

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

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

¹ 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】^{(27), (28)}

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。⁽²⁷⁾

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。⁽²⁸⁾

【若齢犬を用いた 8 日間関節毒性試験】⁽⁶⁾

3 ヶ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 μ g/mL)で 15 分灌流し、ERG¹が測定された。180 μ g で B 波の振幅と振動電位の減少、108 μ g で振動電位の減少が認められたが、36 μ 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 μ g/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^m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 μ 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 μ 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。⁽²⁹⁾

(8)一般薬理試験⁽³⁰⁾

【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】

¹Electroretinogram

^mVisual evoked potential

脳波及び心臓に対する作用(ネコ； EEG、ECG¹⁾)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(麻醉イヌ； 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²⁾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²⁾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(いずれも麻醉イヌ)を観察したが、一過性の股動脈血流

¹⁾Electroencephalogram, Electrocardiogram

²⁾ 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。

³⁾ 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。

量の増加、軽度の呼吸数の増加のみが認められた。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、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1g/kg 体重までの経口投与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 の静脈内投与で神経を介した間接及び筋への直接刺激による収縮が増加し、血圧が一過性に軽度 to 中度に下降した(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/kg 以上の経口投与で尿量、Na⁺、Cl⁻ の排泄が減少した。

局所麻酔作用(モルモット；瞬目反射)は0.1~1%の濃度において被験物質投与による影響は認められなかった。

(9) 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)

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 | | 31 |
| <i>Bacteroides caccae</i> | 10 | 8 | 8 | 1->128 | 32 |
| <i>Bacteroides distasonis</i> | 10 | 2 | 8 | 2-64 | 33 |
| | 12 | 2 | 16 | 2-64 | 32 |
| <i>Bacteroides fragilis</i> | 42 | 1.56 | 6.25 | 0.78-12.5 | 34 |
| | 13 | 2 | 4 | 2-16 | 35 |
| | 51 | 4 | 4 | 2->64 | 36 |
| | 29 | 4 | 8 | 1-16 | 37 |
| | 27 | 2 | 2 | 0.5-8 | 38 |
| | 50 | 2 | 4 | 2-4 | 39 |
| | 20 | 4 | 8 | 2-16 | 40 |
| | 41 | 3.13 | 12.5 | 0.78->25 | 41 |
| | 32 | 1.0 | 4.0 | 1-16 | 5 |
| | 4 | 2 | 4 | | 31 |
| | 23 | 1 | 4 | 1-128 | 42 |
| | 11 | 2 | 4 | 1-8 | 33 |
| 23 | 2 | 8 | 2-64 | 32 | |

| | | | | | |
|---|----|-------|------|-----------|----|
| | 25 | 1.56 | 3.13 | 0.78-3.13 | 43 |
| <i>Bacteroides fragilis</i> group | 52 | 4 | 32 | 1-128 | 42 |
| <i>Bacteroides melaninogenicus</i> | 20 | 1 | 2 | 0.5-2 | 39 |
| <i>Bacteroides ovatus</i> | 12 | 16 | 32 | 16-32 | 33 |
| | 10 | 16 | 16 | 8-16 | 32 |
| <i>Bacteroides thetaiotaomicrom</i> | 14 | 16 | 16 | 8-256 | 33 |
| | 17 | 8 | 128 | 4-128 | 32 |
| <i>Bacteroides uniformis</i> | 10 | 8 | 16 | 2-64 | 33 |
| | 12 | 4 | 8 | 2-8 | 32 |
| <i>Bacteroides ureolyticus</i> group | 11 | 0.125 | 0.5 | <0.06-1 | 32 |
| <i>Bacteroides vulgatus</i> | 12 | 4 | 8 | 1-16 | 33 |
| | 12 | 2 | 16 | 1-16 | 32 |
| <i>Bacteroides</i> spp.(<i>fragilis</i> 除く) | 29 | 8 | 32 | <0.03-64 | 36 |
| | 29 | 8 | 32 | 2-128 | 42 |
| | 17 | 2 | 4 | 0.25-8 | 33 |
| <i>Bifidobacterium</i> spp. | 10 | 4 | 4 | 1-8 | 42 |
| <i>Clostridium perfringens</i> | 17 | 0.39 | 0.78 | 0.39-12.5 | 34 |
| | 50 | 0.5 | 1 | 0.5-1 | 39 |
| | 20 | 1.0 | 1.0 | 0.5-1 | 5 |
| | 6 | 0.5 | 1 | 0.5-1 | 42 |
| | 10 | 1 | 1 | 0.5-1 | 33 |
| | 12 | 0.5 | 0.5 | 0.5-1 | 32 |
| <i>Clostridium ramosum</i> / <i>innocuum</i> / <i>clostridiiforme</i> | 15 | 16 | 128 | 1->128 | 32 |
| <i>Clostridium</i> spp. | 13 | 2 | >64 | 0.5-16 | 36 |
| | 20 | 1 | 8 | 0.25-16 | 40 |
| | 17 | 2 | 8 | 0.5-256 | 33 |
| | 23 | 4 | 16 | 0.5-32 | 32 |
| <i>Eubacterium</i> spp. | 12 | 0.5 | 2 | 0.5-8 | 42 |
| | 10 | 1 | 2 | 0.25-4 | 33 |
| <i>Fusobacterium nucleatum</i> | 5 | 1 | 2 | | 31 |
| <i>Fusobacterium nucleatum</i> / <i>necrophorum</i> | 15 | 2 | 2 | 1-4 | 33 |
| <i>Fusobacterium mortiferum</i> / <i>varium</i> | 19 | 4 | 16 | 2-64 | 33 |
| <i>Fusobacterium varium</i> / <i>ulcerans</i> / <i>gonidiformans</i> | 14 | 8 | 16 | 2-128 | 32 |
| <i>Fusobacterium</i> spp. | 10 | 4 | 4 | 0.25-64 | 42 |
| | 20 | 2 | 16 | 0.5-64 | 32 |
| <i>Peptococcus</i> spp. | 11 | 8 | 16 | 0.25-16 | 36 |
| | 25 | 1.56 | 6.25 | 0.39-12.5 | 41 |
| <i>Peptostreptococcus</i> spp. | 8 | 0.5 | 4 | 0.25-4 | 36 |
| | 50 | 2 | 4 | 1-4 | 39 |
| | 18 | 0.5 | 2 | 0.12-8 | 42 |

| | | | | | |
|---|-----|-------|-------|-------------|----|
| | 20 | 0.5 | 8 | 0.125-16 | 33 |
| | 22 | 0.5 | 8 | 0.125-16 | 32 |
| | 25 | 6.25 | 25 | 0.20-25 | 44 |
| <i>Peptococcus / Peptostreptococcus</i> | 10 | 1 | 2 | 0.25-2 | 40 |
| <i>Prevotella bivia</i> | 12 | 8 | 8 | 2-8 | 32 |
| <i>Prevotella</i> spp. (pigmented) | 17 | 1 | 16 | 0.25-64 | 32 |
| <i>Prevotella</i> spp. (nonpigmented) | 14 | 2 | 2 | 1-2 | 32 |
| <i>Prevotella</i> spp | 6 | 2 | 8 | 0.5-32 | 42 |
| 通性嫌気性菌 | | | | | |
| <i>Enterococcus faecalis</i> | 25 | 2 | 2 | 1-4 | 40 |
| | 50 | 3.13 | 6.25 | 0.78-25 | 41 |
| | 16 | 4 | 4 | 2-4 | 5 |
| | 25 | 1.56 | 3.13 | 0.78-3.13 | 43 |
| <i>Enterococcus faecium</i> | 16 | 2.0 | 16.0 | 1-16 | 5 |
| <i>Enterococci</i> | 10 | 2 | 32 | 1-32 | 42 |
| | 29 | 2 | 4 | 1-4 | 38 |
| | 100 | 2 | 4 | 1-8 | 39 |
| <i>Escherichia coli</i> | 100 | 0.05 | 0.19 | 0.025-1.56 | 34 |
| | 54 | 0.063 | 0.125 | 0.031-1 | 35 |
| | 23 | 0.06 | 0.125 | ≤0.06-0.125 | 37 |
| | 49 | 0.06 | 0.06 | ≤0.03-0.5 | 38 |
| | 100 | 0.06 | 0.12 | 0.06-0.12 | 39 |
| | 35 | 0.06 | 0.125 | 0.03-1 | 40 |
| | 50 | 0.05 | 0.10 | 0.025-3.13 | 41 |
| | 32 | 0.06 | 0.13 | 0.03-0.25 | 5 |
| | 39 | 0.5 | 1 | | 31 |
| | 10 | 0.06 | 32 | 0.03-64 | 42 |
| | 25 | 0.05 | 0.05 | 0.013-0.10 | 43 |
| <i>Lactobacillus</i> spp. | 50 | 4 | 32 | | 31 |
| | 13 | 4 | 32 | 1-32 | 42 |
| <i>Propionibacterium acnes</i> | 14 | 1 | 4 | 1-8 | 36 |
| <i>Propionibacterium granulosum</i> | 6 | 1 | 4 | 1-4 | 36 |
| <i>Propionibacterium</i> spp. | 11 | 0.5 | 0.5 | 0.25-0.5 | 32 |

これらの調査は $10^3 \sim 10^7$ CFU/spotの菌濃度⁹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¹⁰⁾、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¹¹⁾。

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 0.05μg/mL であった。次いで *Bacteroides ureolyticus* group の 0.125μg/mL、*Clostridium perfringens* の 0.39μg/mLであった。この他では、*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。

⁹ 論文8は未記載

②ATCC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)⁽³²⁾であった。

③pH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⁽³⁶⁾。

【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⁽⁴⁴⁾。

【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*) \sim $< 1.6 \times 10^{-9}$ (*P. stuartii*)であった⁽³⁷⁾。

(10)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。

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

¹ 0 はモード

められたのは消化器系の不調/痛み(5/5⁵⁾、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。⁽⁴⁷⁾

【フェイズⅡ、Ⅲ及びⅣ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Ⅱ、Ⅲ及びⅣ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。⁽⁴⁸⁾

【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】

一般にフルオロキノロン剤はメラニンに高い親和性を示すことが報告されている。オフロキサシンについて直接の知見は得られていないが、¹⁴C 標識レボフロキサシン単回投与後のメラニン含有組織中濃度はアルビノラットと比較して有色ラットにおいて高値を示し、その半減期は約20日であったことから⁽⁴⁹⁾、他のキノロン剤と同様の傾向を示すものと考えられる。

毒性影響については、白色及び有色ウサギの眼にオフロキサシン溶液を直接灌注した試験において、100µg/mLの灌注ではERGに変化が認められたものの、50µg/mLではERG、VEPともに変化は認められておらず、ヒト臨床試験においても眼の異常は主要な副作用とは見なされていない。また、レボフロキサシンのサルを用いた26週間の亜急性毒性試験では、最高用量(62.5mg/kg 体重/日)においても眼検査に異常は認められなかった。これらのことから、オフロキサシンについては、眼毒性よりも他の毒性影響がより感受性の高い指標となるものと考えられる。

【関節影響に関する知見について】

キノロン剤については、幼若動物において関節影響が認められることが知られており、これまで国内外で検討された毒性評価のほとんどで最も感受性の高い毒性指標となっている。

オフロキサシンについてはラットとイヌを用いた関節影響に対する特殊試験が実施されており、他のキノロン剤と同様、イヌにおいてより高い感受性が認められた。これは他の毒性と比較しても最も鋭敏な指標であった。本試験は8日間の短期間の試験であるが、感受性が高い幼若犬を用いて、NOAELが求められていることから、適切な安全係数を適用した上で毒性評価に用いることが可能であると判断された。

【繁殖毒性及び催奇形性について】

繁殖毒性及び催奇形性については、多世代の繁殖毒性試験は実施されていないが、ラットを用いた妊

⁵ 報告被験者数 / 総報告回数

娠前及び妊娠初期投与試験、ラット及びウサギを用いた胎児の器官形成期投与試験、ラットを用いた周産期及び授乳期投与試験が実施され、F₁を繁殖したF₂児の検査まで行われており、繁殖毒性は認められていない。また、ラット及びウサギにおいても催奇形性は認められていない。

【遺伝毒性／発がん性について】

慢性毒性／発がん性試験については実施されていないが、一般にキノロン剤には生体において問題となる遺伝毒性や発がん性は認められていない。

オフロキサシンの遺伝毒性については、細菌を用いた復帰突然変異試験、ヒト培養細胞を用いたUDS試験、ほ乳類培養細胞を用いた染色体異常試験、姉妹染色分体交換試験で陰性であったが、細菌を用いたRec-assayで陽性であった。しかし、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とから、生体にとって問題となる遺伝毒性はないと考えられる。この他、オフロキサシン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が、生体にとって特に問題となるような遺伝毒性は認められていない。

また、オフロキサシン(ラセミ体)の一方の光学異性体であるレボフロキサシンは、発がん物質であるDEN、MNU、DHPN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を示さなかった。

さらに、ラットを用いた6カ月間までの混餌投与試験においてオフロキサシンによる前腫瘍性病変の発生頻度の増加は報告されておらず、比較的長いヒト臨床における使用歴があるが、副作用として腫瘍の発生は知られていない。

これらのことから、発がん性試験を欠いていてもADIの設定は可能であると判断された。

【光毒性について】

1990年代後半からフルオロキノロン剤について光毒性／光遺伝毒性があることが報告されてきており、そのメカニズムについては光照射によって活性化された分子のDNAとの直接作用、光照射によって生じた活性酸素やフリーラジカルの生成による二次的傷害が提案されている。フルオロキノロン剤の光毒性や光遺伝毒性の程度についてはいくつかの報告があり、構造的に6位及び8位にハロゲン置換基を有するフルオロキノロン剤が明らかに強い光毒性を示すこと、8位にメトキシ基を有する場合、光毒性は著しく減弱することが報告されている⁽⁴⁸⁾。オフロキサシンは8位と1位で環構造を有しており構造的に光毒性が強い部類には相当しない。オフロキサシンあるいはレボフロキサシンについて、*in vivo* 光遺伝毒性については報告がない。*in vitro* ではCHLV79培養細胞を用いたUV照射による細胞毒性の増強、コメットアッセイ⁽⁴⁹⁾や光小核試験⁽⁵⁰⁾でいずれもUV照射による毒性の増強が認められたが、他のフルオロキノロン剤との比較では相対的に弱いものであった。また、UV照射後のマウスの耳介炎症を指標とした試験⁽⁵¹⁾において光毒性は比較的弱いこと、レボフロキサシンのヒトボランティアのUV照射後皮膚紅斑を指標とした試験においては、1回100mg、1日3回の投与で影響は認められなかったこと⁽⁵¹⁾、市販後調査において強い光毒性が認められた例は1/1,800,000であったことが報告されている⁽⁵²⁾。これらのことから、オフロキサシンについてはフルオロキノロン剤の中では光毒性／光遺伝毒性は弱い部類に分類される。また、適切に管理される限り、通常食品中のオフロキサシンの残留はごく微量であり、食品を介して生体にとって問題となる光遺伝毒性が生じる可能性は無視できる程度と考えられる。なお、現在得られている用法、用量においては、残留試験において5日間の休薬期間後の残留値は検出限界以下と報告されている。

【毒性学的影響のエンドポイントについて】

オフロキサシンについて実施された種々の毒性試験において、ラットの亜急性毒性試験については、10mg/kg 体重/日の投与群においても盲腸拡張が認められたため、これを毒性影響としてとらえると NOAEL は求められなかった。しかし、この盲腸の拡張は抗菌剤を投与されたラットや、人為的に腸内細菌を除去された無菌ラットにおいても一般的に認められる所見であり、抗菌剤の毒性影響というよりは腸内細菌叢の変動に伴う変化と考えられた。また、この変化はげっ歯類に特異的な反応であることから、毒性学的影響の指標としては適当でないと判断された。

毒性学的影響について最も低い用量で被験物質投与の影響が認められたと考えられる指標は、イヌの 8 日間の関節影響に関する特殊試験において認められた関節軟骨表面の水疱形成であり、NOAEL は 5.0mg/kg 体重/日であった。この知見は、キノロン剤の関節影響が幼若動物のみに認められること、イヌが感受性の高い動物種であることが知られていることから、オフロキサシンの毒性学的影響を評価する指標としては適当であると判断された。しかしながら、通常、イヌを用いて関節影響を評価する際には、通常 90 日という、感受性があると考えられる時期において有る程度の期間の試験が実施されているのに対し、本知見は 8 日間という短期間の試験から得られたものであることから、最終的な毒性の評価に際してはこれを考慮に入れる必要があるとされた。

【微生物学的影響のエンドポイントについて】

微生物学的影響の評価については、ヒトの腸内細菌叢への影響を十分に反映できる単独の試験法が確立されていない現状を考慮すると、得られている知見のうち最も適切と考えられるものを用いて微生物学的 ADI を設定する手法が妥当であると考えられる。オフロキサシンについての微生物学的影響については、*in vitro* の知見として MIC₅₀、*in vivo* の知見としてヒト臨床上的使用経験における有害影響、ヒトボランティアにおける 5 日間経口投与による臨床観察がある。

オフロキサシンについてはヒト臨床上的において比較的長い使用経験がある。臨床における最も主要な副作用は消化器系への影響で、次いで頭痛、睡眠障害と言った中枢神経系の影響であった。これは健常男性ボランティアにおける 10 日間の投与試験でも同様であった。また、5 名の健常ボランティアにおける 5 日間の経口投与(200mg/ヒト、1 日 2 回)について微生物学的影響が検討されているが、この試験において糞便中に耐性菌は検出されず、嫌気性菌の総数にも変化は認められなかった。しかしながら、糞便中の嫌気性菌の割合に変化が認められ、さらに当初は 2/5 でしか認められなかった *Candida* spp. が投与 4 日目には全ての被験者から検出されるようになったため、400mg/ヒト/日のオフロキサシンの経口投与は、ヒト腸内細菌叢のコロニー形成耐性をかく乱したものと考えられ、NOEL は決定できなかった。

一方、*in vitro* の知見については、ヒト腸内細菌叢から検出される優勢菌種である *Bacteroides*、*Bifidobacterium*、*Clostridium*、*Eubacterium*、*Fusobacterium*、*Peptococcus* / *Peptostreptococcus* 等の偏性嫌気性菌、R-plasmid のリザーバーとなる可能性や乳幼児で優勢菌種となる可能性のある *Enterococcus*、*E. coli*、*Lactobacillus* 等の通性嫌気性菌が微生物学的 ADI の設定に際して MIC₅₀ を用いる場合に適切な菌種として国際的に推奨されており、食品安全委員会においても基本的にこれらを用いて評価を実施している。オフロキサシンについては、これらのヒト腸内に生息する可能性がある細菌のヒト臨床分離株について、公表論文から少なくとも 37 種 2164 菌株の MIC₅₀ の情報が得られている。

これらの知見からは、0.5 µg/mL の濃度において *Eubacterium*、*Peptostreptococcus*、*Propionibacterium* の複数の菌種が影響を受けていた。最も低い MIC₅₀ が報告されたのは *E. coli* であったが、*E. coli* についてはヒト腸内細菌の総細菌数に占める割合はごくわずか(0.1%程度)で、腸内細菌叢かく乱に対する寄与率は軽微で

あること、一般的に高度に感受性か非感受性であることが多いことから、単独で微生物学的ADIの評価に用いるMIC₅₀として採用すべきではないとされており^{(5)(USA)}、また、*Bacteroides ureolyticus* groupで 0.125 µg/mL、*Clostridium perfringens* (ウェルシュ菌)で 0.39 µg/mLのMIC₅₀が報告されているが、これらは他の 12 種の *Bacteroides* が全て 1µg/mL以上であるのに対して著しい違いが認められ、さらにヒトボランティアの知見で *Bacteroides* への影響はほとんどなかったこと、またウェルシュ菌は食中毒菌であることから、いずれも単独で微生物学的ADIの評価に用いるのは適切でないと考えられた。

これらのことから、現時点においてはオフロキサシンの微生物学的ADIの算出に当たっては、*Eubacterium*、*Peptostreptococcus*、*Propionibacterium*におけるMIC₅₀の 0.5µg/mLを採用することが適当であると判断された。

なお、ニューキノロンはナリジクス酸等のオールドキノロンと比較して耐性を付与しにくいとされているが、耐性菌が出現する可能性は否定できない。この問題についての定性あるいは定量的評価には、別途のリスク評価が必要であると考えられるが、ニューキノロン剤のヒト医療上における重要性は明らかである。

【一日摂取許容量(ADI)の設定について】

オフロキサシンについては、遺伝毒性発がん性を示さないと考えられ、ADIを設定することが可能である。

毒性学的影響について最も低い用量で被験物質投与の影響が認められたと考えられる指標は、幼若イヌを用いた 8 日間関節毒性試験における NOAEL 5mg/kg 体重/日であった。この知見から ADI を設定するにあたっては、種差 10、個体差 10 の安全係数 100 に加え、関節毒性試験の試験期間が短いこと、及び、発がん性/慢性毒性試験の知見がないこと等を総合的に考慮して 10 を適用し、ADI は 0.005mg/kg 体重/日と設定される。

一方、微生物学的影響について現時点で利用可能なものは *in vitro* の MIC₅₀のみであった。

結腸内容物に 220g、細菌が暴露される分画に 30%(尿中回収率より推測)、安全係数に 1、ヒト体重に 60kg を適用すると、

$$\text{ADI (mg/kg 体重/日)} = \frac{0.0005 \text{ (mg/mL)} \times 220 \text{ (g)}}{0.3 \times 1 \times 60 \text{ (kg)}} = 0.006 \text{ mg/kg 体重/日}$$

となる。

毒性学的影響から導かれる ADI と微生物学的影響から導かれる ADI を比較すると、現時点においては毒性学的データから導かれた値がより小さくなり、感受性が高いと考えられることから、オフロキサシンの残留基準を設定するに際しての ADI としては、0.005 mg/kg 体重/日と設定することが適当であると考えられる。

【食品健康影響評価について】

以上より、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当と考えられる。なお、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り、これについては検討中である。

オフロキサシン 0.005 mg/kg 体重/日

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 | 耐容一日摂取量 |
| TG | トリグリセリド |
| T_{max} | 最高血(漿)中濃度到達時間 |

<出典>

1. 動物用医薬品製造承認申請書(オフロキサシン)(未公表)
2. オフロキサシンの物理的・化学的性質(未公表)
3. William 2001; 抗微生物薬 グッドマン・ギルマン 薬理書(下) 薬物治療の基礎と臨床 第10版; 廣川書店
4. 南新三郎 他; T-3761の各種動物における吸収・分布・代謝及び排泄 (1995)
Jap J Antibiotics : 1995(48), 626-641
5. J. Fung-Tomc, et al. (1989); In vitro and in vivo antibacterial activities of BMY 40062, a new fluoronaphthyridone
Antimicrob Agents Chemother. : 1989 (33), No.6, 906-914
6. Yabe K, et al. (2001); A non-arthropathic dose and its disposition following repeated oral administration of ofloxacin, a new quinolone antimicrobial agent, to juvenile dogs
J Vet Med Sci : 2001 (63), No.8, 867-72
7. DP-1764(Ofloxacin)の鶏吸排分布ならびに代謝物に関する試験(未公表)
8. R. Warlich, et al. (1990); Multiple-dose pharmacokinetics of ofloxacin in serum, saliva, and skin blister fluid of healthy volunteers
Antimicrob Agents Chemother. : 1990 (34), No.1, 78-81
9. D. Israel, et al. (1993); Pharmacokinetics and serum bactericidal titers of ciprofloxacin and ofloxacin following multiple oral doses in healthy volunteers
Antimicrob Agents Chemother. : 1993 (37), No.10, 2193-2199
10. Lockley MR, et al. (1984); The pharmacokinetics and tissue penetration of ofloxacin
J Antimicrob Chemother. : 1984 (14), No.6, 647-52
11. H. Lode, et al. (1987); Pharmacokinetics of ofloxacin after parenteral and oral administration
Antimicrob Agents Chemother. : 1987 (31), No.9, 1338-1342
12. DP-1764(液)の鶏残留性試験(その1)(未公表)
13. DP-1764(液)の鶏残留性試験(その2)(未公表)
14. 大野広志 他; 合成抗菌剤DL-8280のマウス、ラット、イヌおよびサルにおける急性毒性(1984)
Chemotherapy : 1984(32), S-1, 1084-1090
15. DL-8280の分解物、代謝物の急性毒性試験(未公表)
16. M. Kato, et al. (1992); Acute oral toxicity of the new quinolone antibacterial agent levofloxacin in mice, rats and monkeys
Arzneim-Forsch : 1992 (42), 3a, 365-366
17. 小野寺威 他; 合成抗菌剤DL-8280のラットにおける4週間亜急性毒性(1984)
Chemotherapy : 1984(32), S-1, 1091-1104
18. 加藤道幸 他; 合成抗菌剤DL-8280のラットにおける26週経口慢性毒性(1984)
Chemotherapy : 1984(32), S-1, 1122-1141
19. M. Kato, et al. (1992); Twenty-six-week oral toxicity of the new quinolone antibacterial agent levofloxacin in rats and cynomolgus monkeys
Arzneim-Forsch : 1992 (42), 3a, 367-373
20. T. Kajimura, et al. (1992); Effect of the new quinolone antibacterial agent levofloxacin on multiple organ carcinogenesis initiated with wide-spectrum carcinogens in rats
Arzneim-Forsch : 1992 (42), 3a, 390-395
21. DL-8280の生殖試験ーラットにおける妊娠前および妊娠初期投与試験ー(未公表)
22. DL-8280の生殖試験ーラットにおける胎仔器官形成期投与試験ー(未公表)
23. S. Takayama, et al. (1986); Reproductive toxicity of Ofloxacin

- Arzneim-Forsch : 1986 (36(II)), Nr. 8, 1244-1248
24. 島田弘康 他 ; 新合成抗菌剤 DL-8280 の変異原性に関する検討(1984)
Chemotherapy : 1984(32), S-1, 1162-1170
 25. DL-8280 の変異原性に関する検討 優性致死試験(未公表)
 26. H. Shimada, et al. (1992) ; Mutagenicity of the new quinolone antibacterial agent levofloxacin
Arzneim-Forsch : 1992 (42), 3a, 378-385
 27. DL-8280 ラット経口 7 日間関節毒性試験(未公表)
 28. DL-8280 のラット関節軟骨に及ぼす影響 第 3 報 : 水疱形成の週齢差(未公表)
 29. H. Sakai, et al. (1994) ; Nontoxic intravitreal dose of ofloxacin for rabbit retina
Ophthalmic res : 1994 (26), 344-351
 30. 小島浩 他 ; DL-8280 の一般薬理作用(1984)
Chemotherapy : 1984(32), S-1, 1148-1161
 31. MG Martens, et al (1991) ; Susceptibility of female pelvic pathogens to oral antibiotic agents in patients who develop postpartum endometritis
Am J Obstet Gynecol : 1991 (164), 1383-1386
 32. EJC Goldstein and DM Citron (1991) ; Comparative activity of ciprofloxacin, ofloxacin, sparfloxacin, Temafloxacin, CI-960, CI-990, and WIN 57273 against anaerobic bacteria
Antimicrob Agents Chemother. : 1992 (36), No.5, 1158-1162
 33. EJC Goldstein and DM Citron (1991) ; Susceptibility of anaerobic bacteria isolated from intra-abdominal infections to ofloxacin and interaction of ofloxacin with metronidazole
Antimicrob Agents Chemother. : 1991 (35), No.11, 2447-2449
 34. K. Sato, et al. (1982) ; In vitro and in vivo activity of DL-8280, a new oxazine derivative
Antimicrob Agents Chemother. : 1982 (22), No.4, 548-553
 35. Dirk L VC and Stefan RP (1984) ; In vitro activity of ciprofloxacin compared with those of other new fluorinated piperazinyl-substituted quinolone derivatives
Antimicrob Agents Chemother. : 1984 (25), No.4, 518-521
 36. Prabhavathi BF, et al. (1986) ; In-vitro and in-vivo potency of five new fluoroquinolones against anaerobic bacteria
J Antimicrobial Chemother. : 1986 (18), 693-701
 37. Lisa H and Harold CN (1987) ; In vitro activity of two new aryl-fluoroquinolone antimicrobial agents, difloxacin (A-56619) and A-56620 compared to that of other antimicrobial agents
Chemotherapy : 1987 (33), 28-39
 38. Asbjørn D and William LD (1988) ; In vitro activity of A-56619 (difloxacin) and A-56620, two aryl fluoroquinolones
Chemotherapy : 1988 (34), 298-307
 39. RN Gruneberg, et al. (1988) ; The comparative in-vitro activity of ofloxacin
J Antimicrobial Chemotherapy : 1988 (22), Suppl. C, 9-19
 40. AM Espinoza, et al (1988) ; Comparative in vitro activity of a new fluorinated 4-quinolone, T-3262 (A-60969)
Antimicrob Agents Chemother. : 1988 (32), No.5, 663-670
 41. T Une, et al (1988) ; In vitro activity of DR-3355, an optically active ofloxacin
Antimicrob Agents Chemother. : 1988 (32), No.9, 1336-1340
 42. L. Dubreuil, et al (1996) ; Activé in vitro D'une nouvelle fluoroquinolone, la marbofloxacin (RO 09-1168) sur les anaérobies stricts et quelques bactéries de la flore fécale humaine

Path Biol : 1996 (44), 333-336

43. Y Fukuoka, et al (1993) ; In vitro and in vivo antibacterial activities of T-3761, an new quinolone derivative
Antimicrob Agents Chemother. : 1993 (37), No.3, 384-392
44. S Pecquet, et al (1987) ; Effect of oral ofloxacin on fecal bacteria in human volunteers
Antimicrob Agents Chemother. : 1987 (31), No.1, 124-125
45. Stein GE, et al (1991) ; Safety of multiple doses of ofloxacin in healthy volunteers
Drugs Exptl Clin Res : 1991 (XVII), 10/11, 525-529
46. RBlomer, et al (1986) ; Safety of ofloxacin – adverse drug reactions reported during phase-II studies in Europe and in Japan
Infection : 1986 (14), Suppl. 4, S332-S334
47. M Tanaka, et al. (2004) ; Absorption, distribution and excretion of ¹⁴C-levofloxacin after single oral administration in albino and pigmented rats: binding characteristics of levofloxacin-related radioactivity to melanin in vivo.
J Pharm Pharmacol. : 2004 Apr, 56(4), 463-9.
48. K Marutani, et al. (1993) ; Reduced phototoxicity of a fluoroquinolone antibacterial agent with a methoxy group at the 8 position in mice irradiated with long-wavelength UV light
Antimicrob Agents Chemother. : 1993 (37), No.10, 2217-2223
49. Zhang T, et al. (2004) ; Compare two methods of measuring DNA damage induced by photogenotoxicity of fluoroquinolones.
Acta Pharmacol Sin. : 2004 Feb, 25(2), 171-5.
50. Ronald et, al. (1999) ; Photogenotoxicity of fluoroquinolones in Chinese hamster V79 cells: dependency on active topoisomerase II.
Photochem Photobiol. : 1999 Mar, 69(3), 288-93.
51. Scheife RT et, al. ; Photosensitizing potential of ofloxacin
Int J Dermatol. : 1993 Jun, 32(6) : 413-6
52. Yagawa K. ; Latest industry information on the safety profile of levofloxacin in Japan.
Chemotherapy. : 2001 (47) Suppl 3, 38-43, discussion 44-8.
53. WHO TRS 893 (2000)
54. EMEA (2002) ; REVISED GUIDELINE ON SAFETY EVALUATION OF ANTIMICROBIAL SUBSTANCES REGARDING THE EFFECTS ON HUMAN GUT FLORA

