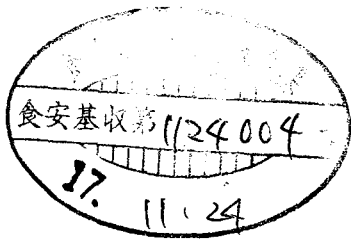




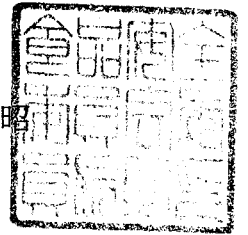
資料 1-1



府食第1142号  
平成17年11月24日

厚生労働大臣  
川崎 二郎 殿

食品安全委員会  
委員長 寺田 雅昭



### 食品健康影響評価の結果の通知について

平成17年9月13日付け厚生労働省発食安第0913002号をもって貴省から当委員会に対して求められたオフロキサシンに係る食品健康影響評価の結果は下記のとおりですので、食品安全基本法(平成15年法律第48号)第23条第2項の規定に基づき通知します。

なお、食品健康影響評価の詳細をまとめたものは別紙のとおりです。

### 記

オフロキサシンの1日摂取許容量を0.005mg/kg体重/日と設定する。

(別紙)

## 動物用医薬品評価書

オフロキサシンを有効成分とする鶏の飲水添加剤(オキサ  
サルジン液)の再審査に係る食品健康影響評価について

2005年11月

食品安全委員会 動物用医薬品専門調査会

〈審議の経緯〉

平成16年10月29日	農林水産大臣から食品健康影響評価について要請、関係書類の接受
平成16年11月4日	第68回食品安全委員会(要望事項説明)
平成16年11月16日	第20回動物用医薬品専門調査会
平成17年6月21日	第29回動物用医薬品専門調査会
平成17年7月21日	第31回動物用医薬品専門調査会
平成17年8月29日	第32回動物用医薬品専門調査会
平成17年9月13日	厚生労働大臣から食品健康影響評価について要請、関係書類の接受
平成17年9月15日	第111回食品安全委員会(要望事項説明)
平成17年9月22日	第112回食品安全委員会(報告)
平成17年9月22日－10月19日	国民からの意見情報の募集
平成17年11月22日	動物用医薬品専門調査会座長から食品安全委員会委員長に報告
平成17年11月24日	第121回食品安全委員会において報告内容の確認・了承 食品安全委員会委員長から農林水産大臣、厚生労働大臣に通知

〈食品安全委員会委員〉

委員長	寺田	雅昭
委員長代理	寺尾	允男
	小泉	直子
	坂本	元子
	中村	靖彦
	本間	清一
	見上	彪

〈食品安全委員会動物用医薬品専門調査会専門委員〉

H17. 9. 30まで

座長	三森	国敏		
座長代理	井上	松久		
	青木	宙	津田	洋幸
	明石	博臣	寺本	昭二
	江馬	眞	長尾	美奈子
	大野	泰雄	中村	政幸
	菅野	純	林	眞
	嶋田	甚五郎	藤田	正一
	鈴木	勝士		

H17. 10. 1から

座長	三森	国敏		
座長代理	井上	松久		
	青木	宙	津田	修治
	明石	博臣	寺本	昭二
	江馬	眞	長尾	美奈子
	大野	泰雄	中村	政幸
	小川	久美子	林	眞
	渋谷	淳	藤田	正一
	嶋田	甚五郎	吉田	緑
	鈴木	勝士		

## オフロキサシンを有効成分とする鶏の飲水添加剤(オキササルジン液)の再審査に係る食品健康影響評価について

### 1. オキササルジン液について<sup>(1)</sup>

オキササルジン液については、平成4年7月10日に農林水産大臣より動物用医薬品として承認を受けた後、所定の期間(6年)が経過したため再審査申請が行われた。製剤の内容については次の通りである。

#### ①主剤

主剤はオフロキサシンである。

#### ②効能・効果

適応症は鶏の呼吸器性マイコプラズマ病、大腸菌症で、有効菌種はマイコプラズマ・ガリセプチカム、大腸菌である。

#### ③用法・用量

飲水1L当たりオフロキサシンとして50～100mgを均一に溶かして、または1日体重1kg当たりオフロキサシンとして5～10mgを飲水に均一に溶かして鶏(産卵鶏を除く)に3～5日間経口投与する。休薬期間は7日である。なお、本製剤については第一選択薬が無効の症例のみに使用することとされている。

#### ④その他

防腐剤としてパラオキシ安息香酸エチル及びプロピルが使用されているが、これらは食品添加物としての使用歴があり、含有量もごく微量であることから、投与量と休薬期間を考慮すると影響は無視できると考えられる。

### 2. 再審査における安全性に関する知見等について

#### (1)ヒトに対する安全性について<sup>(2)</sup>

オキササルジン液は上記の通り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おり、アジアの数ヶ国でも使用実績があるが、主剤であるオフロキサシンの欧州や米国における食用動物を対象とした使用はない。EMEA、FDA、JECFAにおける評価は行われていない。日本においてADI及びMRLの設定はされていない。

#### (2)安全性に関する研究報告について<sup>(3)</sup>

調査期間中のMedlineを含むデータベース検索の結果、耐性菌に関する報告等が複数報告されている。

#### (3)承認後の副作用報告について<sup>(4)</sup>

鶏に対する安全性について、調査期間中に1,629,946羽の調査が実施され、鶏に対する新たな副作用は認められなかったとされている。

### 3. 再審査に係る評価について

#### 1)残留基準設定に係る評価について

本製剤は鶏に飲水投与されるが、日本においてMRLの設定はなされていないことから、オフロキサシンのADI設定について別添の通り評価を実施した。オフロキサシンの残留基準設定に係る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切と考えられる。

オフロキサシン 0.005mg/kg体重/日

#### 2)薬剤耐性菌に係る評価について

本剤の再審査に係る評価については、薬剤耐性菌を介した影響について考慮する必要がある

り、これについてはなお検討中である。

<出典>

- (1) オキサリジン液 再審査申請書(未公表)
- (2) オキサリジン液 再審査申請書添付資料: 効能又は効果及び安全性についての調査資料(未公表)

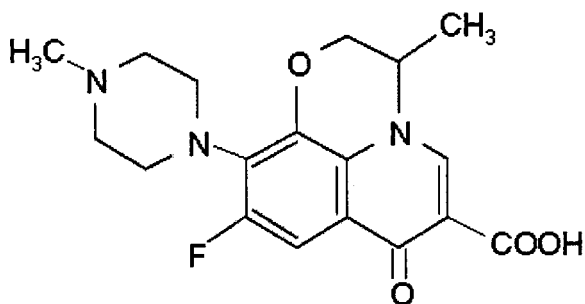
(別添)

## オフロキサシンの食品健康影響評価について

### 1. 薬剤の概要

#### (1) 物質名<sup>(1)(2)</sup>

オフロキサシン(Ofloxacin)



分子式 : C<sub>18</sub>H<sub>20</sub>FN<sub>3</sub>O<sub>4</sub>

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°C (分解)

溶解度 : 2 g/L (20°C)

蒸気圧 : nonvolatile

#### (2) 効能・効果

オフロキサシンはニューキノロン<sup>a</sup>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Ⅱ型トポイソメラーゼ<sup>b</sup>であるDNAジャイレース、あるいはトポイソメラーゼⅣに作用しDNA複製を阻害するものと考えられている<sup>(3)</sup>。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。

<sup>a</sup> 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。

<sup>b</sup> 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】<sup>(4)(5)</sup>

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。 $T_{1/2}$ ( $\beta$ 相)は1.0時間であった。<sup>(4)</sup>

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 $\mu\text{g/mL}$ 、 $T_{1/2}$ ( $\beta$ 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。<sup>(5)</sup>

#### 【ラットにおける単回投与試験】<sup>(4)</sup>

Wistar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。 $T_{1/2}$ ( $\beta$ 相)は1.8時間であった。

Wistar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】<sup>(6)</sup>

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日間の反復強制経口投与において、投与初日と7日目の $T_{max}$ 、 $C_{max}$ 、 $T_{1/2}$ ( $\beta$ 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 $\mu\text{g/mL}$ 、 $T_{1/2}$ ( $\beta$ 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 $\mu\text{g/mL}$ 、 $T_{1/2}$ ( $\beta$ 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】<sup>(7)</sup>

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 $\mu\text{g/mL}$ 、 $T_{1/2}$ ( $\beta$ 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 $\mu\text{g/g}$ 、 $T_{1/2}$ ( $\beta$ 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<sup>c</sup>。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体:N-

<sup>c</sup> 総排泄腔から尿のみ排泄されるよう処置

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】<sup>(8)(9)(10)(11)</sup>

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 $\mu$ g/mL(2.17-4.01 $\mu$ g/mL)、 $T_{1/2}(\beta$ 相)は6.6時間(6.5-7.0時間)であった。<sup>(8)</sup>

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 $\mu$ g/mL、 $T_{1/2}(\beta$ 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 $\mu$ g/mL、 $T_{1/2}(\beta$ 相)は6.5時間であった。<sup>(9)</sup>

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 $\mu$ g/mL、 $T_{1/2}(\beta$ 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。<sup>(10)</sup>

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 $T_{1/2}(\beta$ 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 $\mu$ g/mL、 $T_{1/2}(\beta$ 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。<sup>(11)</sup>

#### 【鶏における7日間経口投与試験】

ブロイラーに200ppmのオフロキサシン溶液を飲水投与し、1、3、5、7、10日後の血清及び皮膚、脂肪、筋肉、肝臓、腎臓中の薬物濃度が測定されている。投与終了直後の濃度は腎臓で最も高く12.9ppm、次いで肝臓10.6ppm、筋肉5.3ppm、皮膚2.4ppm、血清2.0ppm、脂肪0.6ppmであり、経時的に減衰して5日後には全て定量限界未満(0.02ppm)となった。<sup>(12)</sup>

ブロイラーに100あるいは200ppmのオフロキサシン溶液を飲水投与し、1、3、5、7、9日後の血清及び皮膚、脂肪、筋肉、肝臓、腎臓中の薬物濃度が測定されている。100ppm投与群の投与終了直後の濃度は肝臓で最も高く3.3ppm、次いで腎臓3.2ppm、筋肉0.88ppm、血清0.62ppm、皮膚0.29ppm、脂肪0.21ppmであり、経時的に減衰して3日後には全て定量限界未満(0.05ppm)となった。200ppm投与群の投与終了直後の濃度は肝臓で最も高く6.5ppm、次いで腎臓5.5ppm、筋肉4.8ppm、血清0.95ppm、脂肪0.54ppm、皮膚0.40ppmであり、経時的に減衰して3日後には全て定量限界未満(0.05ppm)となった。<sup>(13)</sup>

## 2-2.毒性試験

### (1)急性毒性試験<sup>(14)(15)(16)</sup>

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5290mg/kg体重、雄で5450mg/kg体



重、ラット(Wistar系)の雌で3750mg/kg体重、雄で3590mg/kg体重、イヌ(ビーグル)では雌雄とも>200mg<sup>d</sup>、リスザルの雄で500-1000mg/kg<sup>e</sup>であった。静脈内投与では、マウス(Std:ddy系)の雌で233mg/kg体重、雄で208mg/kg体重、ラット(Wistar系)の雌で276mg/kg体重、雄で273mg/kg体重、イヌ(ビーグル)では雌雄とも>70mg<sup>f</sup>であった。皮下投与ではマウス(Std:ddy系)では雌雄とも>10000mg/kg体重、ラット(Wistar系)の雌で9000mg/kg体重、雄で7070mg/kg体重であった<sup>g</sup>。(14)

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<sub>50</sub>は雌で40.2mg/kg体重、雄で38.5mg/kg体重で未変化体より強い急性毒性を示した。(15)

レボフロキサシンの経口投与によるLD<sub>50</sub>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。(16)

## (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】(17)

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、810mg/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<sup>a</sup>、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<sup>+</sup>の排泄量の用量相関

<sup>d</sup>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)。

<sup>e</sup>500mgで死亡なし(0/3)、1000mgではすべて死亡(4/4)

<sup>f</sup>50、70mgで死亡なし(各0/2)、100mgで1頭死亡(1/2)

<sup>g</sup>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。

<sup>h</sup>ガルトン笛に対するPreyer's反射の観察

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>i</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>i</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Na<sup>+</sup>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<sup>-</sup>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、320mg/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、Ca<sup>+</sup>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>1)</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>g</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、810mg/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、160mg/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40mg/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>(21)</sup>
Ames 試験	<i>S. typhimarium</i> TA1535, TA1537, TA1538, TA98, TA100, <i>E. coli</i> WP2 <i>uvrA</i>	0.001~0.5 µg/plate(±S9)	陰性 <sup>(24)</sup>
Rec-assay	<i>Bacillus subtilis</i> M45(Rec <sup>-</sup> ), <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>(24)</sup>
姉妹染色分体交換試験	CHL 繊維芽細胞	0.1~1000 µg/mL	陰性 <sup>(24)</sup>
	培養ヒトリンパ球	0.1~300 µg/mL	陰性 <sup>(24)</sup>

- 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 単回経口投与	陰性 <sup>(24)</sup>
		10, 40, 160, 500 mg/kg/日, 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 単回経口投与	陰性 <sup>(25)</sup>
		125, 1250mg/kg/日 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 (±S9)	陰性 <sup>1</sup> (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 <sup>2(26)</sup>
染色体異常試験	CHL 培養細胞	250, 500, 1000 µg/mL (±S9 ; 6h)	陰性 <sup>2</sup> (26)
		50, 100, 200, 300, 400, 500 µg/mL(-S9 ; 24h)	陽性 <sup>2(26)</sup>
		50, 100, 200, 300µg/mL (-S9 ; 48h)	陽性 <sup>2(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>2(26)</sup>
		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 <sup>1</sup> (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 <sup>2(26)</sup>
小核試験	マウス骨髄	150, 300, 600mg/kg 単回経口投与	陰性 <sup>2(26)</sup>
		100, 200, 400mg/kg/日 1回/日、5回連続経口投与	陰性 <sup>2</sup> (26)
優性致死試験	SLC-BDF <sub>1</sub> マウス	30, 90, 270mg/kg/日 1回/日、5回連続経口投与	陰性 <sup>2(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。