

た。内腔の拡張は対照群を含め全ての投与群で認められた(1、1、2、1)。精原細胞の空胞状変化は対照群 1 頭、100ppm 投与群 2 頭、2500ppm 投与群 3 頭で認められ、100ppm 及び 2500ppm 投与群の所見は正常範囲外とされていたが、320ppm 投与群では認められず、用量相関性は認められなかった。⁽²⁰⁾

上記試験で認められた精巣の変化を明らかにするため、若齢イヌを用いた追加試験が実施されている。

3 か月齢の雄ビーグル犬(各 4 頭/群)を用いた混餌投与(0、10、20、40、3200ppm; 0、0.3、0.6、1.2、92.1mg/kg 体重/日)による 13 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。試験期間中に死亡例はなかった。

一般的な臨床症状観察では、対照群を含め散発的に軟便/下痢、嘔吐が認められた。3200ppm 投与群で活動低下、手根関節の過伸展、後肢の硬直が投与初期から認められ、幾分軽減したものの試験終了時まで継続して認められた。

体重変化では 3200ppm 投与群で 3 週頃まで体重増加の抑制が認められた。摂餌量では 3200ppm 投与群で 5 週まで低値が認められた。

眼検査(直接検査眼鏡)では特に異常は認められなかった。

臓器重量では、精巣重量の変動幅は大きかったが、用量に 관련된 変動は認められず、成熟段階の差によるものと考えられた。

剖検では精巣及び精巣上体に特に異常は認められなかった。

病理組織学的検査では、先の試験と同様、精巣の成熟段階の違いによるばらつきが認められた。精細管中の精原細胞の空胞状変化は対照群を含めた全てで認められたが、投与量による差はなく生理的変動の範囲内と考えられた。3200ppm 投与群では 1 頭で両側性の精巣の異常が認められ、精細管に多核巨細胞と、時に有糸分裂像を認める大きな核を有する大型の細胞が認められた。⁽²¹⁾

幼若時の暴露が成長後に影響を及ぼすかについて追加で検討が行われている。

3 か月齢の雄ビーグル犬(各 4 頭/群)を用いた混餌投与(0、10、40ppm; 0、0.3、1.2mg/kg 体重/日)による 13 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。全ての動物は 13 週間の投与期間終了後、さらに 13 週間休薬し、その後精巣及び精巣上体の病理組織学的検査を実施した。

一般的な臨床症状観察、体重変化、飼料摂取量、剖検及び病理組織学的検査では、いずれも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。精巣及び精巣上体はいずれも成熟し、正常な精子を含有していた。⁽²²⁾

本試験における NOAEL は 3mg/kg 体重/日であった。

(3)慢性毒性試験

【マウスを用いた 2 年間発がん性慢性毒性併合試験】⁽²³⁾

B6C3F₁ マウス(雌雄各 60 匹/群)を用いた混餌(0、1000、3300、10000ppm; 雄 0、323、1097、3526mg/kg 体重/日、雌 0、373、1206、3696mg/kg 体重/日)投与による 2 年間の発がん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。各群 10 匹は 12 カ月の時点で中間剖検された。また中間剖検用に雌雄各 10 匹/群について、各投与群に加え 20000ppm(雄 8031、雌 8007 mg/kg 体重/日)が 12 カ月間混餌投与された。

一般的な臨床症状観察では、中間剖検された 20000ppm 投与群を含め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。試験期間中の死亡率に差は認められなかった。

体重変化では、10000ppm 以下の投与群では雌雄でしばしば顕著な高値が認められた。20000ppm では対照群と差は認められなかった。

摂餌量、飲水量では、10000ppm 以下の投与群では差は認められなかった。20000ppm 投与群では雌雄で摂餌量・飲水量ともやや多かった(但し、20000ppm 投与群は 12 ヶ月間、対照群ないし 10000ppm 以下の群では 24 ヶ月間投与の平均値の比較)。

血液学的、血液生化学的検査は 12 カ月と試験終了時の 2 時点で実施されている。

血液学的検査では、12 カ月の時点で雄の全投与群と雌の 3300ppm 以上投与群で MCV の低値が認められたが、試験終了時には雄の 3300ppm 以上投与群と雌の 10000ppm 投与群のみとなった。12 及び 24 カ月のいずれの時点でも雄の 3300ppm 以上投与群、雌の 10000ppm 以上投与群で MCH の低値が認められた。12 カ月時点で雄の 10000ppm 以上投与群、試験終了時で 3300ppm 以上投与群の雄及び 10000ppm 投与群の雌で白血球数の減少が認められた。また、12 ヶ月時点で Hb、Ht の低下が 20000ppm 投与群の雄、10000ppm 以上投与群の雌で認められた。10000ppm 以上投与群の雌雄で Hb、Ht の低下が 12 カ月及び又は試験終了時で認められた。その他いくつかの項目で散発的に有意差を示す項目が認められたが、毒性学的意義はないと考えられた。

血液生化学的検査では、12 カ月時点で 3300ppm 以上、試験終了時で 10000ppm 投与群の雌で AP の低値が認められた。ALT、AST には異常は認められなかった。12 カ月時点の雄の 20000ppm 投与群、雌の 3300ppm 以上投与群、試験終了時の雄の 10000ppm 投与群、雌の 3300ppm 以上投与群で総たん白質の減少が認められ、アルブミンの知見からグロブリンの低値によるものと考えられた。また、12 ヶ月時点で、雌の 10000ppm 以上投与群で CREA の増加を認めた。その他散発的に有意差のある項目が散見されたが毒性学的意味は無いと考えられた。

試験終了時での眼検査では 10000ppm 投与群の雌雄で限局的な混濁が認められたが、病理組織学的検査では異常は認められなかった。

臓器重量では雌において 12 ヶ月時点で 20000ppm 投与群、試験終了時で 10000ppm 投与群に腎臓の相対及び絶対重量の増加が認められた。他にも有意差のある項目が散見されたが、多くは体重差に起因するものであり、その他用量相関性や程度から毒性学的な意義のある変化とは認められなかった。

試験終了時の剖検では、雄の 1000ppm 以上投与群、雌の 3300ppm 以上投与群で盲腸の拡張が認められた。他には期間途中の剖検例も含め、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。

病理組織学的検査では、3300ppm 以上投与群の雄及び 10000ppm 投与群の雌で胆管過形成と胆嚢の限局的な粘膜乳頭状過形成が認められた。腫瘍の発生率については、投与群間で特に被験物質の投与に起因した有意差は認められなかった。

本試験において発がん性は認められなかった。また、盲腸の拡張を除いた NOAEL は 323mg/kg 体重/日であった。

【ラットを用いた 2 年間慢性毒性/発がん性併合試験】^{(24)、(25)、(26)、(27)、(28)}

Wistar(Bor:WISW)ラット(雌雄各 50 匹/群)を用いた混餌(0、770、2000、6000ppm; 雄 0、41.0、103.4、337.6mg/kg 体重/日、雌 0、57.7、146.0、465.6mg/kg 体重/日)投与による 2 年間の発がん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。また同時に中間剖検用に別途各用量について雌雄各 10 匹/群及びさらに 10000ppm(雄 855.5、雌 1001.4 mg/kg 体重/日)が設定され 12 カ月間混餌投与された。

群間比較では有意な生存率の変化は認められなかった。

体重変化では 6000ppm 投与群の雄及び 10000ppm 投与群の雌雄で体重増加量の減少が認められたが、770、2000ppm 投与群の雄では増加していた。体重増加量の減少は 10000ppm 投与群の雌で顕著であった。

飼料摂取量では10000ppm投与群の雌雄で、飲水量は6000ppm以上投与群の雌雄で増加が認められた。血液学的検査は6、12、18、24カ月に実施されている。6カ月の時点において、RBC、Hb、Ht、MCVの低値が認められ、6000ppm以上投与群の雄のHt、10000ppm投与群の雄のRBC、雌雄のHb、雌雄のHtは背景対照をうわまわっていた。また、白血球数の減少も認められたがこれは抗生物質の場合、細菌が死滅することにより二次的によく認められる現象である。これらはいずれも24カ月時点では差は認められなかった。

血液生化学的検査は6、12、18、24カ月に実施されている。雄の全ての投与群で24カ月の2000ppm投与群を除き6カ月以降のいずれの時点においても総たん白質の有意な減少が認められた。雌では6カ月時点及び試験終了時に2000ppm以上投与群、12カ月時点で2000ppm及び10000ppm投与群で減少が認められた。総たん白質の減少はたん白質の電気泳動による解析結果からグロブリンの低下によるものと考えられた。報告者は、抗菌剤の投与により病原体が減少し、免疫系の活性化が低下したものと考察している。

尿検査ではたん白質排泄量が減少したが、これは血液中のたん白質の減少に伴うものと考えられた。眼検査では特に被験物質投与の影響は認められなかった。

臓器重量では、2000ppm以上投与群の雄で肝臓の相対及び絶対重量の減少が認められた。雌では中間剖検で770と10000ppm投与群で同様の変化が認められたが用量相関性はなく、試験終了時では2000ppmのみで認められ一貫性がない結果であった。その他散発的な変化が認められたが多くは体重差に起因するものであり、毒性学的な意義は不明であった。

最終剖検時の肉眼的所見では、2000ppm以上投与群の雌雄で肝嚢胞の増加、6000ppm投与群で盲腸の拡張が認められた。

病理組織学的検査では、中間剖検時に線維化を伴う胆管過形成が対照群を含めた雄の全ての群及び雌の6000ppm以上投与群で認められ、雄の6000ppm以上投与群では有意であった。また、精巣萎縮が6000ppm以上投与群で認められ、10000ppmでは有意であった。試験終了時では線維化を伴う胆管過形成及び嚢胞性胆管過形成、精巣の萎縮及び石灰沈着、心筋症、骨格筋線維の核数の増加が対照群を含めた雌雄で認められ、線維化を伴う胆管過形成は雄の全ての投与群と雌の2000ppm以上投与群、嚢胞性胆管過形成は雄の2000ppm以上投与群と雌の6000ppm投与群、雄の精巣萎縮、石灰沈着は6000ppm投与群、心筋症は雌の全ての投与群と雄の6000ppm投与群、骨格筋変化は雌雄の6000ppm投与群で有意であった。

腫瘍発生については、中間剖検ではほとんど認められなかった。試験終了時では、雄の6000ppm投与群で甲状腺のC-細胞腺腫の発生頻度の増加が認められ、腺癌との合計では統計学的に有意となったが、背景対照の範囲内であった。雌の6000ppm投与群で統計学的な有意差はないが、心内膜下間葉性細胞腫瘍(神経鞘腫)の増加が認められた。これを心内膜下間葉性細胞過形成と合算した場合、統計学的に有意に増加した。この所見は別途評価された結果、本試験では対照群の雌雄で心内膜下間葉性細胞腫と過形成の発生がなく、対照群における同病変の頻度は背景データより低い値であること、雄では用量相関性が観察されなかったこと等から、雌雄ともこれらの病変の増加は投与との関連性はないと結論されており、EMEAおよびJECFAにおいてもその結論は支持されている。また、本試験の雌雄で増加した心筋症との関連性も認められていない。さらに、心内膜下神経鞘腫はラットにのみ発生する種特異的な腫瘍であると考えられている。これらの結果より、心内膜の腫瘍性病変の発生頻度の増加が投与に関連する可能性は極めて低く、またヒトへの外挿性はないと考えられる。その他の腫瘍及び悪性腫瘍の頻度に差は認められなかった。

本試験において発がん性は認められなかったが、770ppm投与群においても胆管過形成及び心筋症が

認められたため、NOAELは求められなかった。

上記で認められたいくつかの病変についてのNOAELを確認するため、同系統のラットを用いた追加試験が実施されている。

Wistar(Bor:WISW)ラット(雌雄各50匹/群)を用いた混餌(0、100、500ppm;雄0、5.3、26mg/kg体重/日、雌0、7.2、36mg/kg体重/日)投与による2年間の発がん性/慢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。各群雌雄各10匹は12カ月の時点で中間剖検に供された。

生存率、一般臨床症状観察、眼検査、摂餌量、飲水量、体重変化、血液学的検査、血液生化学的検査、臓器重量には投与に起因した異常は認められなかった。

剖検及び病理組織学的検査では、雄で肝臓の肥大が認められたが、重量及び病理組織学的に後述の変化を除き異常は認められなかった。肝臓で線維化を伴う胆管過形成が中間剖検時で雄の100ppm以上投与群、試験終了時で雌雄の500ppm投与群で認められた。

腫瘍形成については肝臓と心臓のみ病理組織学的検査が実施されているが特に腫瘍の発生率の上昇は認められなかった。

上記2試験で最低投与量においても線維化を伴う胆管過形成が認められたことから、この病変に対するNOAELを決定するため、再度試験が実施された。

Wistar(Bor:WISW)ラット(雌雄各50匹/群)を用いた混餌(0、10、50ppm;雄0、0.6、2.9mg/kg体重/日、雌0、0.7、3.5mg/kg体重/日)投与による2年間の慢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。各群雌雄各10匹は12カ月の時点で中間剖検に供された。

生存率、一般臨床症状観察、眼検査、摂餌量、飲水量、体重変化、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、臓器重量、剖検及び病理組織学的検査において被験物質の投与に起因した異常は認められなかった。

本試験におけるNOAELは2.9mg/kg体重/日であった。

(4)繁殖毒性試験及び催奇形性試験

【ラットを用いた2世代繁殖試験】^{(29),(30),(31)}

Sprague-Dawley系ラット(Crl:CD@BR;雌雄各30匹/群)を用いた混餌(0、500、2000、7500ppm;)投与による2世代繁殖試験が実施されている。

被験物質の投与はF₀世代雄では40日齢以上の動物を用いて交配前70日間、雌では100日齢以上の動物を用いて交配前14日間、F₁世代では離乳後、雌雄とも交配70日前から剖検時まで行った。F₀世代交配の出生児(F₁)は一部を除き、離乳(生後21日)まで保育され、離乳後各群雌雄25匹を選抜し、これらを交配しF₂世代を得た。選抜されなかったF₁は剖検に供された。F₂世代は一部を除き離乳まで保育された。

一般的な臨床観察では、7500ppm投与群のF₁雌数匹で鼻孔周辺に茶褐色の付着物が認められた。体重変化ではF₀、F₁ともに7500ppm投与群の雌雄で低体重と増加量の減少が認められた。飼料摂取量は7500ppm投与群のF₁雄で試験期間中減少した。

性周期に投与の影響は認められなかったが、F₀、F₁世代ともに妊娠率の低下、妊娠期間の軽度な延長、総産児数、出生率、着床数の低下が7500ppm投与群で認められた。

死産児数には、F₀およびF₁世代とも投与群と対照群の間に差はみられなかった。

F₁およびF₂児の生後1~4日の生存率、生後5~21日の生存率(離乳率)は7500ppm投与群で低下し、保育期間中低体重と体重増加の抑制が認められた。

児の外表、骨格ともに投与に起因した異常は認められなかった。

病理組織学的検査では、7500ppm 投与群の F₁ 雄の数例で片側性の精巣萎縮、散在性の精細管萎縮、精巣上体中の細胞残屑が認められた。また、F₀、F₁ 雄の多くで変性した精子細胞が精細管や精巣上体中に認められた。雌の生殖器官には病理組織学的異常はみられなかった。

Sprague-Dawley 系ラット(Crl:CD@BR; 雌雄各 30 匹/群)を用いた混餌(0、125、300、2000ppm; 0、10、25、165mg/kg 体重/日)投与による 2 世代繁殖試験が実施されている。

投与は F₀ 世代雄では 47 日齢の動物を用いて交配前 70 日間、雌では 103 日齢の動物を用いて 14 日間、F₁ 世代では離乳後、雌雄とも交配の 77 日前から剖検時まで行った。F₀ 世代交配の出生児(F₁)は一部を除き、離乳(生後 21 日)までほ育され、離乳後各群雌雄 25 匹を選抜し、これらを交配して F₂ 世代を得た。選抜されなかった F₁ は剖検に供された。F₂ 世代は一部を除き離乳までほ育された。

一般的な臨床観察、体重、飼料摂取量には投与の影響は認められなかった。

性周期、妊娠率、着床数、同腹児数、死産児数、児の生存率には、F₀ および F₁ 世代とも投与群と対照群の間に差はみられなかった。F₂ の 2000ppm 投与群では離乳前の体重増加が軽度低下した。

児の外表、骨格ともに投与に起因した異常は認められなかった。

臓器重量では、2000ppm 投与群の F₀、F₁ 雄の精巣上体重量に統計学的有意差はないが減少傾向が認められた。剖検、病理組織学的検査では、300ppm 以上投与群の F₀ 及び F₁ 雄で変性した精子細胞が精巣の精細管や精巣上体中に認められた。125ppm 投与群ではこれらの変化は認められなかった。

本試験における NOAEL は 10mg/kg 体重/日であった。

上記 2 試験で雄の精子に形態異常が認められたため、これらの異常が発現する時期について検討するために追加試験を行った。

Sprague-Dawley 系ラット(Crl:CD@BR; 雄 60 匹/群)に 0 または 7500ppm の濃度でエンロフロキサシンを添加した飼料を 90 日間投与した。投与 3、6、9 週にそれぞれ各群 10 匹、13 週に 15 匹を剖検し、残りの雄 15 匹には基礎飼料を与え回復群としてさらに 13 週間飼育した。投与 11 週及び投与終了後 3、7、11 週に各群の雄 15 匹を薬剤未投与の雌と最長 2 週間交配させ、雌ラットを妊娠 20 日に剖検し、繁殖成績を調べた。

投与雄では投与期間を通じて低体重及び体重増加の減少が認められ、飼料摂取量も減少した。これらは投薬終了後に回復した。

いずれの時期の交配においても交尾率に影響は認められなかったが、投与雄の 3 例で繁殖成績の低下が認められ、これらの動物では両側精巣の完全あるいは中程度の萎縮が観察された。精巣重量では中間剖検で相対及び絶対重量の増加が認められ、試験終了時には絶対重量の低値がみられた。精巣上体重量は回復期を含めて試験期間中を通じて相対及び絶対重量の低値を示した。精巣あるいは精巣上体中の精子の変性は投与 3 週の剖検時で認められ、経時的に増加した。また、精巣上体中の細胞残屑の増加が認められた。投与雄における異常精子は 1 例を除いて休業期間中に回復したが、精細管の萎縮は投与雄の 6/15 でなお認められた。

投与 11 週に交配した雌で妊娠率、同腹児数及び着床数の低下、未着床胚数の増加が認められた。着床後吸収胚数の増加は認められなかった。妊娠率、同腹児数及び着床数の低下、未着床胚数増加は休業期間中に回復した。

被験物質の投与に起因すると考えられる胎児の外形異常は認められなかった。

【ラットを用いた催奇形性試験】⁽³²⁾

COBS CD 系ラット(28 匹/群)を用いた強制経口(0、50、210、875 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。被験物質の投与は、妊娠 6 日から 15 日の間行った。

母動物の死亡は認められなかった。一般的な臨床症状観察では、被験物質の投与に起因した異常は認められなかった。体重増加の低値が 875 mg 投与群の妊娠期間中で認められた。また、妊娠 20 日の体重は低値を示した。飼料摂取量の低下が妊娠 8 日の 210mg 以上投与群、12 日の 875mg 投与群で認められたが、後半には回復し、20 日には高用量群で有意に増加した。

875mg 投与群で同腹子数の減少、着床後胚/胎児死亡数の増加が認められた。210mg 以上投与群において胎児重量の低値が認められた。黄体数、胎児の性比に投与の影響は認められなかった。

210mg 投与群の胎児で椎骨と胸骨、875mg 投与群の胎児で頭蓋骨、椎骨、骨盤骨、胸骨、肢骨の骨化遅延が認められた。胎児の外表、内臓および骨格の奇形や変異の発現率に投与の影響は認められなかった。

以上の結果から、本試験の母動物及び胎児動物に対する NOAEL は 50mg/kg/日であった。

【ウサギを用いた催奇形性試験】⁽³³⁾

ウサギ(チンチラ種; 16 匹/群)を用いた強制経口(0、1、5、25mg/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。被験物質の投与は、妊娠 6 日から 18 日の間行った。なお、25mg までの投与において母体毒性が認められなかったため、対照群と 75mg 投与群を用いた試験が追加で設定され、同様の方法で実施された。

追加試験対照群の母動物の 1 例を除き死亡例は認められなかった。一般的な臨床症状観察では、75mg 投与群の 1 例で妊娠 19 日及び 20 日に流産の兆候が観察された他は、被験物質の投与に起因した異常は認められなかった。体重増加の低値が 75 mg 投与群の交配後 15 日まで認められ、交配後 6-8 日に体重の軽度な減少が認められ、11 日以降は有意な低値を示した。被験物質の投与期間を通じて 75mg 投与群の飼料摂取量は低値を示した。

75mg 投与群で着床後胚/胎児死亡数の増加が認められた。この他には特に投与の影響は認められなかった。

胎児の外表、内臓および骨格の奇形や変異の発現率、骨化状態に投与の影響は認められなかった。

以上の結果から、本試験の母動物及び胎児動物に対する NOAEL は 25mg/kg/日であった。

⁴ 黄体数と着床数から計算

(5) 遺伝毒性試験

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)	ラット初代培養肝細胞	1~500µg/mL ¹	陰性 ⁽²⁾
Ames 試験	<i>S. typhimurium</i> TA1535, TA1537, TA98, TA100, <i>E. coli</i> WP2 <i>uvrA</i>	0.5~150 ng/plate(±S9) ²	陰性 ⁽³⁾
	<i>S. typhimurium</i> TA1535, TA1537, TA98, TA100, <i>E. coli</i> WP2 <i>uvrA</i>	0.05~15 ng/plate(±S9) ³	陰性 ⁽³⁾
	<i>S. typhimurium</i> TA1535, TA1537, TA98, TA100	0.004~40ng/plate(±S9) ⁴	陰性 ⁽³⁾
染色体異常試験	CHO(WBI) ⁽³⁷⁾	50~250 µg/mL ⁵ (-S9; 23h)	陽性 (250µg)
		25~500 µg/mL ⁶ (-S9; 22h)	陽性 (250µg)
		250~1000 µg/mL ⁷ (+S9; 2h+24.25h)	陰性
		100~2000 µg/mL ⁸ (+S9; 2h+22.8h)	陰性
前進突然変異試験	CHO(K1-BH/HPRT) ⁽³⁸⁾	0.25~1.25 mg/mL ⁹ (-S9; 4h)	不明確 ⁽¹⁰⁾
		0.375~1.25 mg/mL ⁹ (+S9; 4hr)	不明確 ⁽¹¹⁾

- 500µg/mL では細胞致死作用により解析不可能
- 1.5(TA1535-S9)、5(TA100±S9, TA1535+S9)、15(WP2±S9, TA98-S9, TA1537+S9)、50(TA98+S9, TA1537-S9)ng/plate で菌の生育阻害が認められた。
- 5(TA100±S9, TA1535±S9, TA1537±S9)、15(WP2±S9, TA98±S9)ng/plate で菌の生育阻害が認められた。
- 予備試験において 40ng/plate 以上で菌の生育阻害が認められた
- 50µg/mL については 7.2h 処理も実施。250µg/mL では細胞毒性が認められた。
- 50µg/mL 以下については 7.5h 処理も実施。250µg/mL で細胞毒性が認められ、500µg/mL では有糸分裂中の細胞が得られなかった。
- 500µg/mL 以下については 8.25h 処理も実施。500µg/mL 以上で細胞毒性が認められた。
- 500µg/mL 以下については 8.2h 処理も実施。2000µg/mL では有糸分裂中の細胞が得られなかった。
- 1mg/mL 以上では細胞毒性が認められた。
- 陽性結果が散見されたが、再現性、用量相関性がなく、変動は背景対照の範囲内であった。
- 陽性結果が散見されたが、再現性、用量相関性がない

上記のように、*in vitro* の試験においては UDS 試験及び Ames 試験で陰性であったが、ほ乳類培養細胞を用いた染色体異常試験では-S9 条件下のみ、細胞毒性の認められる用量で陽性の結果が得られている。また、ほ乳類培養細胞を用いた前進突然変異試験では陽性結果が散見されるものの、再現性に乏しく、用量相関性の無い、不明瞭な結果が得られている。

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 ⁽³⁹⁾	2000 mg/kg/日, 単回腹腔内 ¹	陰性
		1000, 1500, 2000 mg/kg/日, 単回腹腔内 ²	陰性
染色体異常試験	ラット骨髄 ⁽⁴⁰⁾	40, 200, 1000mg/kg/日, 単回経口 ³	陰性

- 9/30 の動物が死亡し、72 時間後の観察では多染性赤血球に対する成熟赤血球比率に毒性影響が認められた。
- 1500mg 以上投与群で 3/10 の動物が死亡した。
- 予備試験で 1500mg 以上の投与では副作用のため試験が困難とされた。1000mg 投与群では一部に重度の副作用が認められた。

上記の通り、げっ歯類を用いた *in vivo* の骨髄小核試験、骨髄染色体異常試験ではいずれも陰性であった。

エンロフロキサシンの遺伝毒性については CHO 培養細胞を用いた前進突然変異試験で陽性を疑わせる結果及び染色体異常試験で-S9 条件下の細胞毒性が認められる用量において陽性の結果が報告されている。しかし、骨髄に毒性影響が認められる用量まで試験されたマウスを用いた骨髄小核試験及び個体に著しい毒性が認められる用量まで試験されたラットを用いた骨髄染色体異常試験のいずれも陰性であった。これらのことから、エンロ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。

(6) 一般薬理試験

【一般症状及び行動】

Irwin の多次元観察法(マウス)において 25mg/kg 体重以上の腹腔内投与で運動性の抑制、83mg/kg 体重以上で認知力の抑制、250mg/kg 体重で振戦、攣縮、痙攣等の中枢興奮症状、姿勢制御抑制、眼裂縮小、排尿、流涎、立毛、体温降下等の自律神経症状が認められた。これらの症状は投与後 30~60 分で最大となり、約 2-3 時間で消失した。8.3mg/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。⁽⁴¹⁾

【中枢神経系への作用】

体温測定(ウサギ; 直腸温)においては 83mg/kg 体重の静脈投与で 1 例に(1/3)軽度の上昇が認められた(8.3, 25mg/kg では影響なし)。⁽⁴¹⁾
ヘキソバルビタール麻酔(マウス; 睡眠時間)、中枢性協調能(マウス; 平行棒法)、鎮痛作用(マウス; 熱板法)、抗痙攣作用(マウス; 電気刺激、ペントテトラゾール痙攣)、懸垂能(マウス; 水平棒)、カタレプシー(マウス、ラット)、探索行動(マウス; Hoffmeister らの方法)、反射(ラット; 舌下顎反射、神経伝達阻害)において、100mg/kg までの経口投与で影響は認められなかった。自発運動(マウス)は 100mg/kg の経口投与で軽度の亢進作用を示した。⁽⁴²⁾

【自律神経系への作用】

ウサギでは投与直後に一過性の縮瞳が認められた他に変化は認められなかった。⁽⁴¹⁾

【平滑筋に対する作用】

生体位子宮運動(ウサギ)では 83mg/kg 体重の静脈投与で自発性収縮の軽度な減少が認められた。⁽⁴¹⁾

摘出回腸(モルモット; 自発収縮)では $10^{-7} \sim 10^{-4}$ g/mLの濃度でコリン作動薬による収縮、ヒスタミン収縮に対して濃度依存的に抑制作用を示した。単独では収縮及び弛緩作用を示さなかった。⁽⁴¹⁾

摘出気管(モルモット; 自発収縮)においては、10 μ g/mLまでの濃度で摘出気管の固有緊張(トーン)、ヒスタミン及びロイコトリエンD₄による収縮に影響を及ぼさなかった。⁽⁴²⁾

【消化器官系に対する作用】

腸管輸送能(ラット; 炭末移動)、胃忍容性(ラット; 損傷測定)においては、100mg/kgまでの濃度の経口投与で影響を及ぼさなかった。胃酸基礎分泌(ラット; 胃管流液の測定)においては、100mg/kgまでの用量の十二指腸内投与で影響を及ぼさなかった。⁽⁴³⁾

【呼吸循環系への作用】

呼吸、血圧、心拍数(いずれもウサギ; 8.3、25、83mg/kgの静脈投与)が観察された。呼吸数はいずれの用量でも投与直後から用量依存的に減少したが、15分から回復傾向を示し、60分には回復した。血圧は投与直後から60-90分まで軽度低下したが、その後は回復傾向を示した。心拍数は83mg投与群で投与直後から減少し、5分後には約23%の減少が認められた。その後は増加に転じ、30分後には約10%増加し、以後180分まで持続した。25mg以下では変化は認められなかった。⁽⁴⁴⁾

血圧、心拍数、血流量、心電図(麻酔イヌ)では5及び15mg/kgの静脈内投与で一過性の軽度血圧低下を伴った末梢血管拡張、左心室内圧上昇速度の増加が認められた。これらの変化は投与量に関わりなく同様であり、内因性ヒスタミンの遊離の可能性が示唆された。⁽⁴⁵⁾

【血液系への作用】

血液系への作用は、血液凝固能(ラット; 血液凝固時間、血小板凝集、線維素溶解作用)について実施されたが、100mg/kgまでの経口投与では影響は認められなかった。⁽⁴⁶⁾

【その他】

尿排泄への作用(ラット; 尿量、Na⁺、K⁺測定)においては100mg/kgの経口投与でK⁺の排泄が増加した。30mg/kgまでの濃度では影響は認められなかった。⁽⁴⁷⁾

血糖値、血清トリグリセライド値(ラット)においては、摂食ラットでは100mg/kgまでの経口投与では影響は認められなかったが、絶食ラットでは30mg/kg以上の経口投与で血糖値、血清トリグリセライド値の上昇が認められた。耐糖能(絶食ラット; グルコース経口負荷試験)においては、100mg/kgまでの経口投与では影響は認められなかったが、100mg/kgの投与120分後の血糖値には上昇が認められた。⁽⁴⁸⁾

(7) その他

【皮膚感作性】

雄モルモット(白色種)15匹に25%エンロフロキサシン懸濁液を粘性パッチを用いて試験0、7、14日目にそれぞれ6時間皮膚に貼付し、感作を行った。27日目に感作と同様の処置を行い、24及び48時間後の発赤の程度を確認したところ、48時間後に1例で非常に弱い発赤が認められたのみであり、感作性はないものと考えられた。⁽⁴⁹⁾

(8) 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)^{(50)、(51)}

ヒト臨床分離株等に対するエンロフロキサシンの10⁷cfu/mLにおけるMICが報告されている。

菌名	株数	最小発育阻止濃度(μ g/mL)		
		Enrofloxacin		
		MIC ₅₀	MIC ₉₀	範囲
偏性嫌気性菌				
<i>Bacteroides</i> spp.	10	1	4	0.5-4
<i>Bifidobacterium</i> spp.	10	0.5	2	0.016-2
<i>Clostridium</i> spp.	10	0.5	4	0.125-4
<i>Eubacterium</i> spp.	10	0.25	0.25	0.125-4
<i>Fusobacterium</i> spp.	10	0.125	8	0.062-8
<i>Peptostreptococcus</i> spp.	10	0.25	8	0.062-16
通性嫌気性菌				
<i>Enterococci</i>	10	1	1	0.5-1
<i>Escherichia coli</i>	10	0.031	0.062	0.031-0.062
<i>Lactobacillus</i> spp.	10	0.5	1	0.5-4
<i>Proteus</i> spp.	10	0.125	0.125	0.062-0.125

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0.031 μ g/mLであった。次いで*Fusobacterium* spp.、*Proteus* spp.の0.125 μ g/mLであった。

②代謝物のヒトの腸内細菌に対する最小発育阻止濃度(MIC)

エンロフロキサシン及びエンロフロキサシンの代謝物として同定されたシプロフロキサシン、オキソシプロフロキサシン、開環オキソシプロフロキサシン、7-aminoacetic fluoroquinolonic acid、desethylene enrofloxacin、desethylene ciprofloxacin、n-fomyl ciprofloxacin、7-amino fluoro-quinolonic acid、オキソエンロフロキサシンについて、*Escherichia coli*、*Proteus*、*Lactobacillus*、*Enterococcus*、*Staphylococcus*に対するMICが測定されたが、抗菌活性はシプロフロキサシンを除きいずれもエンロフロキサシンよりも弱かった。

③pHの最小発育阻止濃度(MIC)に及ぼす影響

エンロフロキサシンの*Bacteroides* spp.、*Bifidobacterium* spp.、*Clostridium* spp.、*Enterococcus* spp.、*Escherichia coli*、*Eubacterium* spp.、*Fusobacterium* spp.、*Lactobacillus* spp.、*Peptostreptococcus* spp.、*Proteus* spp.に対するMIC(算術平均)にpHが及ぼす影響が調査されている。少数例を除きpH7.2でpH6.2あるいは5.2よりも強い抗菌活性が認められた。

⁵⁰ *Peptostreptococcus* spp.、*Eubacterium* spp.はpH5.2においてやや強い抗菌活性を示した