

【原著・基礎】

Garenoxacin のラットにおける反復経口投与毒性試験

長沢 峰子・福井 理恵・木澤 和夫・鬼頭 暢子
早川 大善・三善 隆広・藤堂 洋三

富山化学工業株式会社総合研究所*

(平成 19 年 5 月 11 日受付・平成 19 年 8 月 22 日受理)

Garenoxacin mesilate hydrate (GRNX) を SD 系ラットに 3 カ月間反復経口投与し (雄 50, 100, 200 および 400 mg/kg 群, 雌 100, 200, 400 および 800 mg/kg 群), その毒性を調べるとともに, 雄の 200 および 400 mg/kg 群ならびに雌の 400 および 800 mg/kg 群については 1 カ月間の休薬期間を設けて回復性を調べた。

雄の 100 mg/kg 以上の群では肝細胞の脂肪滴沈着が, 200 mg/kg 以上の群では体重増加抑制, アルカリ性フォスファターゼの増加および心臓重量の減少が, 400 mg/kg 群ではトリグリセリドの減少および唾液腺重量の減少がみられた。一方, 雌の 400 mg/kg 以上の群ではアルカリ性フォスファターゼの増加, 唾液腺重量の減少および関節軟骨障害が, 800 mg/kg 群ではトリグリセリドの減少, 心臓重量の減少および肝細胞の脂肪滴沈着がみられた。休薬期間終了時には雄の 400 mg/kg 群および雌の 800 mg/kg 群で, 関節軟骨部の骨軟骨症がみられた。その他, 軟便および盲腸腔の拡張など GRNX の抗菌作用による腸内細菌叢の変動に起因すると考えられる変化が各群にみられた。これらの結果から, 本試験における無毒性量は雄で 50 mg/kg, 雌で 200 mg/kg と判断した。トキシコキネティクスでは血漿中濃度に性差がみられ, 雌の AUC_{0-24} は雄の約 1/4~1/3 であった。

以上の変化はいずれもフルオロキノロン系抗菌薬のラット反復投与毒性試験においてみられる変化であり, GRNX に特有の変化はなかった。

Key words: garenoxacin, des-fluoro(6)-quinolone, rat, subacute toxicity

Garenoxacin mesilate hydrate (GRNX) は, 富山化学工業株式会社で創製された新規な des-F(6)-quinolone 系抗菌薬である。GRNX にはこれまで上市されたフルオロキノロン系抗菌薬に共通の置換基である 6 位フッ素がなく, 同系抗菌薬とは異なった新規な化学構造を有している。GRNX は広範な抗菌スペクトルを有しており, 非定型菌を含む呼吸器感染症の多くの起因菌に優れた抗菌活性を示すとともに, グラム陽性菌に対して従来のフルオロキノロン系抗菌薬よりも強い活性を保有することが報告されている^{1,2)}。今回, GRNX の安全性を評価する目的で, ラットを用いた 3 カ月間反復経口投与毒性試験を実施した。

1. 材料と方法

1. 被験物質

GRNX は, 富山化学工業株式会社製造品を用いた。なお, 投与量はすべて活性本体で換算し, 表記した。

2. 使用動物および飼育条件

6 週齢の雌雄 SD 系ラット (日本チャールス・リバー (株)) を用いた。投与開始時の体重は, 3 カ月間投与試験で雄が 174~194 g, 雌が 131~150 g であった。トキシコ

キネティクス (TK) 用のサテライト群の動物の体重範囲は雄が 162~202 g, 雌が 123~164 g であった。

ラットは試験期間を通じて, 室温 21~25°C, 湿度 40~60%, 12 時間 (午前 6 時~午後 6 時) の人工照明, 換気回数毎時 15 回以上に設定したバリアシステム飼育室で金属製ブラケットケージ (W 300×D 400×H 200 mm) を用い, 1 ケージあたり, 検疫期間中は 5 または 6 匹, 投与および休薬期間中は 3 または 4 匹ずつ収容し, 飼育した。飼料は, 実験動物用固型飼料 (CRF-1, 日本チャールス・リバー (株)) を, 水はフィルター濾過および紫外線殺菌した水を自由に摂取させた。

3. 投与量, 群構成および投与方法

先に実施した 1 カ月間反復経口投与毒性試験 (未発表データ) の結果を参考に, 最高用量は雄が 400 mg/kg, 雌が 800 mg/kg とし, 他に, 雄には 50, 100 および 200 mg/kg, 雌には 100, 200 および 400 mg/kg を設定した。また, 対照群として 0.5% メチルセルロース水溶液 (0.5% MC) 投与群を設けた。動物は 3 カ月間の投与期間終了時検査動物として各群に雌雄各 10 匹を配し, 1 カ月間の休

*富山県富山市下奥井 2-4-1

薬期間終了時検査動物として雄では対照群, 200 および 400 mg/kg 群, 雌では対照群, 400 および 800 mg/kg 群に各 6 匹を配した。また, TK 用サテライト群として GRNX 投与群に各群雌雄各 4 匹を配した。GRNX は 0.5%MC に懸濁して投与し, 投与容量は 10 mL/kg とした。

4. 観察および検査項目

1) 一般状態

毎日, 全例について観察した。

2) 体重

投与 4 週までは週 2 回, 投与 4 週以降および休薬期間中は週 1 回, 測定した。

3) 摂餌量および摂水量

週 1 回, 全ケージについてケージごとの 24 時間の摂餌量および摂水量を測定し, 1 匹あたりの摂餌量および摂水量を算出した。

4) 尿検査

投与期間終了時および休薬期間終了時に, 個別代謝ケージ (餌および水は自由摂取) を用いて投与後から 4 時間の尿を採取し, 定性検査 (尿検査試験紙: pH, 糖, ケトン体, 潜血, ビリルビンおよびウロビリノーゲン) および尿沈渣の観察を行った。また, 4 時間尿採取後から翌朝までの 18 時間の尿を用いて比重および蛋白量を測定した。尿量は 4 時間と 18 時間の量を合計して求めた。

5) 血液学的検査

投与期間終了時および休薬期間終了時に, 一晩絶食後, エーテル麻酔下で腹大動脈より採血し, EDTA-2K 処理した血液を用いて赤血球数, 白血球数, ヘモグロビン濃度, ヘマトクリット値, 平均赤血球容積, 平均赤血球ヘモグロビン量, 平均赤血球ヘモグロビン濃度および血小板数を測定した。また, 顕微鏡観察で白血球百分率および網赤血球数を調べ, 血球の形態観察を行った。さらに, 血漿 (3.13% クエン酸ナトリウム加) を用いてプロトロンビン時間, 活性化部分トロンボプラスチン時間およびフィブリノーゲンを測定した。

6) 血液生化学的検査

投与期間終了時および休薬期間終了時に, エーテル麻酔下で腹大動脈より採血して得られた血清を用いて, アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST), アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT), アルカリ性フォスファターゼ (ALP), コリンエステラーゼ, 総ビリルビン, 総蛋白, アルブミン, アルブミン/グロブリン比 (A/G 比, 総蛋白とアルブミンから算出), 血糖, 総コレステロール (T-Chol), トリグリセリド (TG), リン脂質 (PL), 遊離脂肪酸, 尿素窒素, クレアチニン, ナトリウム (Na), カリウム (K), クロール (Cl), カルシウムおよび無機リンを測定した。また, 血漿 (ヘパリン加) を用いて, クレアチンホスホキナーゼ, 乳酸脱水素酵素およびアルドラーゼを測定した。さらに, 血清をセルロースアセテ-

ト膜で電気泳動し, 各蛋白分画の比率を算出した。

7) 眼科的検査

投与前, 投与期間終了時および休薬期間終了時に, 検眼鏡により外観および眼底の観察を行った。

8) 剖検時肉眼観察

投与期間終了時および休薬期間終了時に, エーテル麻酔下で採血した後, 放血致死させ, 器官および組織を肉眼的に観察した。四肢の関節 (肩関節, 肘関節, 股関節, 膝関節) については 10% 中性緩衝ホルマリン液に固定後, 関節軟骨面を実体顕微鏡下で観察した。

9) 器官重量測定

器官および組織を肉眼的に観察した後, 脳, 下垂体, 甲状腺, 唾液腺, 胸腺, 心臓, 肺, 肝臓, 腎臓, 脾臓, 副腎, 精巣, 精囊・前立腺, 精巣上部, 卵巣, 子宮, 盲腸 (内容物を含む) の重量を測定し, 重量体重比を算出した。

10) 病理組織学的検査

脳, 下垂体, 甲状腺, 唾液腺, 胸腺, 心臓, 肺, 気管, 肝臓, 腎臓, 脾臓, 副腎, 膵臓, 舌, 食道, 胃, 小腸 (十二指腸, 空腸, 回腸), 大腸 (盲腸, 結腸), 腸間膜リンパ節, 下顎部リンパ節, 大動脈, 眼球 (左), ハーダー腺 (左), 骨格筋 (左大腿部), 脊髄, 骨髄 (胸骨, 左大腿骨), 骨 (胸骨, 左大腿骨), 精巣, 精囊, 前立腺, 精巣上部, 卵巣, 子宮, 膣, 乳腺 (雌のみ), 膀胱, 皮膚 (左肩部), 関節 [左右, 肩関節 (肩甲骨関節窩, 上腕骨近位端), 肘関節 (上腕骨遠位端, 橈骨尺骨近位端), 股関節 (寛骨臼窩, 大腿骨近位端), 膝関節 (大腿骨遠位端, 脛骨腓骨近位端)], 横隔膜, 腹部筋肉および肉眼的に変化のみられた部位を採取後, 10% 中性緩衝ホルマリン液に固定し (精巣はブアン液, 眼球は 5% グルタルアルデヒド・10% ホルマリン混合リン酸緩衝液で固定), 保存した。対照群および高用量群 (雄の 400 mg/kg 群, 雌の 800 mg/kg 群) の全例の全器官および組織について観察を行った。肝臓および肉眼的に変化のみられた部位については低用量群および中間用量群についても観察を行った。関節については, 投与期間終了時の雌の 200 および 400 mg/kg 群, 休薬期間終了時の雄の 200 mg/kg 群および雌の 400 mg/kg 群についても観察を行った。

11) 血漿中薬物濃度測定

初回投与後, 1.5 カ月間 (44 回) 投与後および 3 カ月間 (92 回) 投与後に, TK 用サテライト群を用いて血漿中の薬物濃度を測定した。採血時間は雄が投与後 15 分, 1 時間または 2 時間 (50 および 100 mg/kg 群は 1 時間, 400 および 800 mg/kg 群は 2 時間), 6 時間および 24 時間, 雌が投与後 10 分, 30 分, 4 時間および 12 時間とし, 各採血時間に雌雄各 4 匹を使用した。

血漿中の薬物濃度測定は, 高速液体クロマトグラフィー法³⁾により実施した。得られた結果から, 最高血漿中濃度到達時間 (Tmax), 最高血漿中濃度 (Cmax), 血

Table 1. Gross pathological examination in rats administered GRNX orally for 3 months

Finding	Sex	Dose (mg/kg)		GRNX (mg/kg)								
		Control (0.5% MC)		50		100		200		400		800
		Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Female
End of administration												
Number of animals		10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
No abnormality		10	10	2	1	5	0	3	0	3	0	0
Cecal lumen: dilatation		0	0	8	9	5	9	7	10	7	10	10
Testis: small		0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0
Epididymis: small		0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0
Hip joint:												
Femur (proximal portion)												
blister		0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2
End of recovery												
Number of animals		6	6	0	0	0	6	0	6	6	6	6
No abnormality		6	6				6		5	6	4	4
Kidney:												
dilatation, renal pelvis		0	0				0		1	0	0	0
Knee joint:												
Femur (distal portion)												
blister		0	0				0		0	0	0	2

漿中濃度消失半減期 (T1/2), 血漿中濃度-時間曲線下面積 (AUC_{0-∞}) を求めた。

5. 統計処理

体重, 摂餌量, 摂水量, 尿検査 (尿量, 比重および蛋白量), 血液学的検査, 血液生化学的検査, 器官重量および器官重量体重比については, 対照群と GRNX 投与各群の平均値および標準偏差を算出し, 両群間で等分散性の検定 (F 検定) を行い, 等分散の場合は Student の t 検定, 不等分散の場合は Aspin-Welch の検定により統計学的有意差検定を行った。なお, 有意水準は 5% および 1% とし, 片側検定で実施した。

II. 結 果

1. 投与期間中および投与期間終了時の検査

1) 一般状態

いずれの群にも死亡例はみられなかった。軟便が, 雄では 200 mg/kg 以上の群で, 雌では 400 mg/kg 以上の群でみられた。その他に異常はみられなかった。

2) 体重

雄では, 200 mg/kg 以上の群で体重増加抑制がみられた。雌では, GRNX 投与に起因する体重推移の異常はみられなかった。

3) 摂餌量および摂水量

摂餌量には, GRNX 投与に起因する異常はみられなかった。

摂水量の増加が, 雄の 100 mg/kg 以上の群および雌の 200 mg/kg 以上の群でみられた。

4) 尿検査

雄では, 400 mg/kg 群で尿量の増加および尿比重の低下がみられた。雌では, GRNX 投与に起因する異常はみ

られなかった。

5) 血液学的検査

雌雄ともに, GRNX 投与に起因する異常はみられなかった。

6) 血液生化学的検査

雄の 50 mg/kg 以上の群に A/G 比の増加, 100 mg/kg 以上の群に PL, T-Cho および Na の増加, 200 mg/kg 以上の群に ALP の増加, 400 mg/kg 群に TG, 総蛋白および K の減少がみられた。蛋白分画では, 50 mg/kg 以上の群に γ -グロブリン分画の減少, 100 mg/kg 以上の群に α_2 -グロブリン分画の増加, 200 mg/kg 以上の群に α_1 -グロブリン分画の減少がみられた。雌では 100 mg/kg 以上の群に A/G 比および Na の増加, 200 mg/kg 以上の群に PL および T-Cho の増加, 400 mg/kg 以上の群に ALP の増加ならびに総蛋白の減少, 800 mg/kg 群に Cl の増加, TG の減少がみられた。蛋白分画では, 100 mg/kg 以上の群に γ -グロブリン分画の減少, 400 mg/kg 以上の群にアルブミン分画の増加および 800 mg/kg 群に α_2 -グロブリン分画の増加がみられた。

7) 眼科的検査

いずれの群の動物にも異常はみられなかった。

8) 剖検時肉眼観察

剖検時肉眼観察の結果を Table 1 に示す。

GRNX 投与各群の雌雄 (5/10~10/10 例) に盲腸腔の拡張が, 雌の 400 mg/kg 群 (1/10 例) および 800 mg/kg 群 (2/10 例) の大腿骨近位端の関節軟骨表面に水疱がみられた。

9) 器官重量

GRNX 投与各群の雌雄で盲腸重量および重量体重比

の増加がみられた。また、雄の 200 mg/kg 以上の群で心臓重量の減少、400 mg/kg 群で唾液腺重量の減少、雌の 400 mg/kg 以上の群で唾液腺重量の減少、800 mg/kg 群で心臓重量の減少がみられた。

10) 病理組織学的検査

Table 2 A に肝臓の、Table 2 B に関節の病理組織学的検査結果を示す。

肝細胞の脂肪滴沈着が、雄の 100 mg/kg 群 (3/10 例)、200 mg/kg 群 (4/10 例) および 400 mg/kg 群 (9/10 例) ならびに雌の 800 mg/kg 群 (4/10 例) にみられた。また、雌の 400 mg/kg 群 (1/10 例) および 800 mg/kg 群 (2/10 例) の大腿骨近位端関節軟骨に空洞形成、軟骨基質の粗鬆化、巨細胞様軟骨細胞塊および軟骨細胞の変性がみられた。

その他の器官および組織には GRNX 投与に起因する異常はみられなかった。

2. 休薬期間中および休薬期間終了時の検査

剖検時肉眼観察で、雌の 800 mg/kg 群 (2/6 例) の大腿骨遠位端の関節軟骨表面に水疱がみられた。病理組織学的検査では雄の 400 mg/kg 群 (1/6 例) および雌の 800 mg/kg 群 (2/6 例) の大腿骨遠位端の関節軟骨に限局性の軟骨層肥厚、軟骨層深層の裂隙、限局性の軟骨下骨の変性または線維組織の増生がみられ、雄の 400 mg/kg 群 (2/6 例) では肩関節の肩甲骨関節窩に軟骨層深層の裂隙がみられた。これらの障害像は投与期間終了時の変化とは異なり、骨軟骨症であった。投与期間終了時にみられた肝細胞の脂肪滴沈着については、回復傾向がみられた。

一般状態、体重、摂水量、尿検査、血液生化学的検査および器官重量において投与期間中および投与期間終了時にみられた変化は、いずれも回復するかまたは回復傾向がみられた。

3. 血漿中薬物濃度測定

TK パラメーターを Table 3 に、初回投与後の血中濃度推移を Fig. 1 に示す。

C_{max} および AUC_{0-∞}ともに投与量の増加に応じて増加がみられた。初回投与時に比べ、1.5 カ月間 (44 回) 投与後の AUC_{0-∞}は雄では 1.2~1.6 倍、雌では 1.4~2.1 倍であった。3 カ月間 (92 回) 反復投与後の AUC_{0-∞}は 1.5 カ月間投与後と同程度であった。また、血漿中濃度には性差がみられ、雌の AUC_{0-∞}は雄の約 1/4~1/3 であった。

III. 考 察

GRNX を雌雄のラットに 3 カ月間反復経口投与し (雄 50, 100, 200, 400 mg/kg, 雌 100, 200, 400, 800 mg/kg), その毒性変化を調べるとともに、1 カ月間の休薬による回復性についても調べた。

フルオロキノロン系抗菌薬の主な副作用として、肝臓、関節、中枢神経系、膵臓および消化管に対する影響が知られている^{4,5)}。

Table 2 A. Histopathological examination in rats administered GRNX orally for 3 months

Histopathological findings	Dose (mg/kg)		Control (0.5% MC)		50		100		200		400		800	
	Sex	Number of animals	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female
End of administration														
Number of animals			10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Liver														
hemorrhage, portal-periportal area			-(9)±(1)	-(10)	-(10)	-(10)	-(10)	-(10)	-(10)	-(10)	-(10)	-(10)	-(10)	-(10)
deposition, lipid droplet			-(9)±(1)	-(10)	-(10)	-(7)±(2)+ (1)	-(6)±(3)+ (1)	-(6)±(3)+ (1)	-(10)	-(10)	-(1)±(2)+ (4)+ (3)	-(10)	-(10)	-(6)±(3)+ (1)
pigmented cells, portal area, focal			-(10)	-(10)	-(10)	-(10)	-(10)	-(10)	-(9)±(1)	-(10)	-(10)	-(10)	-(10)	-(10)
End of recovery														
Number of animals			6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
Liver														
hemorrhage, portal-periportal area			-(6)	-(6)	-(6)	-(6)	-(6)	-(6)	-(6)	-(6)	-(6)	-(6)	-(6)	-(6)
deposition, lipid droplet,			-(6)	-(6)	-(6)	-(2)±(4)	-(3)±(2)+ (1)	-(3)±(2)+ (1)	-(5)±(1)	-(6)	-(6)	-(6)	-(6)	-(6)
pigmented cells, portal area, focal			-(6)	-(6)	-(6)	-(6)	-(6)	-(6)	-(6)	-(6)	-(6)	-(6)	-(6)	-(6)

Histological grade: -, Not remarkable; ±, Minimum; +, Slight; ++, Moderate.

Table 2 B. Histopathological examination in rats administered GRNX orally for 3 months

Histopathological findings	Dose (mg/kg)	Control (0.5% MC)		200	400		800
		Sex	Male	Female	Female	Male	Female
End of administration							
Number of animals		10	10	10	10	10	10
Shoulder							
Scapular fossa							
fissure, deep layer of cartilage		- (10)	- (10)	- (10)	- (10)	- (10)	- (10)
degeneration, matrix, focal		- (10)	- (9) ± (1)	- (9) ± (1)	- (10)	- (10)	- (10)
Humerus (P)		- (10)	- (10)	- (10)	- (10)	- (10)	- (10)
Elbow							
Humerus (D)							
degeneration, matrix, focal		- (9) ± (1)	- (9) ± (1)	- (10)	- (10)	- (9) ± (1)	- (10)
Ulna (D)							
degeneration, matrix, focal		- (10)	- (10)	- (10)	- (10)	- (9) ± (1)	- (9) ± (1)
Radius (P)							
degeneration, matrix, focal		- (10)	- (10)	- (10)	- (10)	- (10)	- (10)
Hip							
Acetabular fossa		- (10)	- (10)	- (10)	- (10)	- (10)	- (10)
Femur (P)							
cavitation		- (10)	- (10)	- (10)	- (10)	- (9) + (1)	- (9) ± (1)
rarefaction, matrix		- (10)	- (10)	- (10)	- (10)	- (9) + (1)	- (8) + (2)
cluster of chondrocyte		- (10)	- (10)	- (10)	- (10)	- (9) + (1)	- (9) ± (1)
degeneration, chondrocytes		- (10)	- (10)	- (10)	- (10)	- (9) + (1)	- (8) + (2)
degeneration, matrix, focal		- (10)	- (10)	- (9) ± (1)	- (9) ± (1)	- (10)	- (10)
Knee							
Femur (D)							
degeneration, matrix, focal		- (9) ± (1)	- (9) ± (1)	- (10)	- (9) ± (1)	- (10)	- (9) ± (1)
thickening, cartilage layer, focal		- (10)	- (10)	- (10)	- (10)	- (10)	- (10)
fissure, deep layer of cartilage		- (10)	- (10)	- (10)	- (10)	- (10)	- (10)
degeneration, subchondral bone, focal		- (10)	- (10)	- (10)	- (10)	- (10)	- (10)
proliferation, fibrous tissue		- (10)	- (10)	- (10)	- (10)	- (10)	- (10)
Tibia (P)							
degeneration, matrix, focal		- (10)	- (10)	- (10)	- (7) ± (3)	- (10)	- (10)
fissure, deep layer of cartilage		- (10)	- (10)	- (10)	- (10)	- (10)	- (10)
End of recovery							
Number of animals		6	6	6	6	6	6
Shoulder							
Scapular fossa							
fissure, deep layer of cartilage		- (6)	- (6)	- (6)	- (4) + (2)	- (6)	- (6)
degeneration, matrix, focal		- (6)	- (6)	- (6)	- (6)	- (6)	- (6)
Humerus (P)		- (6)	- (6)	- (6)	- (6)	- (6)	- (6)
Elbow							
Humerus (D)							
degeneration, matrix, focal		- (5) + (1)	- (6)	- (6)	- (5) ± (1)	- (6)	- (5) ± (1)
Ulna (D)							
degeneration, matrix, focal		- (6)	- (6)	- (6)	- (6)	- (6)	- (6)
Radius (P)							
degeneration, matrix, focal		- (6)	- (6)	- (6)	- (6)	- (5) ± (1)	- (5) ± (1)
Hip							
Acetabular fossa		- (6)	- (6)	- (6)	- (6)	- (6)	- (6)
Femur (P)							
cavitation		- (6)	- (6)	- (6)	- (6)	- (6)	- (6)
rarefaction, matrix		- (6)	- (6)	- (6)	- (6)	- (6)	- (6)
cluster of chondrocyte		- (6)	- (6)	- (6)	- (6)	- (6)	- (6)
degeneration, chondrocytes		- (6)	- (6)	- (6)	- (6)	- (6)	- (6)
degeneration, matrix, focal		- (5) ± (1)	- (6)	- (4) ± (2)	- (5) + (1)	- (6)	- (6)
Knee							
Femur (D)							
degeneration, matrix, focal		- (6)	- (5) ± (1)	- (4) ± (2)	- (5) ± (1)	- (6)	- (6)
thickening, cartilage layer, focal		- (6)	- (6)	- (6)	- (5) + (1)	- (6)	- (5) + (1)
fissure, deep layer of cartilage		- (6)	- (6)	- (6)	- (5) + (1)	- (6)	- (4) + (2)
degeneration, subchondral bone, focal		- (6)	- (6)	- (6)	- (5) + (1)	- (6)	- (5) + (1)
proliferation, fibrous tissue		- (6)	- (6)	- (6)	- (6)	- (6)	- (5) + (1)
Tibia (P)							
degeneration, matrix, focal		- (5) ± (1)	- (4) ± (2)	- (6)	- (6)	- (6)	- (5) + (1)
fissure, deep layer of cartilage		- (6)	- (6)	- (6)	- (5) + (1)	- (6)	- (6)

P: Proximal portion. D: Distal portion.

Histological grade: -, Not remarkable; ±, Minimum; +, Slight.

Table 3. Toxicokinetics parameters of GRNX in rats

Sex	Times of administration	Dose (mg/kg)	AUC _{0-∞} (μg · h/mL)	T1/2 (h)	Tmax (h)	Cmax (μg/mL)
Male	1st	50	39.0	3.47	1	5.05
		100	66.9	3.90	1	7.76
		200	132	3.56	2	14.3
		400	268	3.75	2	20.4
	44th	50	62.8	3.59	1	7.24
		100	102	3.62	0.25	19.2
		200	155	4.14	2	16.6
		400	316	5.26	2	28.4
	92nd	50	53.3	4.62	0.25	12.7
		100	116	4.06	1	13.8
		200	213	5.35	0.25	28.0
		400	337	6.23	0.25	26.7
Female	1st	100	18.4	2.19	0.5	4.77
		200	35.4	3.03	0.5	11.1
		400	59.0	2.24	0.5	16.7
		800	107	2.45	0.5	16.9
	44th	100	35.6	16.5	0.5	12.1
		200	48.3	7.65	0.167	16.7
		400	117	8.53	0.5	32.4
		800	223	7.25	0.5	36.0
	92nd	100	28.7	4.90	0.5	11.3
		200	49.7	4.03	0.5	18.1
		400	99.9	4.47	0.5	21.1
		800	186	7.02	0.5	26.9

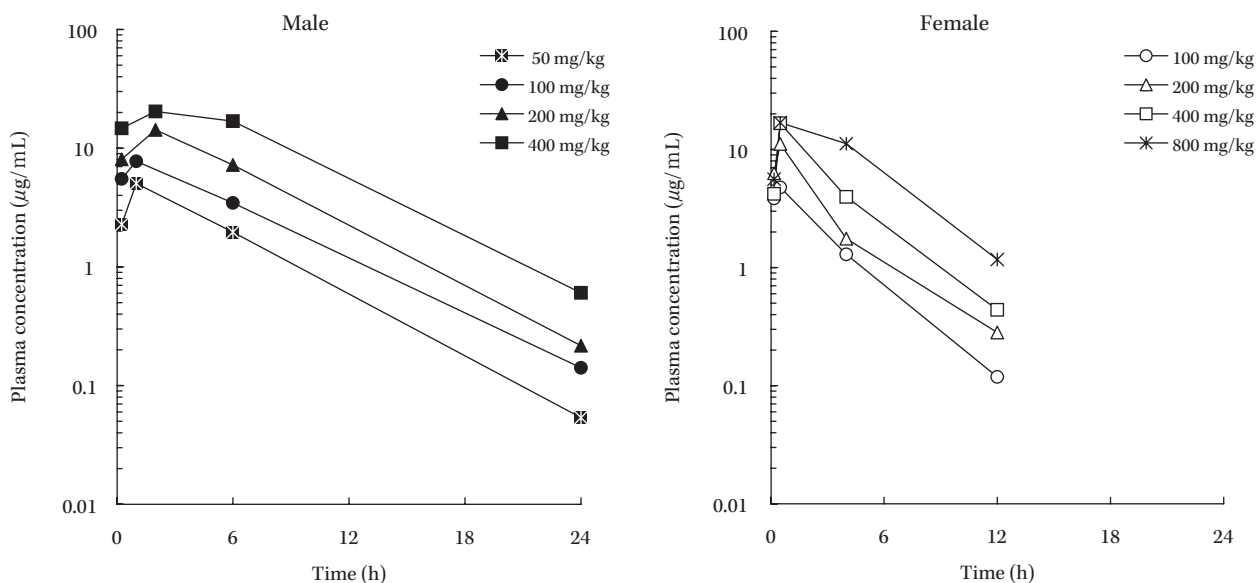


Fig. 1. Plasma concentration of GRNX in rats after the first oral administration.

本試験では、GRNXの肝臓に対する影響として、雄の200 mg/kg以上および雌の400 mg/kg以上の群でALPの増加、雄の400 mg/kg群および雌の800 mg/kg群でTGの減少、雄の100 mg/kg以上の群および雌の800 mg/kg群で肝細胞の脂肪滴沈着がみられた。しかしながら、ラットにおけるALPの増加はlomefloxacin (LFLX)⁶⁾の100 mg/kg以上(13週間反復経口投与試験)

およびofloxacin (OFLX)⁷⁾の810 mg/kg(4週間反復経口投与試験)で、TGの減少はgatifloxacin (GFLX)⁸⁾の270 mg/kg以上(4週間反復経口投与試験)および240 mg/kg(26週間反復経口投与試験)ならびにfloxacin⁹⁾の45 mg/kg以上(13週間反復経口投与試験)で、肝細胞の脂肪滴沈着はLFLX⁶⁾の300 mg/kg以上(13週間反復経口投与試験)ならびにGFLX⁸⁾の810 mg/kg(4週間反復経

口投与試験)および60 mg/kg以上(26週間反復経口投与試験)でみられ、GRNXに特有の変化ではなかった。

フルオロキノロン系抗菌薬である trovafloxacin では、イヌの6カ月間反復経口投与試験において50 mg/kgでALT、ALPおよび γ -グルタミルトランスペプチダーゼの増加、肝細胞の空胞変性および壊死、架橋性線維化ならびに炎症性変化がみられたと報告されている^{10,11)}。また、moxifloxacin (MFLX)では、アカゲザルでASTおよびALTの増加ならびに肝細胞の単細胞壊死および空胞化が250/150 mg/kg(投与23日より150 mg/kgに減量、4週間反復経口投与試験)に、イヌではALTの増加が90 mg/kg(4週間反復経口投与試験)に、ラットでは500 mg/kg以上(13週間反復経口投与試験)でASTおよびALTの増加がみられたと報告されている¹²⁾。

GRNXのイヌ1カ月間反復経口投与試験では、25 mg/kg以上で一過性のALTの軽度増加がみられたが(未発表データ)、イヌ6カ月間反復経口投与試験では、高用量の50 mg/kgでGRNXは肝障害作用を示さず(未発表データ)、カニクイザル3カ月間反復経口投与試験では、100 mg/kgでも肝臓に対する影響はみられなかった¹³⁾。また、本試験ではMFLXでラットにおいて500 mg/kg以上でみられたASTおよびALTの増加はみられなかった。さらに、チトクロムP450(CYP)3A4, CYP2C9, CYP2C19またはCYP2D6を発現させた不死化ヒト肝細胞(Tc5)に対するGRNXの細胞毒性を2~158 μ g/mLの範囲で調べたが、50%細胞増殖抑制はいずれも158 μ g/mL以上であった(未発表データ)。これらのことから、GRNXの肝障害作用は市販のフルオロキノロン系抗菌薬と比較して同等かあるいは弱いと考えられた。

関節に対する影響として、雌の400および800 mg/kg群の関節軟骨にごく軽度あるいは軽度の空洞形成、軟骨基質の粗鬆化、巨細胞様軟骨細胞塊および軟骨細胞の変性ならびに骨軟骨症がみられた。同様の関節軟骨障害はフルオロキノロン系抗菌薬のラット反復投与毒性試験でもみられている^{6~9,12,14)}。なお、フルオロキノロン系抗菌薬の関節軟骨障害に対して最も感受性が高いと考えられている幼若イヌを用いた比較では、ciprofloxacin (CPFX)およびnorfloxacin (NFLX)に比べてGRNXの関節軟骨障害作用は明らかに弱く¹⁵⁾、また、幼若ラットに600 mg/kgを5日間反復経口投与して関節軟骨に対する影響を調べた試験では、OFLXで障害像がみられたが、GRNXではみられなかったことが報告されている¹⁶⁾。

中枢神経系に対する影響として、ラットではLFLXの1,000 mg/kg(13週間反復経口投与試験)およびOFLXの270 mg/kg以上(4週間反復経口投与試験)で痙攣あるいは流涎などがみられているが^{6,7)}、本試験では中枢神経系に対する影響はみられなかった。なお、GRNXのマウス脳室内および静脈内投与による痙攣誘発作用を

調べたところ、NFLXおよびCPFXに比べて痙攣誘発作用は弱いことが確認されている¹⁷⁾。

脾臓に対する影響として、ラットではLFLXの1,000 mg/kg(13週間反復経口投与試験)ならびにGFLXの810 mg/kg(4週間反復経口投与試験)および30 mg/kg以上(26週間反復経口投与試験)で脾 β 細胞の空胞変性がみられているが^{6,8)}、本試験では血糖値に異常はみられず、ランゲルハンス氏島を含む膵組織にも形態学的な変化は認められなかった。

消化管に対する影響として、GRNX投与群に軟便、盲腸腔の拡張(重量の増加)および血液生化学値の変動(PL, T-Cho, 総蛋白, A/G比, Na, K, Clおよび蛋白分画の変動)がみられた。また、摂水量の増加および摂水量の増加に伴うと考えられる尿量の増加および尿比重の低下がみられた。同様の変化はフルオロキノロン系抗菌薬やセフェム系抗生物質でも報告されており^{6~9,12,14,18)}、抗菌作用による腸内細菌叢の変動に起因するものと考えられた。

TK測定の結果では、雌雄ともに用量に応じた全身曝露がみられた。血漿中濃度には性差がみられたが、¹⁴C GRNXの投与において放射能の胆汁中および尿中の排泄率は雌雄で同様の値であったことから、曝露量の性差の原因の一つとして代謝の違いが示唆されている¹⁹⁾。なお、性差はラットだけにみられ、他の動物(イヌ、カニクイザル)およびヒトではみられなかった。

以上、GRNXのラット3カ月間反復経口投与毒性試験(雄:50, 100, 200, 400 mg/kg, 雌:100, 200, 400, 800 mg/kg)では、肝臓、関節および消化管(軟便、盲腸腔拡張)に対する影響が認められたが、いずれも他のフルオロキノロン系抗菌薬と同様の変化であり、GRNXに特有の変化および強く認められた変化はなかった。

文 献

- 1) Takahata M, Mitsuyama J, Yamashiro Y, Yonezawa M, Araki H, Todo Y, et al: *In vitro* and *in vivo* antimicrobial activities of T-3811 ME, a novel des-F(6)-quinolone. *Antimicrob Agents Chemother* 1999; 43: 1077-84
- 2) Fung-Tomc J C, Minassian B, Kolek B, Huczko E, Aleksunes L, Stickle T, et al: Antibacterial spectrum of a novel des-fluoro (6) quinolone, BMS-284756. *Antimicrob Agents Chemother* 2000; 44: 3351-6
- 3) Hayakawa H, Fukushima Y, Kato H, Fukumoto H, Kadota T, Yamamoto H, et al: Metabolism and disposition of novel des-fluoro quinolone garenoxacin in experimental animals and an interspecies scaling of pharmacokinetic parameters. *Drug Metab Dispos* 2003; 31: 1409-18
- 4) Stahlmann R, Lode H: Safety overview. *In* Andriole VT (ed.), *The quinolones*, 3rd edition. Academic Press, San Diego, 2000; p.397-453
- 5) 坂本光男, 柴 孝也: 3. 安全性と副作用. 小林宏行編, ニューキノロン剤の臨床応用, 医薬ジャーナル,

- 東京, 2001; 156-76
- 6) 野村岳之, 渡辺満利, 河上喜之, 平田真理子, 鈴木修三, 柳田知司: NY-198 のラット 13 週間経口投与亜急性毒性試験。Chemotherapy 1988; 36(Suppl 2): 343-70
 - 7) 小野寺威, 稲毛富士郎, 吉田貢由, 加藤道幸, 山田明甫: 合成抗菌剤 DL-8280 のラットにおける 4 週間経口亜急性毒性。Chemotherapy 1984; 32(Suppl 1): 1091-104
 - 8) 製造承認申請資料概要, ガチフロキサシン及びガチフロ錠 100 mg に関する資料, ニ, 毒性。2002; 166-233
 - 9) 今井 繁, 野本恭之, 笠井正博, 大竹正二, 棚瀬裕文, 吉田安彦: 新キノロン系抗菌剤 Fleroxacin のラットにおける経口投与による亜急性毒性試験。Chemotherapy 1990; 38(Suppl 2): 145-74
 - 10) U.S. Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research. TROVAN (trovafloxacin) Summary Basis of Approval. Pharmacologist's Review of NDA 20759/20760, 1997
 - 11) Peters T S: Do preclinical testing strategies help predict human hepatotoxic potentials? Toxicol Pathol 2005; 33: 146-54
 - 12) 製造承認申請資料概要, アベロックス錠 400 mg に関する資料, ニ, 急性毒性, 亜急性毒性, 慢性毒性, 催奇形性, その他の毒性に関する資料。2005; ニ 1-ニ 95
 - 13) 木澤和夫, 福本博之, 三善隆広, 角崎英志, 藤堂洋三: Garenoxacin のカニクイザルにおける 3 ヶ月間反復経口投与毒性試験。日治療誌 2007; 55(Suppl 1)
 - 14) 加藤道幸, 大野広志, 吉田貢由, 山田明甫, 小野寺威: 合成抗菌剤 DL-8280 のラットにおける 26 週間経口慢性毒性。Chemotherapy 1984; 32(Suppl 1): 1122-41
 - 15) Nagai A, Miyazaki M, Morita T, Furubo S, Kizawa K, Fukumoto H, et al: Comparative articular toxicity of garenoxacin, a novel quinolone antimicrobial agent, in juvenile beagle dogs. J Toxicol Sci 2002; 27: 219-28
 - 16) Kappel E M, Shakibaei M, Bello A, Stahlmann R: Effects of the des-F(6)-quinolone garenoxacin (BMS-284756), in comparison to those of ciprofloxacin and ofloxacin, on joint cartilage in immature rats. Antimicrob Agents Chemother 2002; 46: 3320-2
 - 17) Nakamura T, Fukuda H, Morita Y, Soumi K, Kawamura Y: Pharmacological evaluation of garenoxacin, a novel des-F(6)-quinolone antimicrobial agent: effects on the central nervous system. J Toxicol Sci 2003; 28: 35-45
 - 18) 小林文彦, 矢原 功, 吉崎敏夫, 村岡義博: Cephem 系抗生物質 7432-S (Ceftibuten) のラットにおける 1 ヶ月亜急性毒性試験。Chemotherapy 1989; 37 (Suppl 1): 816-32
 - 19) 加藤 寛, 早川大善, 福島容子, 門田卓美, 福本博之, 藤堂洋三: Garenoxacin の各種動物における体内動態。日治療誌 2007; 55(Suppl 1)

Three-month repeated oral dose toxicity study of garenoxacin in rats

Mineko Nagasawa, Rie Fukui, Kazuo Kizawa, Nobuko Kito,
Hiroyoshi Hayakawa, Takahiro Sanzen and Yozo Todo

Research Laboratories, Toyama Chemical Co., Ltd., 2-4-1 Shimookui, Toyama, Japan

Garenoxacin mesilate hydrate (GRNX) was administered to male (50, 100, 200 and 400 mg/kg) and female (100, 200, 400 and 800 mg/kg) SD rats orally for 3 months, and toxicity was assessed. Reversibility of toxic changes was also assessed in males receiving 200 and 400 mg/kg, and females receiving 400 and 800 mg/kg following 1-month withdrawal. In males, deposition of lipid droplets in hepatocytes was seen at doses of 100 mg/kg and above; suppression of body weight gain, an increase in alkaline phosphatase, and a decrease in heart weight were seen at doses of 200 mg/kg and above; and decreases in triglyceride and salivary glands weight were seen at dose of 400 mg/kg. In females, an increase in alkaline phosphatase, a decrease in salivary glands weight, and lesions in the articular cartilage were seen at doses of 400 mg/kg and above; and decreases in triglyceride and heart weight, and deposition of lipid droplets in hepatocytes were seen at dose of 800 mg/kg. At the end of recovery, osteochondrosis in the articular cartilage was seen in males receiving 400 mg/kg and females receiving 800 mg/kg. As other changes, changes (soft feces and dilatation in cecal lumen, etc.) attributed to change in intestinal bacterial flora due to the antibacterial activity of GRNX were seen in each group.

From the above, no observable adverse effect level was estimated at 50 mg/kg for males and 200 mg/kg for females. In toxicokinetics, a sex difference was seen in plasma concentration, and $AUC_{0-\infty}$ in females was about one-fourth to one-third of that in males.

All of these changes were also seen in repeated dose toxicity studies of fluoroquinolone antimicrobial agents, and no peculiar changes in GRNX were seen.