d \times 60^e} = 0.037 \text{ mg/kg 体重/日}$$

a : ヒト消化管における最も感受性の高い関連菌 (*Eubacterium* sp., *Bifidobacterium* sp. 及び *Peptostreptococcus* sp.) における平均 MIC₅₀

b : ヒト結腸内容物の量 (g)

- c: 豚を用いた経口投与試験 (5 mg/kg 体重) で約 90 %が吸収されたことに基づき、利用可能な腸内細菌叢の経口分画は約 10 %とされた。ダノフロキサシンは牛の糞と強く結合するという所見が得られていることから、この値を用いることの信頼性は高いとみなされる。
- d: 十分な関連菌のデータが得られていることから、安全係数は 1
- e: 成人体重 (kg)

JECFA では、ダノフロキサシンが好気性グラム陰性菌に抗菌活性を示すものであり、ヒト腸管細菌叢の主要構成菌にはほとんど影響を及ぼさないフルオロキノロン系の抗菌性物質であることから、ダノフロキサシンの腸内細菌叢への影響ではなく、毒性に基づいた ADI を設定することとした。結果的に毒性学的 ADIの方が微生物学的 ADIより低かった。

さらに、JECFA では、脱メチル化体を用いたイヌの 3 か月間亜急性毒性試験における関節症から得られた NOAEL 0.25 mg/kg 体重/日に注目した。薬理的試験及び代謝試験から、ダノフロキサシンを経口投与されたイヌは全身的に代謝物である脱メチル化体に暴露されることが示された。ダノフロキサシンの約 10 倍の毒性を有する代謝物である脱メチル化体を考慮して MRL を設定しなければならないが、脱メチル化体の ADI を別に算出する必要はないと結論付けられた。(参照 3)

2. EMEA における評価

EMEA では、JECFA の評価を追認し、子イヌを用いた 3 か月間反復投与試験における関節症から得られた NOAEL 2.4 mg/kg 体重/日と安全係数 100 に基づき、ダノフロキサシンの毒性学的 ADI として 0.024 mg/kg 体重/日 (1.44 mg/ヒト/日) が設定され、ダノフロキサシンの ADI として採用された。EMEA では、ADI を有効数字を一桁にする必要はないと考えられた。

微生物学的 ADI については、ヒトの正常腸内細菌叢に存在する代表的な数菌種に対するダノフロキサシン及び脱メチル化体の *in vitro* の MIC データから、0.25 µg/mL (*Proteus* sp.) が最も感受性の高い菌種の MIC₅₀ であると結論付け、CVMP の公式に基づき、次のように算出されている。

$$\text{ADI} = \frac{\frac{0.25}{1^a} \times 150^b}{\frac{0.11^c}{100^d} \times 60^e} = 0.6 \text{ mg/kg 体重/日}$$

a: 全菌種の幾何平均ではなく、最も感受性の高い菌種の MIC が使用されたことから CF1=1

b: ヒトの 1 日当たりの糞便量 (g)

c: 消化管の遠位部で利用可能な経口用量の分画 (豚への経口投与後の生物学的利用率が 89 %であったことに基づく)

d: ダノフロキサシンは、糞と強固に結合することが示され (K_{ads} 吸収定数は 540.7)、糞中に存在するダノフロキサシンの 1 %未満しか吸収されないか、又は利用可能ではないことから、消化管の遠位部で利用可能な経口用量の分画を 100 で除す。

e: 成人体重 (kg)

微生物学的 ADI は毒性学的 ADI より高値であった。(参照 4)

3. 毒性学的 ADI について

ダノフロキサシン及び脱メチル化体については、*in vitro* 及び *in vivo* の各種遺伝毒性試験が実施され、いずれも *in vitro* 試験の一部で陽性であったが、*in vivo* 試験では全て陰性であったことから生体にとって問題となるような遺伝毒性はないと考えられ、また、マウス及びラットを用いた慢性毒性/発がん性併合試験において発がん性が認められていないことから、ダノフロキサシンは遺伝毒性発がん物質ではないと考えた。

報告されている各種毒性試験で得られた最小の NOAEL は、イヌを用いた 3 か月間亜急性毒性試験における関節症から得られた 2.4 mg/kg 体重/日であった。

毒性学的 ADI を設定するに当たっては、この NOAEL に安全係数 100 (種差 10 及び個体差 10) を適用して 0.024 mg/kg 体重/日を毒性学的 ADI として設定することが適切であると考えられた。

ダノフロキサシン脱メチル化体の最小の NOAEL は 0.25 mg/kg 体重/日で、ダノフロキサシンより低い値であったが、薬物動態試験及び代謝試験の結果から、ダノフロキサシンの経口投与を受けた場合、その主な代謝物である脱メチル化体にも同時に暴露されており、脱メチル化体について別に ADI を設定する必要はないものと考えた。

4. 微生物学的 ADI について

微生物学的 ADI の設定に関して、利用可能なデータはヒト腸内の代表的菌種に対するダノフロキサシン及び脱メチル化体の MIC₅₀ のみである。

in vitro 試験の MIC データにおいて、ヒト腸内嫌気性菌の最小の MIC₅₀ は、*Eubacterium* sp. 及び *Peptostreptococcus* sp. の 0.5 µg/mL であり、この値を用いて微生物学的 ADI を算出した。(参照 10)

$$\text{ADI} = \frac{0.5^a \times 220^b}{0.1^c \times 1^d \times 60^e} = 0.018 \text{ mg/kg 体重/日}$$

a: ヒト消化管内優性細菌叢で最も感受性の高い菌属 (*Eubacterium* sp. 及び *Peptostreptococcus* sp.) の MIC₅₀

b: ヒト結腸内容物の量 (g)

c: 豚を用いた経口投与試験 (5 mg/kg 体重) で約 90 % が吸収されたことに基づき、利用可能な腸内細菌叢の経口分画は約 10 % とされた。ダノフロキサシンは牛の糞と強く結合するという所見が得られていることから、この値を用いることの信頼性は高いとみなされる。

d: 十分な関連菌のデータが得られていることから、安全係数は 1

e: 成人体重 (kg)

5. ADI の設定について

ダノフロキサシンについては、遺伝毒性発がん物質で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た。

微生物学的 ADI (0.018 mg/kg 体重/日) は、毒性学的 ADI (0.024 mg/kg 体重/日) よりも小さいため、ダノフロキサシンの ADI として次の値を採用することが適当と考えられる。

ダノフロキサシン 0.018 mg/kg 体重/日

暴露量については、当評価結果を踏まえ暫定基準値の見直しを行う際に確認することとする。また、残留基準を見直すに当たっては、代謝物であるダノフロキサシン脱メチル化体の毒性がダノフロキサシンの 10 倍であることを考慮する必要がある。

表 31 JECFA 及び EMEA における各種試験の無毒性量等の比較

動物種	試験	投与量 (mg/kg 体重/日)	無毒性量 (mg/kg 体重/日)	
			JECFA	EMEA
マウス	2 年間慢性毒性/発がん性併合	0、10、50、100 混餌	— 100 雌：体重増加 発がん性なし	— 50 以上：生存率 50 %未満 発がん性なし
	発生毒性	0、50、100、200 経口	100 200 母動物：体重増加抑制 200 胎児：胎児体重減少、 骨化遅延発現増加 催奇形性なし	100 200：母体毒性、胎児体重 減少、骨化遅延 催奇形性なし
ラット	1 か月間亜急性毒性	0、25、75、150 経口	— 150 雌：ALT 増加 150 雄：肝臓重量減少	2.5 雌：タンパク尿の用量相 関的增加（尿細管腎症と 関連性） — 投与の影響なし
	3 か月間亜急性毒性	0、25、75、150 経口	— 25 以上雌：尿細管性腎症	投与の影響なし
	3 か月間亜急性毒性	0、1、2.5、6.25 経口	6.25 投与の影響なし	
	3 か月間亜急性毒性	0、1、2.5、6.25 経口 脱メチル化体	6.25 投与の影響なし	
	2 年間慢性毒性/発がん性併合	0、10、50、100 混餌	— 50 以上雄：ソルビトール 脱水素酵素増加 発がん性なし	— 生存率：50 %未満 100 雌：血液学的検査のパ ラメータの低値 100 雄：AST 上昇 発がん性なし
	2 世代生殖毒性	0、25、75、150 経口	— 150 母動物：体重増加抑 制、着床部位数減少、出生 児数減少	
	3 世代生殖毒性	25 経口	— F ₃ 世代：着床後胚死亡増 加	

ラット (続き)	3 世代生殖毒性	0、1、2.5、6.25、150 経口	6.25 150 親動物：交尾率低下、 妊娠率低下、妊娠期間延長 150 児動物：同腹児数減少、 出生児体重減少、新生児の 体重増加抑制及び生後 4 日 生存児数減少	6.25 (ダノフロキサシン及び 脱メチル化体) 高用量親動物：繁殖への悪 影響 高用量児動物：同腹児数の 減少、体重及び生存率への 影響
	3 世代生殖毒性	0、1、2.5、6.25、150 経口 脱メチル化体	— 投与の影響なし	6.25 (ダノフロキサシン及び 脱メチル化体) 高用量親動物：繁殖への悪 影響
	発生毒性	0、50、100、200 経口	50 100 母動物：体重増加抑制 100 胎児：胎児体重減少、 骨化遅延増加、脳室拡張発 現増加	高用量児動物：同腹児数の 減少、体重及び生存率への 影響 50 100：体重増加抑制 100 以上胎児：脳室拡張、 骨化遅延
ウサギ	発生毒性	0、2.5、7.5、15 経口	7.5 15 母動物：平均摂餌量及び 体重の減少	7.5 15 母動物：平均摂餌量減少、 流産発生率の高値 催奇形性なし
イヌ	3 か月間亜急性毒性	0、1、2.4、5、10、 25 経口	2.4 >5：関節軟骨解離、軟骨 減少 (糜爛)	2.4 典型的なキノロン系抗菌 性物質誘発病変
	3 か月間亜急性毒性	0、0.25、0.5、5、10 経口 脱メチル化体	0.25 0.5：膝蓋骨窩関節糜爛	0.25 典型的なキノロン系抗菌 性物質誘発病変
毒性学的 ADI			0.02 mg/kg 体重/日	0.024 mg/kg 体重/日
毒性学的 ADI の設定根拠			NOAEL：2.4 mg/kg 体重/ 日 SF：100 イヌ 3 か月間亜急性毒性 試験における関節軟骨解 離、軟骨減少	NOAEL：2.4 mg/kg 体重/ 日 SF：100 イヌ 3 か月間亜急性毒性 試験における関節症

微生物学的 ADI	0.037 mg/kg 体重/日	0.6 mg/kg 体重/日
微生物学的 ADI の設定根拠	MIC ₅₀ : 1 µg/mL ヒト消化管由来の最も感受性の高い菌 (<i>Eubacterium</i> sp., <i>Bifidobacterium</i> sp., <i>Peptostreptococcus</i> sp.) の平均 MIC ₅₀ (JECFA 算出式)	MIC ₅₀ : 0.25 µg/mL 最も感受性の高い菌種 (<i>Proteus</i> sp.) の MIC ₅₀ (CVMP 算出式)

〈別紙 検査値等略称〉

略称	名称
ADI	一日摂取許容量
A/G 比	アルブミン/グロブリン比
ALP	アルカリホスファターゼ
ALT	アラニンアミノトランスフェラーゼ (=グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ(GPT))
AST	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (=グルタミン酸オキサロ酢酸トランスアミナーゼ(GOT))
AUC	薬物濃度曲線下面積
BUN	血中尿素窒素
CFU	コロニー形成単位
CHO 細胞	チャイニーズハムスター卵巣由来細胞
C _{max}	最高濃度
C _{ss}	定常時血中濃度
CVMP	欧州医薬品審査庁動物用医薬品委員会
EMA	欧州医薬品審査庁
Glob	グロブリン
GLP	医薬品安全性実施基準
Hb	ヘモグロビン (血色素量)
HPLC	高速液体クロマトグラフィー
Ht	ヘマトクリット値
JECFA	FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議
kel	消失速度定数
LD ₅₀	半数致死量
LSC	液体シンチレーション計測 (計数)
MIC	最小発育阻止濃度
MIC ₅₀	50 %最小発育阻止濃度
MRL	最大残留基準値
NOAEL	無毒性量
PLT	血小板
R	アルキル基
T _{1/2}	消失半減期
TP	総タンパク質
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 厚生労働省告示第 499 号）
2. The Merck Index, 14th Edition, 2006
3. JECFA : Toxicological evaluation of certain veterinary drug residues in food WHO FOOD ADDITIVES SERIES No.39, 1997
4. EMEA : COMMITTEE FOR VETERINARY MEDICINAL PRODUCTS , DANOFLOXACIN , SUMMARY REPORT (2), 1997
5. ファイザー株式会社：平成 20 年度残留基準見直しに関する資料（非公表）
6. EMEA : COMMITTEE FOR VETERINARY MEDICINAL PRODUCTS , DANOFLOXACIN(extension to pigs) , SUMMARY REPORT(2) , 1999
7. JECFA : EVALUATION OF CERTAIN VETERINARY DRUG RESIDUES IN FOOD : WHO Technical Report Series 879, 1998
8. EMEA : COMMITTEE FOR VETERINARY MEDICINAL PRODUCTS , DANOFLOXACIN (extension to milk), SUMMARY REPORT , 1998
9. Pfizer : Potential Phototoxicity/Photosensitivity Effects of Danofloxacin, 2006
10. 薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会乳肉水産食品部会残留動物用医薬品調査会報告（平成 15 年）