

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が、この盲腸の所見はオフロキサシンの抗菌活性に由来する腸内細菌叢の変動の二次的影響と考えられたため NOAEL は 90mg/kg 体重と判断された。

#### 【ラットを用いた 26 週間亜急性毒性試験】<sup>(18)</sup>

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<sup>1</sup>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。

<sup>1</sup> ガルトン笛に対する Preyer's 反射の観察

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  $\text{Na}^+$  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  $\text{Cl}^-$  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。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たが、その発生頻度と程度は 30mg 以下の投与群では対照群と同様であったのに対し、90mg 以上投与群では強く認められた。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、全ての投与群で盲腸の拡張が認められたが、この盲腸の所見はオフロキサシンの抗菌活性に由来する腸内細菌叢の変動の二次的影響と考えられたため NOAEL は 10mg/kg 体重と判断された。

#### 【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】<sup>(19)</sup>

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。

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、 $\text{Ca}^{2+}$  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<sup>18</sup> 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が、この盲腸の所見はオフロキサシンの抗菌活性に由来する腸内細菌叢の変動の二次的影響と考えられたためNOAELは20mg/kg体重と判断された。

### 【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】<sup>(19)</sup>

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 Cj; 1群15匹)に、被験物質(レボフロキサシン(LV; 0.9%混餌投与))を16週間投与した試験において、これらの発がん物質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は認められなかった。<sup>(20)</sup>

### (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】<sup>(21)</sup>

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。被験物質の投与は、雄では交配前9週間及び交配期間中(最長2週間)とし、雌では交配の2週間前から妊娠7日まで行った。雄は交配終了後、雌は妊娠21日に安楽死させた。一般的な臨床症状観察では、

<sup>18</sup> LV処理対照群、LV処理群は16匹

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。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。本試験における NOAEL は、親動物の一般毒性に対して 10mg/kg 体重/日、生殖発生毒性に対して 360 mg/kg 体重/日であった。

#### 【ラットを用いた胎児の器官形成期投与試験(催奇形性試験)】<sup>(22)</sup>

Slc:SD 系ラット(雌 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。被験物質の投与は、F<sub>0</sub> 雌の妊娠 7 日から 17 日まで行い各群 24 匹を妊娠 21 日に剖検した。12 匹の F<sub>0</sub> については自然分娩させ、離乳まで F<sub>1</sub> 児を哺育させ、11-15 週齢の同群内の雌雄の F<sub>1</sub> を交配妊娠させ、妊娠 21 日に剖検し、F<sub>2</sub> への影響を調べた。

F<sub>0</sub> 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。810mg 投与群で、妊娠後期に体重増加抑制が認められ、摂餌量及び摂水量では投与初期の減少、その後の増加がみられた。

F<sub>0</sub> 母動物の黄体数、着床数、着床率、生存胎児数、妊娠期間に投与の影響は認められなかった。810mg 投与群で胚/胎児死亡率の上昇がみられ、90 mg 以上投与群で胎児体重の低下が観察された。F<sub>1</sub> 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。骨格検査では、90mg 以上投与群で前肢基節骨、後肢基節骨、尾椎骨等で化骨遅延が認められ、810mg 投与群では胸骨核及び中足骨の化骨不全、頸肋、第 13 肋骨短小の出現率の上昇がみられた。奇形胎児の出現率に投与の影響はみられなかった。

F<sub>1</sub> 出生児の性比に異常は認められなかった。810mg 投与群の F<sub>1</sub> 動物において、生後 4 日までの生存率低下、雄の生後 0 日-11 週及び雌の生後 0 日-7 週で体重の低値がみられた。F<sub>1</sub> 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よる異常は認められなかった。離乳後の視覚及び聴覚機能<sup>k</sup>、情動性、学習能に投与の影響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。

F<sub>1</sub> の精巣下降、膈開口、交尾率、妊娠率、黄体数、着床数、生存胎児数、胚/胎児死亡数、胎児性比、生存胎児体重等の F<sub>1</sub>/F<sub>2</sub> の生殖発生毒性指標に投与による影響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、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。

#### 【ラットを用いた周産期及び授乳期投与試験】<sup>(23)</sup>

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。被験物質の投与は、F<sub>0</sub> の妊娠 17 日から分娩後 20 日まで行った。F<sub>0</sub> を自然分娩させ、離乳まで F<sub>1</sub> 児を哺育させ、F<sub>1</sub> の成長、行動、生殖能を調べ、同群内の雌雄の F<sub>1</sub> を交配妊娠させ、F<sub>2</sub> への影響を調べた。

母動物への影響として、60mg 投与群で F<sub>0</sub> の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 F<sub>0</sub>/ F<sub>1</sub> 及び F<sub>1</sub>/ F<sub>2</sub> の生殖発生に投与による影響はみられなかった。本試験における母動物に対する NOAEL は 10mg/kg 体重/日、胎児に対して 360 mg/kg 体重/日であった。

#### 【ラットを用いた骨格異常発現時期特定試験】<sup>(23)</sup>

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、または 7-17 日に強制経口投与し、胎児の骨格変異発現の感受期を調べた。妊娠 9-10 日または 7-17 日に被験物質を投与された群で、頸肋、第 13 肋骨短小の出現率が上昇した。骨格奇形及び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骨格異常発現時期投与試験】<sup>(23)</sup>

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 9-10 日に強制経口投与し、胎児に及ぼす影響が検討された。

用量依存的な胎児体重低下、化骨遅延、骨格変異(頸肋、第 13 肋骨短小、第 13 肋骨欠損等)の出現率の上昇がみられた。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】<sup>(23)</sup>

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。

#### 【ウサギを用いた胎児の器官形成期試験(催奇形性試験)】<sup>(23)</sup>

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、40、160 mg/kg 体重/日)投与による催奇形性試験において、被験物質を妊娠 6 日から 18 日まで投与した。

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。

黄体数、着床数、着床率、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、内部器官及び骨格奇形、化骨遅延、骨格変異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 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

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 <sup>(24)</sup>      |
| 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 <sup>1</sup><br>(24) |
| Rec-assay             | <i>Bacillus subtilis</i> M45(Rec <sup>-</sup> ),<br><i>Bacillus subtilis</i> H17(Rec <sup>+</sup> ) | 3.1~25µg/mL                                       | 陽性 <sup>(24)</sup>      |
| 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 <sup>2</sup><br>(24) |
| 姉妹染色分体交換試験            | CHL 繊維芽細胞   | 0.1~1000 µg/mL                                    | 陰性 <sup>3</sup><br>(24) |
|                       | 培養ヒトリンパ球  | 0.1~300 µg/mL                                     | 陰性 <sup>4</sup><br>(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 <sup>(24)</sup> |
| 小核試験   | マウス骨髄                    | 10, 90, 810, 2500mg/kg<br>単回経口投与             | 陰性 <sup>(24)</sup> |
|  |                          | 10, 40, 160, 500 mg/kg/日,<br>1 回/日、5 回連続経口投与 | 陰性 <sup>(24)</sup> |
| 優性致死試験                                       | SLC-BDF <sub>1</sub> マウス | 250, 2500mg/kg<br>単回経口投与                     | 陰性 <sup>(25)</sup> |
|  |                          | 125, 1250mg/kg/日<br>1 回/日、5 回連続経口投与          | 陰性 <sup>(25)</sup> |

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<br>(±S9)                  | 陰性 <sup>1</sup><br>(26) |
| 前進突然変異試験   | CHO(K-1/ <i>Hprt</i> )  | 0.375, 0.750, 1.50 mg/mL<br>(±S9)            | 陰性 <sup>(26)</sup>      |
| 染色体異常試験    | CHL 培養細胞  | 250, 500, 1000 µg/mL<br>(±S9 ; 6h)           | 陰性 <sup>2</sup><br>(26) |
|            |   | 50, 100, 200, 300, 400, 500 µg/mL(-S9 ; 24h) | 陽性 <sup>(26)</sup>      |
|            |   | 50, 100, 200, 300µg/mL<br>(-S9 ; 48h)        | 陽性 <sup>(26)</sup>      |
| 姉妹染色分体交換試験 | CHL 繊維芽細胞   | 50, 100, 200, 300µg/mL(-S9)                  | 陽性 <sup>(26)</sup>      |
|            |   | 125, 250, 500, 1000µg/mL<br>(+S9)            | 陽性 ≥250<br>(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<br>( <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 <sup>1</sup><br>(26) |
| 姉妹染色分体交換試験                            | マウス骨髄                    | 150, 300, 600mg/kg<br>単回経口投与            | 陰性 <sup>(26)</sup>      |
| 小核試験                                  | マウス骨髄                    | 150, 300, 600mg/kg<br>単回経口投与            | 陰性 <sup>(26)</sup>      |
|                                       |                          | 100, 200, 400mg/kg/日<br>1 回/日、5 回連続経口投与 | 陰性 <sup>2</sup><br>(26) |
| 優性致死試験                                | SLC-BDF <sub>1</sub> マウス | 30, 90, 270mg/kg/日<br>1 回/日、5 回連続経口投与   | 陰性 <sup>(26)</sup>      |

<sup>1</sup> 投与3, 12 時間後に肝細胞を採取し培養

<sup>2</sup> 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<br>(±S9)                     | 陰性 <sup>1</sup><br>(26) |
| 染色体異常試験 | CHL 培養細胞  | 250, 500, 1000, 2000µg/mL<br>(±S9 ; 6h)      | 陰性 <sup>2</sup><br>(26) |
|         |   | 50, 100, 200, 300, 400, 500 µg/mL(-S9 ; 24h) | 弱陽性 <sup>(26)</sup>     |
|         |   | 50, 100, 200, 300µg/mL<br>(-S9 ; 48h)        | 弱陽性 <sup>(26)</sup>     |

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<br>単回経口投与            | 陰性 <sup>(26)</sup>      |
|      |       | 100, 200, 400mg/kg/日<br>1 回/日、5 回連続経口投与 | 陰性 <sup>1</sup><br>(26) |

<sup>1</sup> 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】<sup>(27), (28)</sup>

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。<sup>(27)</sup>

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。<sup>(28)</sup>

#### 【若齢犬を用いた 8 日間関節毒性試験】<sup>(6)</sup>

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 $\mu$ g/mL)で 15 分灌流し、ERG<sup>l</sup>が測定された。180 $\mu$ g で B 波の振幅と振動電位の減少、108 $\mu$ g で振動電位の減少が認められたが、36 $\mu$ 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 $\mu$ g/mL のオフロキサシン含有溶液を灌注し、1、2、4 週後に ERG、4 週後に VEP<sup>m</sup>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 $\mu$ 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 $\mu$ 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。<sup>(29)</sup>

#### (8)一般薬理試験<sup>(30)</sup>

##### 【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】

<sup>l</sup> Electroretinogram

<sup>m</sup> Visual evoked potential

脳波及び心臓に対する作用(ネコ; EEG、ECG<sup>1)</sup>)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)。ヘキサバルビタール睡眠(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)、脊髓反射(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<sup>o</sup>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<sup>p</sup>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

<sup>1)</sup> Electroencephalogram, Electrocardiogram

<sup>o</sup>  $10^3$ 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。

<sup>p</sup>  $10^3$ 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。