

オゼックス細粒小児用15%

2.4 非臨床に関する概括評価

富山化学工業株式会社

【目次】

2.4 非臨床に関する概括評価	
1. 非臨床試験計画概略	3
1.1 薬理試験	4
1.1.1 効力を裏付ける試験	4
1.1.2 副次的及び安全性薬理試験並びに薬力学的薬物相互作用試験	5
1.2 薬物動態試験	5
1.3 毒性試験	5
2. 薬理試験	5
2.1 効力を裏付ける試験	5
2.2 副次的及び安全性薬理試験並びに薬力学的薬物相互作用試験	7
3. 薬物動態試験	7
4. 毒性試験	8
4.1 幼若動物における単回及び反復投与毒性試験	8
4.2 イヌにおける血糖及び血中インスリン濃度に及ぼす影響	8
4.3 T-3262錠の承認申請時に実施した毒性試験の概要	8
5. 総括及び結論	10
5.1 臨床での有効性に対する期待	10
5.2 臨床での安全使用に関する考察	11
5.2.1 クラス・エフェクト	11
5.2.1.1 関節に対する影響	11
5.2.1.2 中枢神経系に対する影響	12
5.2.1.3 消化管に対する影響	12
5.2.1.4 血糖(膵臓)に対する影響	13
5.2.1.5 心血管系に対する影響	13
5.2.1.6 腎臓に対する影響	13
5.2.1.7 肝臓に対する影響	13
6. 参考文献一覧	14

略号表は「2.1 目次」のあとに添付した。

1. 非臨床試験計画概略

近年、小児における呼吸器及び耳鼻咽喉科領域感染症の主要な原因菌である *Streptococcus pneumoniae*、*Haemophilus influenzae* 及び *Moraxella catarrhalis* において耐性菌の増加が問題となってきており、これら原因菌に有効で安全性の高い薬剤の開発が要望されている。フルオロキノロン系抗菌薬は広い抗菌スペクトルを有し、上記原因菌に対しても強い抗菌活性を示すことから、小児への適応が期待されているが、幼若動物において関節障害がみられたことから、これまで小児への使用は禁忌とされてきた。唯一、小児の適応を取得しているものにノルフロキサシンがあるが、耐性菌が問題となっている中耳炎及び肺炎には適応がなく、また錠剤であるため医療現場の要望を満たすものではない。

トスフロキサシントシル酸塩水和物は上記原因菌に対して強い抗菌活性を有し、経口用錠剤 (T-3262 錠) として承認 (平成 2 年 1 月 (1990 年 1 月)) を取得し、発売後 6 年間の再審査期間を終了し、有効性及び安全性が充分確認されている。また、呼吸器感染症学会の治療ガイドラインでは肺炎球菌性肺炎治療の推奨薬とされていること、T-3262 錠市販後調査では 16 歳未満の小児の使用例における副作用・頻度は成人とほぼ同様であったこと、及び幼若動物を用いた関節毒性試験においてその作用が既存のフルオロキノロン系抗菌薬と同等もしくは弱いという結果が得られていることなどから、同有効成分の小児用製剤の開発を目的として、以下の非臨床試験を実施した。

なお、本剤は T-3262 錠の承認申請時に単回投与毒性試験、反復投与毒性試験、遺伝毒性試験、生殖発生毒性試験、抗原性試験、光毒性及び光アレルギー性試験、細胞毒性試験並びにその他の毒性試験 (幼若動物を用いた関節毒性試験、肝・腎毒性試験及び眼毒性試験)、薬理作用、吸収・分布・代謝・排泄等の非臨床試験 (CTD1.13 の T-3262 錠承認時概要参照) が既に実施されていることから、今回、小児用製剤として開発するにあたり、以下に示す薬理試験、薬物動態試験及び毒性試験を新たに追加実施した。開発の経緯図を図 2.4-1 に示す。

2.4 非臨床に関する概括評価

CTD 番号	CTD 区分	試験名	平成 年 (20 年) ~ 平成 年 * (20 年)
3.2.P	製剤	処方検討	[Redacted]
		規格及び試験方法	
		安定性試験	
4.2.1	薬理試験	小児由来臨床分離株に対する抗菌活性	
		生育曲線に及ぼす影響	
		自然耐性菌出現頻度	
		試験管内耐性獲得	
	Mutant prevention concentration (MPC) の測定		
	マウス実験的肺炎モデルに対する治療効果		
	安全性薬理試験	イヌ血圧, 心拍数及び心電図に及ぼす影響	
hERG 電流に及ぼす影響			
4.2.3	毒性試験	幼若ラット単回経口投与毒性	
		幼若ラット 1 カ月間反復経口投与毒性	
		幼若イヌ 1 カ月間反復経口投与毒性	
		イヌ血糖及びインスリンに及ぼす影響	

■ : 実施期間 (製剤: [Redacted] ~ [Redacted]), (薬理試験: [Redacted] ~ [Redacted] 又は [Redacted]), (安全性薬理試験 (GLP 適合試験): [Redacted] ~ [Redacted]), (毒性試験 (GLP 適合試験): [Redacted] ~ [Redacted])

図2.4- 1 開発の経緯図

1.1 薬理試験

1.1.1 効力を裏付ける試験

本剤の効力を更に詳細に検討するため, 1) 小児由来 *Streptococcus pneumoniae* に対する抗菌活性 (2.6.2.2.2.1 参照), 2) 小児由来 *Haemophilus influenzae* に対する抗菌活性 (2.6.2.2.2.2 参照), 3) 小児由来 *Moraxella catarrhalis* に対する抗菌活性 (2.6.2.2.2.3 参照), 4) 臨床第相試験で分離された原因菌に対する抗菌活性 (2.6.2.2.2.4 参照), 5) 生育曲線に及ぼす影響 (2.6.2.2.2.6 参照), 6) 自然耐性菌出現頻度 (2.6.2.2.2.7 参照), 7) 試験管内耐性獲得 (2.6.2.2.2.8 参照), 8) mutant prevention concentration (2.6.2.2.2.9 参照), 9) マウス実験肺炎モデルに対する治療効果 (2.6.2.2.2.10 参照) を検討した。

* 新薬承認情報提供時に置き換え

1.1.2 副次的及び安全性薬理試験並びに薬力学的薬物相互作用試験

本剤の心電図QT間隔に及ぼす影響を検討するため、心血管系に対する作用について安全性薬理試験（覚醒イヌの血圧、心拍数及び心電図に及ぼす影響並びにhERG電流に及ぼす影響、2.6.2.4 参照）を実施した。試験は「医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準に関する省令」[平成9年（1997年）3月26日、厚生省令第21号]を遵守し、「安全性薬理試験ガイドラインについて」[平成13年（2001年）6月21日、医薬審発第902号]に準拠して実施した。

1.2 薬物動態試験

トキシコキネティクス試験成績を用いて、イヌ（12ヵ月齢前後、T-3262錠承認時概要）及び幼若イヌの体内動態を比較検討（2.6.4.3.1 参照）した。

1.3 毒性試験

幼若動物に対する安全性評価として、1) 幼若ラットを用いた単回投与毒性試験（2.6.6.2.1参照）、2) 幼若ラット及び幼若イヌを用いた1ヵ月間反復投与毒性試験（2.6.6.3.1.1及び2.6.6.3.2.2参照）を実施した。また、フルオロキノロン系抗菌薬のクラス・エフェクトとして血糖に及ぼす影響が知られていることから、3) イヌにおける血糖及び血中インスリン濃度に及ぼす影響（2.6.6.8.1参照）を検討した。

いずれの試験も、「医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準に関する省令」[平成9年（1997年）3月26日、厚生省令第21号]を遵守し、「医薬品の製造（輸入）承認申請に必要な毒性試験のガイドラインについて」[平成元年（1989年）9月11日、薬審1第24号]、「単回及び反復投与毒性試験ガイドラインの改正について」[平成5年（1993年）8月10日、薬新薬第88号]、「反復投与毒性試験に係るガイドラインの一部改正について」[平成11年（1999年）4月5日、医薬審第655号]及び「トキシコキネティクス（毒性試験における全身的暴露の評価）に関するガイダンスについて」[平成8年（1996年）7月2日薬審第443号]に準拠して実施した。また、複数場所試験は、「OECD Principles of Good Laboratory Practice」(as revised in 1997)を準用して実施した。

2. 薬理試験

2.1 効力を裏付ける試験

トスフロキサシントシル酸塩水和物の活性本体であるトスフロキサシンの *in vitro* 及び *in vivo* 抗菌活性を、主に類薬であるフルオロキノロン系抗菌薬及び小児適用を有する各種β-ラクタム系抗菌薬を対照薬として検討した。

トスフロキサシンは *Bacillus anthracis* を含む各種グラム陽性菌、グラム陰性菌並びに偏性嫌気性菌、更に *Chlamydophila pneumoniae*、*Chlamydia trachomatis*、*Mycoplasma pneumoniae* 及び *Legionella* spp. に対し、幅広い抗菌スペクトルを示した（2.6.2.2.1 参照）^{1, 2)}。

小児における肺炎及び中耳炎の主要原因菌であり、近年 penicillin-resistant *S. pneumoniae* (PRSP) や β-lactamase-negative ampicillin-resistant *H. influenzae* (BLNAR)、β-lactamase 産生菌などの耐性菌の増加が問題となっている *S. pneumoniae*、*H. influenzae* 及び *M. catarrhalis* に対するトスフロキサシンの抗菌活性を測定した。

20■年～20■年に分離された小児由来の penicillin-susceptible *S. pneumoniae* (PSSP)、penicillin-intermediate *S. pneumoniae* (PISP) 及び PRSP に対するトスフロキサシンの MIC₉₀ はいずれも 0.25 µg/mL であり、類薬であるレボフロキサシン、シプロフロキサシン及びノ

ルフロキサシンの 1/4 ~ 1/64, β -ラクタム系抗菌薬のセフトレン, セフジニル及びセフカペンの 1/2 ~ 1/64 と強い抗菌活性を示した。PSSPに対するMIC₉₀はクラブラン酸/アモキシシリン (1:14)の4倍であったが, PISP及びPRSPではそれぞれ 1/4 及び 1/8 であり, トスフロキサシンは強い抗菌活性を示した (2.6.2.2.1 参照)。

20██年 ~ 20██年に分離された小児由来 β -lactamase-negative ampicillin-susceptible *Haemophilus influenzae* (BLNAS) 及びBLNARに対するトスフロキサシンのMIC₉₀はいずれも 0.0078 μ g/mLであり, 類薬であるレボフロキサシン, シプロフロキサシン及びノルフロキサシンと同程度 ~ 1/8 であり, β -ラクタム系抗菌薬のセフトレン, セフジニル及びセフカペンの 1/16 ~ 1/2048 と強い抗菌活性を示した。また, クラブラン酸/アモキシシリン (1:14) のそれぞれ 1/256 及び 1/2048 であった。 β -lactamase-positive ampicillin-resistant *H. influenzae* (BLPAR)及び β -lactamase-positive amoxicillin/clavulanic acid-resistant *H. influenzae* (BLPACR)に対するMIC rangeは, それぞれ, 0.0039 ~ 0.125 μ g/mL, 0.0039 ~ 0.0156 μ g/mL であり, 他のフルオロキノロン系抗菌薬と同程度 ~ 1/16 であり, β -ラクタム系抗菌薬のセフトレン, セフジニル及びセフカペンの 1/16 ~ 1/2048 であった (2.6.2.2.2 参照)。

20██年に分離された小児由来*Moraxella catarrhalis*に対するトスフロキサシンのMIC₉₀は 0.0156 μ g/mLであり, 類薬であるレボフロキサシン, シプロフロキサシン及びノルフロキサシンの 1/2 ~ 1/16, β -ラクタム系抗菌薬のセフトレン, セフジニル及びセフカペンの 1/32 ~ 1/64, クラブラン酸/アモキシシリン (1:14) の 1/32 と強い抗菌活性を示した (2.6.2.2.3 参照)。

臨床分離*Vibrio cholerae* O1 に対するトスフロキサシンのMIC₉₀は 0.05 μ g/mLで, シプロフロキサシンと同値で, オフロキサシンの 1/4 であった (2.6.2.2.3 参照)。

また, 本剤の臨床第 Ⅲ 相試験において分離された原因菌のうち, 分離株数の多かった *S. pneumoniae*, *H. influenzae*, *M. catarrhalis*に対するトスフロキサシンのMIC₉₀はそれぞれ, 0.12, 0.06 及び 0.06 μ g/mLで, レボフロキサシン及びノルフロキサシンと同程度 ~ 1/64, セフトレン及びセフカペンの 1/4 ~ 1/64, クラブラン酸/アモキシシリン (1:14) の 1/8 ~ 1/256 であった (2.6.2.2.4 参照)。

その他のグラム陽性菌及びグラム陰性菌の各種新鮮臨床分離株に対するトスフロキサシンのMIC₉₀はそれぞれ, 0.05 ~ >25 及び 0.78 ~ 12.5 μ g/mLであり, 各種新鮮臨床分離株に対し強い抗菌活性を示した (2.6.2.2.5 参照)¹⁾。

トスフロキサシンは, PRSP に対し 1 MIC (0.125 μ g/mL) 以上で, BLNAR に対して 2 MIC 以上 (0.0156 μ g/mL) で殺菌的作用を示した (2.6.2.2.6 参照)。

トスフロキサシンの 4 ~ 16 MIC 作用時における *S. pneumoniae* 及び *H. influenzae* の自然耐性菌出現頻度は, レボフロキサシンと同程度で (2.6.2.2.7 参照), さらに継代培養法での *S. pneumoniae* 及び *H. influenzae* に対するトスフロキサシンの試験管内耐性獲得の程度は, レボフロキサシンと同程度であった (2.6.2.2.8 参照)。

トスフロキサシンの *S. pneumoniae* 及び *H. influenzae* に対する mutant prevention concentration (MPC)は, 0.4 及び 0.07 μ g/mL であり, 他のフルオロキノロン系抗菌薬と同程度若しくは低かった (2.6.2.2.9 参照)。

トスフロキサシンは, *in vivo* において PRSP を用いたマウス実験肺炎モデルに対して, レボフロキサシン, アジスロマイシン及びセフカペンより強い治療効果を示した (2.6.2.2.10 参照)。

以上, トスフロキサシンは, 小児における肺炎及び中耳炎の主要な原因菌である *S.*

pneumoniae, *H. influenzae* 及び *M. catarrhalis*, 並びに *B. anthracis* 及び *V. cholerae* を含む各種細菌に対し、幅広い抗菌スペクトルと強い抗菌活性を示した。また、*in vivo* 試験においてもトスフロキサシンの *in vitro* 抗菌活性を反映し、PRSP によるマウス実験肺炎モデルに対して強い治療効果を示した。

2.2 副次的及び安全性薬理試験並びに薬力学的薬物相互作用試験

心血管系に対する作用の検討において、トスフロキサシントシル酸塩水和物は100 mg/kgまでの経口投与で覚醒イヌの血圧、心拍数及び心電図に影響を及ぼさなかった (2.6.2.4.1 参照)。hERG 電流に及ぼす影響の検討では、10及び20 µmol/L (溶解最大濃度) で約5%のわずかな抑制であった (2.6.2.4.2 参照)。

なお、T-3262錠の承認申請時に実施した一般薬理試験では、トスフロキサシントシル酸塩水和物の1000 mg/kgまでの経口投与で中枢神経系に対する作用はみられなかった。静脈内投与では10 mg/kg以上で脳液に中枢抑制を示す変化がみられた。呼吸・循環器系に対しては、3 mg/kg以上の静脈内投与で呼吸数増加、血圧低下、心拍数減少、心電図変化並びに後肢血流量の増加又は減少がみられた。その他の器官系では、300 mg/kg以上の経口投与で尿中Na⁺及びK⁺排泄の増加がみられ、1000 mg/kgで瞳孔縮小、胃排出抑制、胃液分泌量の減少並びに抗炎症作用がみられた。*In vitro*において、10 µg/mL以上で摘出回腸の収縮、摘出回腸のニコチン及び塩化バリウム収縮に対する抑制、摘出子宮運動の亢進がみられ、100 µg/mLで摘出回腸のアセチルコリン及びヒスタミン収縮に対する抑制、摘出平滑筋運動の亢進又は抑制、軽度の溶血作用並びに血小板凝集抑制がみられた。また、NSAID併用によるトスフロキサシントシル酸塩水和物の痙攣誘発作用及びγ-アミノ酪酸 (GABA) 受容体結合阻害作用は、対照のフルオロキノロン系抗菌薬 (エノキサシン、ノルフロキサシン、オフロキサシン) と比較して弱かった。(CTD1.13のT-3262錠承認時概要 参照)

3. 薬物動態試験

トスフロキサシントシル酸塩水和物の体内動態の年齢差を検討するため、トキシコキネティクス試験成績を用いて幼若イヌ及び12ヵ月齢前後のイヌにおける血中トスフロキサシン濃度を比較した。その結果、幼若イヌでの血中トスフロキサシン濃度は、初回投与時及び28日間反復投与時のいずれにおいても、12ヵ月齢前後のイヌと比較して低くなる傾向が認められた (2.6.4.3.1 参照)。

なお、T-3262錠の承認申請時に実施した薬物動態試験では、本剤の有効成分トスフロキサシントシル酸塩水和物の体内動態は以下の通りであった。

ヒト及びラットにおいて、血中トスフロキサシン濃度には用量相関性が認められた。また、摂食の影響が認められ、血中濃度は摂食後で高かった。さらに、ヒトでは反復投与による蓄積性は認められなかった。ラットを用いた吸収部位の検討において、トスフロキサシンの吸収率は小腸上部で高かった。マウス及びラットを用いた組織分布試験では、中枢神経系を除く多くの組織において放射能濃度が血中濃度以上であり、トスフロキサシンの組織移行性は良好であると考えられた。また、代謝及び排泄の検討において、T-3262A及びT-3262Bなどの代謝物が検出されたが、ヒト特異的な代謝物はなかった。なお、ヒトを含む各種動物での尿中主要成分は未変化体 (トスフロキサシン) であった。(CTD1.13のT-3262錠承認時概要 参照)

4. 毒性試験

トスフロキサシントシル酸塩水和物を小児用製剤として開発するにあたり、幼若動物に対する安全性を評価する必要があると判断し、幼若動物を用いた単回及び反復投与毒性試験を実施した。また、フルオロキノロン系抗菌薬のなかには、血糖に影響を及ぼすものがあることから、イヌを用いて血糖及び血中インスリン濃度に及ぼす影響を検討した。

4.1 幼若動物における単回及び反復投与毒性試験

幼若ラット（7日齢）単回経口投与毒性試験では、週齢差を比較するため、6週齢のラットにも同様に投与を行ったが、幼若ラット及び6週齢ラットともに、概略の致死量は7140 mg/kgを上回る量であった（2.6.6.2.1 参照）。

幼若ラット（7日齢）1ヵ月間反復経口投与毒性試験では、3000 mg/kgの雄1例が死亡した。生存例には体重増加抑制がみられたが、一過性の変化であり、投与期間終了時の体重には対照群との差はみられなかった。1000 mg/kg以上の雌雄で、腎臓の尿細管腔に結晶がみられたが、T-3262錠承認申請時に実施したラット（6週齢）の1ヵ月間反復経口投与毒性試験でも1000 mg/kg以上で腎尿細管腔に結晶がみられている。300 mg/kg以上では、本剤の抗菌活性に起因した腸内細菌叢の変化によるものと考えられる盲腸腔の拡張、盲腸重量及び盲腸重量体重比の増加がみられた（2.6.6.3.1.1 参照）。

幼若イヌ（3週齢）1ヵ月間反復経口投与毒性試験では、600 mg/kgで嘔吐の発現頻度の増加を示す例がみられたが、同様の変化はT-3262錠承認申請時に実施したイヌ（12ヵ月齢前後）の1ヵ月間反復経口投与毒性試験でもみられている。また、300及び600 mg/kgで体重増加抑制及び食欲の低下と、これに関連する血液生化学的検査値、器官重量の変化及び病理組織学的変化がみられたが、その他、本剤投与に起因する明らかな毒性変化は認められなかった（2.6.6.3.2.2 参照）。

以上の結果より、幼若動物で明らかな毒性の増強及び新たな毒性発現はないものと考えられた。

4.2 イヌにおける血糖及び血中インスリン濃度に及ぼす影響

イヌ（8～9ヵ月齢）にトスフロキサシントシル酸塩水和物を単回経口投与し、血糖及び血中インスリン濃度に及ぼす影響を検討した。100及び600 mg/kgで血糖及び血中インスリン濃度推移に影響はみられなかった（2.6.6.8.1 参照）。

4.3 T-3262錠の承認申請時に実施した毒性試験の概要

T-3262錠の承認申請時に実施した単回投与毒性試験、反復投与毒性試験、遺伝毒性試験、生殖発生毒性試験、抗原性試験、光毒性及び光アレルギー性試験、細胞毒性試験並びにその他の毒性試験（幼若動物を用いた関節毒性試験、肝・腎毒性試験及び眼毒性試験）の結果は以下の通りであった（CTD1.13のT-3262錠承認時概要 参照）。

1) 単回投与毒性試験

LD₅₀値は、マウス（6週齢）の経口、腹腔内及び皮下投与で雌雄ともに6000 mg/kgを上回る量、静脈内投与で雄が196 mg/kg、雌が247 mg/kg、ラット（6週齢）の経口、腹腔内及び皮下投与で雌雄ともに6000 mg/kgを上回る量、静脈内投与で雄が270 mg/kg、雌が300 mg/kgを上回る量、イヌ（11ヵ月齢）の経口投与で3000 mg/kgを上回る量であった。

2) 反復投与毒性試験

ラット (6週齢) 1ヵ月間経口投与試験 (300, 1000, 3000 mg/kg) では, 1000 mg/kg以上で腎尿細管腔の結晶, 尿細管拡張, 尿細管上皮の空胞変性, 壊死又は脱落, 再生上皮, 間質の細胞浸潤がみられ, 無毒性量は300 mg/kgであった。ラット (6週齢) 6ヵ月間経口投与試験 (80, 400, 2000 mg/kg)では, 400 mg/kg以上でA/G比増加, α_2 -及び β_2 -グロブリン比の減少, 腎尿細管腔の結晶析出, 間質細胞浸潤, 腎尿細管上皮の変性・壊死, 尿細管拡張がみられ, 無毒性量は80 mg/kgであった。また, ラット (6週齢) 2週間静脈内投与試験 (50 mg/kg) では, 好中球比減少, リンパ球比増加, α_2 -及び β_2 -グロブリン比の減少, 心臓及び精嚢重量の減少, 盲腸重量の増加, 腎尿細管の軽度拡張がみられた。

イヌ (12ヵ月齢前後) 1ヵ月間経口投与試験 (70, 200, 600 mg/kg)では, 70 mg/kg以上で嘔吐, 流涎, AST及びA/G比の増加がみられ, 無毒性量は70 mg/kg未満であった。イヌ (14ヶ月齢前後) 6ヵ月間経口投与試験 (25, 100, 400 mg/kg) では, 400 mg/kgで軽度体重減少, 総蛋白, 総コレステロール, トリグリセライド及びリン脂質の減少がみられ, 無毒性量は100 mg/kgであった。

なお, ラット (6週齢) 1ヵ月及び6ヵ月間経口投与試験では, それぞれ300 mg/kg以上及び80 mg/kg以上で, 本剤の抗菌活性に起因した腸内細菌叢の変化によるものと考えられる盲腸腔の拡張, 盲腸重量及び盲腸重量体重比の増加あるいは軟便がみられた。

3) 遺伝毒性試験

細菌を用いた復帰突然変異試験, 酵母を用いた体細胞組換え, 遺伝子変換及び復帰突然変異試験, 培養細胞を用いた染色体異常試験及び姉妹染色分体交換試験, マウスを用いた小核試験及び染色体異常試験並びに細菌及びマウスを用いた宿主経路試験の結果, いずれも陰性であった。

4) 生殖発生毒性試験

ラット妊娠前及び妊娠初期投与試験 (80, 500, 3000 mg/kg) では, 生殖能及び胎児に異常はみられなかった。

ラット器官形成期投与試験 (Seg. II) (80, 500, 3000 mg/kg) では, 妊娠, 分娩, 哺育に異常はみられなかった。胎児には500 mg/kg以上で冠状動脈口過剰, 3000 mg/kgで13肋骨の短小の出現率の増加がみられ, 出生児 (4日齢) には3000 mg/kgで13肋骨の短小の出現率が増加した。ラットSeg. IIの追加試験 (2000, 3000 mg/kg) では, 2000 mg/kg以上で胎児に13肋骨の短小の出現率が増加したが, 冠状動脈口過剰の出現率には対照群との差はみられなかった。日本白色種ウサギのSeg. II (5, 10, 20 mg/kg) では, 10 mg/kg以上で流産及び母体死亡数が増加し, 20 mg/kgで胎児死亡が増加した。ニュージーランドホワイト種ウサギのSeg. II (5, 10, 20 mg/kg) では, 5 mg/kg以上で母動物に体重減少, 流産及び死亡数の増加がみられた。胎児には10 mg/kg以上で死亡数の増加及び冠状動脈口過剰の出現率の増加がみられた。カニクイザルのSeg. IIでは, 母動物, 胎児とも異常は認められなかった。

ラット周産期及び授乳期投与試験 (80, 500, 3000 mg/kg) では, 分娩, 哺育に異常はみられなかった。出生児には, 80 mg/kg以上で4日齢児に脛骨の変形がみられたが, 成長に伴い消失した。

5) 抗原性試験

試験管内直接抗グロブリン試験, ラット及びイヌの血清抗体価測定, モルモットにおける能動全身性アナフィラキシー反応試験, ウサギにおける免疫原性試験並びにマウスにおけるIgE抗体産生能試験の結果, いずれも陰性であった。

6) 光毒性及び光アレルギー性試験

モルモット光毒性試験の結果は陰性であった。モルモット光アレルギー性試験では、1%軟膏の塗布感作で陰性、経口投与感作では500 mg/kg以上で皮膚の紅斑が観察され、陽性であった。

7) 細胞毒性試験

V79細胞を用いた細胞毒性試験において、48時間培養でのIC₅₀値は12 µg/mLであった。

8) その他の毒性試験

幼若ラット(4週齢)における10日間経口投与関節毒性試験(20, 100, 500 mg/kg)で関節に異常は認められなかった。また、幼若イヌ(3ヵ月齢前後)における2週間経口投与関節毒性試験(50, 500 mg/kg)では、50 mg/kg以上で関節軟骨に水疱あるいはびらんが認められた。

マウスの10日間経口投与腎毒性試験(50, 200, 800 mg/kg)では、200 mg/kg以上で尿細管腔の結晶、尿細管腔拡張、間質細胞浸潤、硝子様円柱、尿細管上皮の空胞変性が、800 mg/kgでBUN及びクレアチニンの増加並びに腎重量の増加がみられた。ウサギの10日間経口投与肝・腎毒性試験(50, 200 mg/kg)では、50 mg/kg以上で尿細管拡張、腎集合管腔の結晶並びに肝細胞の脂肪変性がみられた。また、ラットの実験的腎障害モデル(塩化第二水銀、プロマイシニアミノクレオシド及びカスガマイシン誘発)に対し、1000 mg/kgの経口投与で増強作用は認められなかった。また、イヌの28日間経口投与眼毒性試験(600 mg/kg)で異常は認められなかった。

5. 総括及び結論

5.1 臨床での有効性に対する期待

小児の肺炎及び中耳炎の主要原因菌は*S. pneumoniae*、*H. influenzae*及び*M. catarrhalis*である。このうち、*S. pneumoniae*ではペニシリン耐性菌(PISP及びPRSP)だけでなく、他のβ-ラクタム系抗菌薬やマクロライド系抗菌薬にも耐性を示す多剤耐性菌の分離頻度が高く、問題となっている^{3, 4)}。また、*H. influenzae*及び*M. catarrhalis*では、β-ラクタマーゼ産生菌⁵⁾が、*H. influenzae*ではこの他にペニシリン結合蛋白(penicillin binding protein; PBP)に変異を有するBLNARの分離頻度が高く⁶⁾、経口抗菌薬の投与にもかかわらず改善しない遷延例や、感染を繰り返す反復例といった急性中耳炎の難治化が問題となっており、その要因のひとつとして起炎菌の薬剤耐性化が報告されている⁷⁾。

トスフロキサシンはこれらの耐性菌を含む小児由来*S. pneumoniae*、*H. influenzae*及び*M. catarrhalis*に対し、他のフルオロキノロン系抗菌薬及びβ-ラクタム系抗菌薬に比べ強い抗菌活性を示した(2.6.2.2.2 参照)。また、トスフロキサシンの*S. pneumoniae*及び*H. influenzae*に対する耐性菌出現頻度及び継代培養によるMIC上昇の程度は類薬と同程度で低かった(2.6.2.2.7, 2.6.2.2.8参照)。さらに、トスフロキサシンの*S. pneumoniae*及び*H. influenzae*に対するMPCは、それぞれ0.4及び0.07 µg/mLであり、類薬と同程度若しくは低かった(2.6.2.2.9参照)。小児臨床試験において、T-3262 10% (free base) 細粒(T-3262細粒)の4 mg/kg(トスフロキサシンとして)投与時の*S. pneumoniae*におけるfree AUC/MPC及びfree C_{max}/MPCは、耐性菌を出現させないとされるfree AUC/MPC 13.4及びfree C_{max}/MPC 1.2⁸⁾より大きく、本剤の使用による耐性菌出現の可能性は低いと考えられた。

*In vivo*においても、トスフロキサシンは*in vitro*の抗菌活性及び良好な体内動態を反映し、PRSPによるマウス肺炎モデルにおいて、レボフロキサシン、アジスロマイシン及びセフカペンに比べ強い治療効果を示した(2.6.2.2.10 参照)。

また、炭疽菌及び臨床分離コレラ菌に対するトスフロキサシンの抗菌活性は、いずれもシプロフロキサシンと同等若しくは強く(CTD1.13のT-3262錠 炭疽菌、炭疽症の追加申請

時概要及びT-3262錠 コレラ（コレラ菌）の追加申請時概要 参照），既に成人において適応症を有しており，小児においても有用性が期待された。

以上，トスフロキサシンは各種細菌に対し幅広い抗菌スペクトルと強い抗菌活性を有し，小児における肺炎及び中耳炎の主要原因菌であるPRSPやBLNAR等の薬剤耐性菌を含む *S. pneumoniae* , *H. influenzae* 及び *M. catarrhalis* に対する治療薬として，その有用性が示唆された。さらに，小児における炭疽症及びコレラ菌感染症治療薬として，トスフロキサシンは臨床的に有用であると考えられた。

5.2 臨床での安全使用に関する考察

5.2.1 クラス・エフェクト

フルオロキノロン系抗菌薬のクラス・エフェクトとして，幼若動物における関節毒性が知られていることから，幼若ラット（7日齢）及び幼若イヌ（3週齢）を用いた1ヵ月間反復投与毒性試験成績並びに，T-3262錠承認申請時に実施した幼若ラット（4週齢）及び幼若イヌ（3ヵ月齢前後）を用いた関節毒性試験成績を基に，小児への安全使用について考察した。その他，中枢神経系，消化管，血糖（膵臓），心血管系，腎臓及び肝臓への影響についても考察した。

5.2.1.1 関節に対する影響

幼若ラット（7日齢）単回及び1ヵ月間反復経口投与毒性試験，幼若イヌ（3週齢）1ヵ月間反復経口投与毒性試験（2.6.6.2.1, 2.6.6.3.1.1及び2.6.6.3.2.2 参照）並びに幼若ラット（4週齢）10日間反復経口投与関節毒性試験では，関節軟骨に対する影響はみられなかった。また，実験動物で，フルオロキノロン系抗菌薬に対して最も感受性が高いことが知られている^{9, 10)} 3ヵ月齢前後の幼若イヌを用いた2週間反復経口投与関節毒性試験では，50 mg/kgで1/4例の肩関節軟骨に障害が観察されたが，微小な水疱を左右に各1ヵ所認める程度であった。一方，ノルフロキサシン^{11, 12)}及びシプロフロキサシン¹²⁾では，2～4ヵ月齢の幼若イヌに50 mg/kgの用量で1週間反復経口投与することにより，ノルフロキサシンでは2/3例及び4/6例に，シプロフロキサシンでは6/6例に関節軟骨障害（水疱，びらん）が誘発され，関節軟骨障害の発現頻度は本剤に比べて高かった。この時の全身暴露は，トスフロキサシン，ノルフロキサシン及びシプロフロキサシンで， C_{max} （初回投与時）がそれぞれ2.62～6.1, 3.52～4.19及び3.93～5.64 $\mu\text{g/mL}$ ， AUC_{0-inf} （初回投与時）がそれぞれ35.5～58.3, 24.2～25.0及び24.9～40.8 $\mu\text{g}\cdot\text{hr/mL}$ であり，同程度の曝露であった（表2.4-1）。これらの結果より，トスフロキサシントシル酸塩水和物の関節毒性は，ノルフロキサシン及びシプロフロキサシンに比べ弱いと考えられた。

表2.4-1 トスフロキサシントシル酸塩水和物，ノルフロキサシン，シプロフロキサシン塩酸塩の幼若イヌにおける関節毒性の比較

薬剤名	トスフロキサシン トシル酸塩水和物	ノルフロキサシン ¹¹⁾	ノルフロキサシン ¹²⁾	シプロフロキサシン 塩酸塩 ¹²⁾
投与量 (mg/kg)	50	50	50	50 ⁹⁾
投与期間	2週間	1週間	1週間	1週間
動物数	4 (M3, F1)	3 (M3)	6 (M3, F3)	6 (M3, F3)
関節軟骨障害発現例数	1/4	2/3	4/6	6/6
トキシコキネティクス 初回投与時 C_{max} ($\mu\text{g/mL}$)	M 2.62±1.38 F 6.1	データなし	M 3.52±2.05 F 4.19±2.59	M 5.64±2.06 F 3.93±1.12
AUC_{0-inf} ($\mu\text{g}\cdot\text{hr/mL}$)	M 35.5±27.1 F 58.3	データなし	M 24.2±14.8 F 25.0±16.1	M 40.8±11.8 F 24.9±9.9
反復投与時 ^{b)}				

2.4 非臨床に関する概括評価

C_{max} ($\mu\text{g/mL}$)	M 3.92 \pm 4.78 F 4.9	M 5.11 \pm 1.66	M 2.04 \pm 1.04 F 1.72 \pm 1.10	M 4.25 \pm 2.79 F 6.24 \pm 1.55
AUC_{0-inf} ($\mu\text{g}\cdot\text{hr/mL}$)	M 45.5 \pm 48.2 F 27.2	M 26.2 \pm 4.3	M 11.9 \pm 3.7 F 13.1 \pm 8.8	M 25.9 \pm 9.2 F 45.4 \pm 13.9

M:雄 F:雌

a):シプロフロキサシン換算.

b):トスフロキサシントシル酸塩水和物については2週間投与時,ノルフロキサシン及びシプロフロキサシン塩酸塩については6日間投与時の結果を示す.

トスフロキサシントシル酸塩水和物の関節毒性発現時 (50 mg/kg投与時) の曝露を,小児にT-3262細粒をトスフロキサシンとして4及び6 mg/kgの用量で経口投与した時の C_{max} (それぞれ0.96及び1.48 $\mu\text{g/mL}$) 及びAUC (1日2回投与で,それぞれ15.16及び25.02 $\mu\text{g}\cdot\text{hr/mL}$) と比較すると, C_{max} はそれぞれ2.7~6.4倍及び1.8~4.1倍,AUCはそれぞれ2.3~3.8倍及び1.4~2.3倍であった。

以上,幼若イヌ (3ヵ月齢前後) で観察された関節軟骨障害は,1例の肩関節にのみ微小な水疱を認める程度の軽度の変化であったこと,また,フルオロキノロン系抗菌薬の関節毒性には種差があり,特に3ヵ月齢前後の幼若イヌで感受性が高いことが知られていることから,本剤の小児への臨床使用において関節障害に注意を払う必要はあるものの,重篤な関節毒性が発現する可能性は低いものと考えられた。

5.2.1.2 中枢神経系に対する影響

幼若ラット及び幼若イヌの1ヵ月間反復経口投与毒性試験では,痙攣などの重篤な中枢神経症状はみられなかった (2.6.6.3.1.1 及び2.6.6.3.2.2 参照)。幼若イヌでは,600 mg/kgで雌1例に嘔吐の発現頻度の増加が認められたが (2.6.6.3.2.2 参照),T-3262錠承認申請時に実施したイヌ (12ヵ月齢前後) の1ヵ月間反復経口投与毒性試験結果と比較して増強はみられなかった。また,一般薬理試験での中枢神経系に対する作用の検討では,1000 mg/kgまでの経口投与で影響はみられず,痙攣誘発作用及びGABA受容体結合阻害作用も他のフルオロキノロン系抗菌薬に比べて弱かった (CTD1.13のT-3262錠承認時概要 参照)。以上のことから,本剤の臨床使用において重篤な中枢神経症状が発現する可能性は低いと考えられた。

5.2.1.3 消化管に対する影響

幼若ラット及び幼若イヌの1ヵ月間反復経口投与毒性試験では,下痢・軟便はみられなかった (2.6.6.3.1.1 及び2.6.6.3.2.2 参照)。幼若ラット1ヵ月試験では,300 mg/kg以上で盲腸腔の拡張,盲腸重量及び盲腸重量体重比の増加が観察されたが (2.6.6.3.1.1 参照),T-3262錠承認申請時に実施したラット (6週齢) の1ヵ月間及び6ヵ月間反復経口投与毒性試験でも,それぞれ300 mg/kg以上及び80 mg/kg以上で盲腸腔の拡張,盲腸重量及び盲腸重量体重比の増加あるいは軟便が観察されており (CTD1.13のT-3262錠承認時概要 参照),幼若動物で明らかな増強はみられなかった。また,これらの変化は休薬により速やかに回復し,消化管の病理組織学的検査でも異常はみられなかった。

幼若及び6週齢ラットで観察された盲腸腔の拡張,盲腸重量の増加あるいは軟便の発現は,本剤の抗菌活性に起因した腸内細菌叢の変化によるものと考えられ,同様の変化は他のフルオロキノロン系抗菌薬においても知られている^{9, 13)}。以上のことから,本剤の臨床使用において軟便・下痢の発現に注意を払う必要はあるものの,重篤な消化管障害が発現する可能性は低いと考えられた。

5.2.1.4 血糖(膵臓)に対する影響

ガチフロキサシン¹⁴⁾及びロメフロキサシン¹⁵⁾では、ラット及びイヌの反復経口投与毒性試験で膵β細胞の空胞変性が報告されている。本剤は膵β細胞に対してインスリン分泌刺激作用を有することが示唆されている¹⁶⁾が、幼若ラット及び幼若イヌを用いた1ヵ月間反復経口投与毒性試験(2.6.6.3.1.1 及び2.6.6.3.2.2 参照)並びにT-3262錠承認申請時に実施したラット(6週齢)及びイヌ(12~14ヵ月齢)の1ヵ月及び6ヵ月間反復経口投与毒性試験(CTD1.13のT-3262錠承認時概要 参照)では、血糖の変化はみられず、膵臓の病理組織学的検査でも異常はみられなかった。また、イヌへの600 mg/kgまでの単回経口投与で、血糖及び血清中インスリン濃度に影響はみられなかった。以上のことから、本剤の臨床使用において低血糖の発現に注意を払う必要があるものの、重篤な血糖異常が発現する可能性は低いと考えられた。

5.2.1.5 心血管系に対する影響

幼若イヌの1ヵ月間反復経口投与毒性試験(2.6.6.3.2.2 参照)並びにT-3262錠承認申請時に実施したイヌ(12~14ヵ月齢)の1ヵ月間及び6ヵ月間反復経口投与毒性試験(CTD1.13のT-3262錠承認時概要 参照)では、いずれも心電図検査及び心血管系の病理学的検査で異常はみられなかった。安全性薬理試験では、覚醒イヌへの100 mg/kgまでの経口投与で血圧、心拍数及び心電図に影響はみられず、hERG電流に及ぼす影響の検討においても、溶解最大濃度(20 µmol/L、トスフロキサシンとして8.1 µg/mL)で約5%のわずかな抑制であった(2.6.2.4 参照)。以上のことから、本剤の臨床使用において重篤な心血管系に対する影響が発現する可能性は低いと考えられた。

5.2.1.6 腎臓に対する影響

幼若ラットの1ヵ月間反復経口投与毒性試験では、1000 mg/kg以上で腎尿細管腔に結晶がみられた(2.6.6.3.1.1 参照)。T-3262錠承認申請時に実施したラット(6週齢)の1ヵ月間反復経口投与毒性試験では1000 mg/kg以上で腎尿細管腔に結晶が、また、イヌ(12ヵ月齢前後)の1ヵ月間反復経口投与毒性試験では600 mg/kgで腎集合管腔に結晶がみられていることから(CTD1.13のT-3262錠承認時概要 参照)、幼若動物で腎臓に対する作用に増強は無いと考えられた。

腎組織中に結晶がみられたイヌ(12ヵ月齢前後)の1ヵ月間試験における600 mg/kg投与時のC_{max}は5.43 µg/mLであり、小児にT-3263細粒をトスフロキサシンとして4及び6 mg/kgを経口投与した時のC_{max}(それぞれ0.96及び1.48 µg/mL)の3.7~5.6倍であった。以上のことから、臨床使用において重篤な腎障害が発現する可能性は低いと考えられた。

5.2.1.7 肝臓に対する影響

これまで実施した毒性試験では、肝障害を疑わせる変化はみられなかったことから、本剤の臨床使用において重篤な肝障害が発現する可能性は低いと考えられた。

6. 参考文献一覧

- 1) 高畑 正裕, 福田 淑子, 二口 直子, 杉浦 陽子, 久田 晴美, 水永 真吾, 他. Garenoxacinの*in vitro*抗菌活性. 日化療会誌 2007; 55(S-1): 1-20.
- 2) Miyashita N, Niki Y, Kishimoto T, Nakajima M, Matsushima T. In vitro and in vivo activities of AM-1155, a new fluoroquinolone, against *Chlamydia* spp. Antimicrob. Agents Chemother. 1997; 41: 1331-4.
- 3) 賀来 満夫, 金光 敬二, 國島 広之, 井上 松久, 小松 真由美, 北川 美穂. 肺炎球菌およびインフルエンザ菌における薬剤耐性の検討. 開業医および大学病院臨床分離株での比較. 化学療法の領域 2007; 23: 1318-25.
- 4) Felmingham D, Reinert RR, Hirakata Y, Rodloff A. Increasing prevalence of antimicrobial resistance among isolates of *Streptococcus pneumoniae* from the PROTEKT surveillance study, and comparative in vitro activity of the ketolide, telithromycin. J. Antimicrob. Chemother. 2002; 50 (Suppl 1): 25-37.
- 5) Jones RN, Sader HS, Fritsche TR, Pottumarthy S. Comparisons of parental broad-spectrum cephalosporins tested against bacterial isolates from pediatric patients: report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (1998-2004). Diagn. Microbiol. Infect. Dis. 2007; 57: 109-16.
- 6) Nariai A. Prevalence of β -lactamase-nonproducing ampicillin-resistant *Haemophilus influenzae* and *Haemophilus influenzae* type b strains obtained from children with lower respiratory tract infections. J. Infect Chemother. 2007; 13: 396-9.
- 7) 山中 昇, 保富 宗城. 難治化する急性中耳炎 難治化の要因とその対策. 感染症誌 2003;77: 595-605.
- 8) Homma T, Hori T, Sugimori G, Yamano Y. Pharmacodynamic assessment based on mutant prevention concentrations of fluoroquinolones to prevent the emergence of resistant mutants of *Streptococcus pneumoniae*. Antimicrob. Agents Chemoter. 2007; 51: 3810-5.
- 9) 小野寺 威. 3.2 キノロン剤. 福田 英臣, 秋元 健, 坂口 孝 編 毒性試験講座15 医薬品 地人書館 1990: 35-42.
- 10) Stahlmann R, Lode H. Safety overview. The quinolones (3rd edition). Edited by Andriole VT (ed.). San Diego: Academic Press; 2000. p.397-453.
- 11) Machida M, Kusajima H, Aijima H, Maeda A, Ishida R, Uchida H. Toxicokinetic study of norfloxacin-induced arthropathy in juvenile animals. Toxicol Appl Pharmacol. 1990 15;105(3): 403-12.
- 12) Nagai A, Miyazaki M, Morita T, Furubo S, Kizawa K, Fukumoto H, Sanzen T, Hayakawa H, Kawamura Y. Comparative articular toxicity of garenoxacin, a novel quinolone antimicrobial agent, in juvenile beagle dogs. J Toxicol Sci. 2002; 27(3): 219-28.
- 13) Takayama S, Hirohashi M, Kato M and Shimada H. Toxicity of quinolone antimicrobial agents. J Toxicol Environ Health 1995; 45: 1-45.
- 14) 笠井 正博, 鳥屋部 保, 益本 吉廣, 佐藤 裕和, 棚瀬 裕文, 今井 繁. Gatifloxacinのイヌにおける26週間反復経口投与毒性試験. 薬理と治療. 1998; 26 (10):39-58.
- 15) 野村 岳之 他. NY-198のラット13週間経口投与亜急性毒性試験. Chemotherapy 1988; 36 (S-2): 343-69.
- 16) Maeda N, Tamagawa T, Niki I, Miura H, Ozawa K, Watanabe G *et al.* Increase in insulin release from rat pancreatic islets by quinolone antibiotics. Br J Pharmacol. 1996; 117: 372-76.