ゼビアックスローション 2%

第2部（モジュール2）
CTDの概要（サマリー）

2.4　非臨床試験の概括評価

マルホ株式会社

略号一覧

	略号	省略していない表現
薬剤名	M5121	一般名；Ozenoxacin、オゼノキサシン 富山化学工業株式会社で創製された新規キノロン系合成抗菌化合物、T-3912、[redacted]と同義
	M512101	有効成分としてM5121を含有するローション製剤
	^{14}C-M5121	Carbon 14で標識したM5121
	^{14}C-M512101	Carbon 14で標識したM5121を含有するローション製剤
	CLDM	Clindamycin、クリンダマイシン
	LVFX	Levofloxacin、レボフロキサシン
	NDFX	Nadifloxacin、ナジフロキサシン
	NFLX	Norfloxacin、ノルフロキサシン
	OFLX	Ofloxacin、オフロキサシン
菌名	CNS	Coagulase negative Staphylococci、コアグラーゼ陰性ブドウ球菌
	MRSA	Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*、メチシリン耐性*Staphylococcus aureus*
	MSSA	Methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus*、メチシリン感受性*Staphylococcus aureus*
	P. acnes	*Propionibacterium acnes*
	S. aureus	*Staphylococcus aureus*
	S. epidermidis	*Staphylococcus epidermidis*
	S. pyogenes	*Streptococcus pyogenes*
その他	AUC_{0-t}	投与開始0時間後からt時間後までの時間–濃度曲線下面積
	CHL	Chinese hamster lung derived cell line、チャイニーズハムスター肺由来細胞
	CHO	Chinese hamster ovary derived cell line、チャイニーズハムスター卵巣由来細胞
	C_{max}	Maximal drug concentration、最高薬物濃度
	CYP	Cytochrome P450、チトクロームP450
	DNA	Deoxyribonucleic acid、デオキシリボ核酸
	GABA	Gamma-aminobutyric acid、γ–アミノ酪酸
	hERG	human ether-a-go-go-related gene
	HPLC-UV	High performance liquid chromatography-ultraviolet、紫外吸収検出高速液体クロマトグラフ
	IC_{50}	50% 阻害濃度
	LC/MS	Liquid chromatography / mass spectrometry、液体クロマトグラフ/質量分析
	LC/MS/MS	Liquid chromatography / mass spectrometry / mass spectrometry、液体クロマトグラフ/タンデム質量分析

	略号	省略していない表現
	LSC	Liquid scintillation counter、液体シンチレーションカウンタ
	MBC	Minimal bactericidal concentration、最小殺菌濃度
	MIC	Minimal inhibitory concentration、最小発育阻止濃度
	MIC_{90}	90% 発育阻止濃度
その他	MLA	マウスリンフォーマ細胞を用いる遺伝子突然変異試験
	MPC	Mutant prevention concentration、耐性変異抑制濃度
	QRDR	Quinolone resistance determining region、キノロン耐性決定領域
	$t_{1/2}$	Elimination half-life、消失半減期

目次

頁
2.4 非臨床試験の概括評価 6
2.4.1 非臨床試験計画概略 6
2.4.1.1 薬理試験計画の概略 6
2.4.1.2 薬物動態試験計画の概略 6
2.4.1.3 毒性試験計画の概略 6
2.4.2 薬理試験 7
2.4.2.1 効力を裏付ける試験 7
2.4.2.1.1 抗菌スペクトル（標準株） 7
2.4.2.1.2 抗菌作用機序 7
2.4.2.1.3 臨床分離菌株に対する抗菌作用 8
2.4.2.1.4 抗菌作用に及ぼす諸因子の影響 8
2.4.2.1.5 殺菌作用 8
2.4.2.1.6 耐性獲得 8
2.4.2.1.7 実験的マウス皮膚感染症モデルにおける治療効果 9
2.4.2.2 副次的薬理試験 9
2.4.2.3 安全性薬理試験 9
2.4.2.3.1 中枢神経系 9
2.4.2.3.2 心血管系 9
2.4.2.3.3 呼吸器系 9
2.4.2.4 薬力学的薬物相互作用 9
2.4.3 薬物動態試験 9
2.4.3.1 分析法 9
2.4.3.2 吸収 10
2.4.3.3 分布 10
2.4.3.4 代謝 11
2.4.3.5 排泄 12
2.4.3.6 薬物動態学的薬物相互作用 13
2.4.4 毒性試験 13
2.4.4.1 単回投与毒性試験 13
2.4.4.2 反復投与毒性試験 13
2.4.4.2.1 ラット反復経皮・皮下投与毒性試験 13
2.4.4.2.2 イヌ反復経皮・皮下投与毒性試験 14
2.4.4.3 遺伝毒性試験 15
2.4.4.4 がん原性試験 15
2.4.4.5 生殖発生毒性試験 15
2.4.4.6 局所刺激性試験 15
2.4.4.7 その他の毒性試験 16
2.4.4.7.1 抗原性試験 16
2.4.4.7.2 その他の試験 16

2.4.5 総括及び結論 16
2.4.5.1 M5121の有効性に関する考察 16
2.4.5.2 M5121の薬物動態に関する考察 17
2.4.5.3 臨床での安全使用に関する考察 18
2.4.5.3.1 中枢神経系に対する影響 18
2.4.5.3.2 心血管系に対する影響（血圧、心拍数、QTcの延長） 18
2.4.5.3.3 関節への影響 19
2.4.5.3.4 光線暴露の影響 19
2.4.5.3.5 遺伝毒性 19
2.4.5.3.6 眼に対する影響 19
2.4.5.3.7 膵臓への影響 19
2.4.5.3.8 消化管に対する影響 19
2.4.5.3.9 妊婦又は妊娠している可能性のある婦人への影響 20
2.4.5.3.10 授乳婦への影響 20
2.4.5.4 結論 20
2.4.6 参考文献 20

2.4 非臨床試験の概括評価

2.4.1 非臨床試験計画概略

オゼノキサシン（M5121）は、富山化学工業株式会社にて創製された新規キノロン系合成抗菌化合物であり、2% M5121を含有するローション製剤（2% M512101）が、尋常性ざ瘡及び表在性皮膚感染症（毛包炎、毛瘡）を対象に開発が進められてきた。なお、非臨床試験としては薬理試験、薬物動態試験及び毒性試験を実施した。

2.4.1.1 薬理試験計画の概略

(1) 効力を裏付ける試験

尋常性ざ瘡及び表在性皮膚感染症の病態に関与するとされている*Propionibacterium acnes*（*P. acnes*）、*Staphylococcus aureus*（*S. aureus*）、*Staphylococcus epidermidis*（*S. epidermidis*）及び*Streptococcus pyogenes*（*S. pyogenes*）に対する抗菌作用を*in vitro*及び*in vivo*で検討した。すなわち、(1)抗菌スペクトル（標準株）、(2)抗菌作用機序、(3)臨床分離菌株に対する抗菌作用、(4)抗菌作用に及ぼす諸因子の影響、(5)殺菌作用、(6)耐性獲得（自然耐性菌出現頻度、耐性変異抑制濃度（MPC）、試験管内耐性獲得）並びに(7)*P. acnes*、*S. epidermidis*、*S. aureus*及びメチシリン耐性*S. aureus*（MRSA）による実験的マウス皮膚感染症モデルにおける治療効果を検討した。

(2) 副次的、安全性薬理試験及び薬力学的薬物相互作用

副次的薬理試験は実施しなかった。

安全性薬理試験としては中枢神経系、心血管系及び呼吸器系に対する影響を検討した。これらの試験系・試験デザインは、ICHガイドラインに準拠し、GLPを遵守した。これらの試験に加えて、γ-アミノ酪酸（GABA）受容体結合に対する作用及び痙攣誘発作用についても検討した。痙攣誘発作用の検討はGLPを遵守した。

非ステロイド性抗炎症薬との薬力学的相互作用については、GABA受容体結合に対する作用及び痙攣誘発作用について検討した。結果は、安全性薬理試験に記載した。

2.4.1.2 薬物動態試験計画の概略

放射性標識体及び非標識体を使用した*in vitro*及び*in vivo*試験を実施した。*In vitro*試験では、主としてラット、イヌ及びヒト由来の試料を用いた血球移行率、血漿蛋白結合率及び薬物代謝能の検討を行った。更に、ヒトチトクロームP450（CYP）発現系ミクロソームを用いて、M5121の代謝にかかわるCYP分子種を探索し、薬物代謝酵素誘導はヒト凍結肝細胞を用いた。代謝酵素阻害に関してヒト肝ミクロソーム中の主なCYP分子種の活性を指標に検討した。*In vivo*試験では、薬理試験及び毒性試験で主として使用されたラット及びイヌを用いた。M5121又はCarbon 14で標識したM5121（^{14}C-M5121）を経皮、皮下及び静脈内投与した後に得た生体試料中の放射能及び未変化体濃度を測定し吸収、分布及び排泄の指標とした。投与経路は臨床投与経路である経皮投与を主体としたが、加えて皮下あるいは静脈内投与したときの薬物動態も評価した。妊娠ラットに投与した場合のM5121の胎盤・胎児移行及び乳汁中への排泄も調べた。これとは別に皮下投与後のラット肝薬物代謝酵素系への影響も検討した。

2.4.1.3 毒性試験計画の概略

試験系・試験デザインは，医薬品毒性試験法ガイドラインやICHガイドライン等各種毒性試験

法ガイドラインに準拠し、GLPを遵守した。

単回投与毒性試験は、ラット及びイヌへの経皮（臨床投与経路）あるいは、皮下投与（代替経路）により実施した。反復投与毒性試験は、ラット（13週間まで）及びイヌ（39週間まで）への経皮投与とともに、ラット（26週間まで）及びイヌ（13週間まで）への皮下投与試験も実施した。遺伝毒性試験としては、細菌を用いる復帰突然変異試験、マウスリンフォーマ細胞を用いる遺伝子突然変異試験（MLA)、CHL/IU細胞を用いる染色体異常試験、ラット骨髄小核試験、経皮投与によるラット皮膚小核試験、ラット肝細胞不定期DNA合成試験及びMuta^{TM}マウスを用いる遺伝子突然変異試験を実施した。

生殖発生毒性試験では、ラットを用いる受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験、ラットを用いる胚・胎児発生に関する試験、ウサギを用いる胚・胎児発生に関する試験及びラットを用いる出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験を皮下投与により実施した。

その他の試験として、モルモット抗原性試験、ウサギ皮膚一次刺激性試験、ウサギ皮膚累積刺激性試験、イヌ皮膚累積刺激性試験（39週間反復経皮投与毒性試験の中で皮膚反応を評価)、ウサギ眼粘膜一次刺激性試験、モルモット光毒性試験、皮膚感作性試験及び皮膚光感作性試験、更にBalb/3T3 clone A31を用いる*in vitro*光毒性試験及びCHL/IU細胞を用いる光染色体異常試験、幼若イヌ（3カ月齢）を用いる1週間反復皮下投与による関節毒性試験を実施した。

2.4.2 薬理試験

効力を裏付ける試験及び安全性薬理試験の一覧表を2.6.3.1に示す。

2.4.2.1 効力を裏付ける試験

2.4.2.1.1 抗菌スペクトル（標準株）

M5121は、各種好気性及び通性嫌気性のグラム陽性菌とグラム陰性菌、並びに偏性嫌気性のグラム陽性菌とグラム陰性菌に対して強い抗菌作用と幅広い抗菌スペクトルを示した。このうち、尋常性ざ瘡及び表在性皮膚感染症の病態に関与する*P. acnes*、*S. aureus*及び*S. epidermidis*に対するM5121の最小発育阻止濃度（MIC）は、それぞれ0.0125～0.025、0.00313～0.00625及び0.025 μg/mLであり、M5121は同効類薬であるナジフロキサシン（NDFX）及びクリンダマイシン（CLDM）と同程度又はそれ以上に強い抗菌作用を示した。

2.4.2.1.2 抗菌作用機序

キノロン系抗菌薬の作用標的であるDNAジャイレース及びトポイソメラーゼIV（*S. aureus*由来）に対するM5121の50% 阻害濃度（IC_{50}）はそれぞれ3.54及び0.67 μg/mLであり、NDFXのIC_{50}より低濃度であった。一方、ヒト由来II型トポイソメラーゼに対するM5121のIC_{50}は*S. aureus*由来DNAジャイレース及びトポイソメラーゼIVに対するIC_{50}と比較して、それぞれ42.7及び225倍高く、M5121は細菌のII型トポイソメラーゼに高い選択性を示し、その選択性はNDFXよりも高かった。

また、DNAジャイレース及びトポイソメラーゼIVのキノロン耐性決定領域（QRDR）にアミノ酸変異を有するレボフロキサシン（LVFX）耐性*S. aureus*に対するM5121のMICは0.05～0.2 μg/mLであり、NDFXより強い抗菌作用を示した。

2.4.2.1.3 臨床分離菌株に対する抗菌作用

2012年～2013年に尋常性ざ瘡から分離された*P. acnes*、*S. aureus*、*S. epidermidis*及び*S. epidermidis*を除くコアグラーゼ陰性ブドウ球菌（CNS）に対するM5121の90% 最小発育阻止濃度（MIC_{90}）は、それぞれ≤ 0.06、≤ 0.06、0.125及び≤ 0.06 μg/mLであった。2012年に表在性皮膚感染症（毛包炎、毛瘡）から分離された*S. aureus*、*S. epidermidis*及び*S. epidermidis*を除くCNSに対するM5121のMIC又はMIC_{90}は、それぞれ≤ 0.125、0.125及び≤ 0.06 μg/mLであった。一方、MRSAの皮膚由来臨床分離菌株（[redacted]～[redacted]年分離）に対するM5121のMIC_{90}は、1.56 μg/mLであった。また、メチシリン感受性*S. aureus*（MSSA）、MRSA及び*S. pyogenes*の皮膚由来臨床分離菌株（2014年分離）に対するM5121のMIC_{90}は、それぞれ≤ 0.06、2及び≤ 0.06 μg/mLであった。すべての臨床分離菌株に対するM5121のMIC又はMIC_{90}は、NDFX、CLDM及びその他の対照抗菌薬と同程度又はそれ以下であった。また、オフロキサシン（OFLX）耐性*S. epidermidis*及びOFLX耐性MRSAの臨床分離菌株に対するM5121のMIC_{90}は、ともに0.2 μg/mLであり、NDFX、CLDM及びその他の対照抗菌薬よりも低値であった。

2.4.2.1.4 抗菌作用に及ぼす諸因子の影響

*P. acnes*及び*S. aureus*に対するM5121のMICは、培地の種類、ヒト血清添加及び接種菌量の影響を受けなかった。また、M5121の中性条件（pH7.0）でのMICと比較して、酸性側（pH6.0）及びアルカリ性側（pH8.0）でのMICは2倍以内の変動であった。

2.4.2.1.5 殺菌作用

P. acnes、MRSAを含む*S. aureus*及び*S. epidermidis*に対するM5121のMICと最小殺菌濃度（MBC）はほぼ一致し、M5121の抗菌作用様式はNDFXと同様、殺菌的であった。

*P. acnes*に対して、M5121は1及び4 × MIC（0.0313及び0.125 μg/mL）で、NDFX及びCLDMの4 × MIC（1及び0.25 μg/mL）より強い殺菌作用を示した。また、*S. aureus*に対して、M5121は4 × MIC（0.0313 μg/mL）で、NDFXの4 × MIC（0.125 μg/mL）と同等、CLDMの4 × MIC（0.5 μg/mL）より強い殺菌作用を示した。

2.4.2.1.6 耐性獲得

2.4.2.1.6.1 自然耐性菌出現頻度

*P. acnes*にM5121の4及び8 × MIC（0.1及び0.2 μg/mL）を作用させたときの自然耐性菌出現頻度は3.8×10^{-9}未満であり、NDFX及びCLDMと同様にその出現頻度は低率であった。また、*S. aureus*にM5121の4及び8 × MIC（0.025及び0.05 μg/mL）を作用させたときの自然耐性菌出現頻度も3.6×10^{-9}未満であり、NDFX及びCLDMと同様にその出現頻度は低率であった。

2.4.2.1.6.2 耐性変異抑制濃度（Mutant prevention concentration：MPC）

*P. acnes*及び*S. aureus*に対するM5121のMPCは、それぞれ0.78及び0.0125 μg/mLで、いずれもNDFXのMPC（12.5及び0.1 μg/mL）より低かった。

2.4.2.1.6.3 試験管内耐性獲得

*P. acnes*及び*S. aureus*のM5121に対する試験管内耐性獲得試験において28回の継代後のM5121のMIC上昇は2倍であり、NDFX及びCLDMと同様にMIC上昇は軽度であった。

2.4.2.1.7 実験的マウス皮膚感染症モデルにおける治療効果

*P. acnes*及び*S. epidermidis*による皮膚感染症モデルにおいて、2% M512101の経皮投与は皮膚中生菌数を有意に減少させ（P< 0.001）、その効果は1% NDFXローション及び1% CLDMゲルよりも強かった。また、*S. aureus*及びMRSAによる皮膚感染症モデルにおいて、1% M512101の経皮投与は皮膚中生菌数を有意に減少させ（P< 0.001）、その効果は1% NDFXローション及び1% CLDMゲルよりも強かった。

2.4.2.2 副次的薬理試験

副次的薬理試験は実施しなかった。

2.4.2.3 安全性薬理試験

2.4.2.3.1 中枢神経系

ラットに皮下投与した試験において、M5121は100 mg/kgまで一般状態及び行動に影響を及ぼさなかった。マウスに脳室内投与し痙攣誘発作用を検討したところ、M5121の痙攣誘発用量（60 μg/mouse）は、ノルフロキサシン（NFLX、0.6 μg/mouse）のそれに対し、明らかに高い値を示した。また、M5121は、ビフェニル酢酸存在下で痙攣誘発を増強させなかった。GABA受容体結合阻害作用については、NFLXがビフェニル酢酸存在下で3.9×10^{-8} mol/Lで結合阻害を示したのに対し、M5121はビフェニル酢酸存在下及び非存在下で10^{-4} mol/L（36 μg/mL）まで阻害作用を示さなかった。以上より、M5121の中枢神経系に対する作用はNFLXと比し明らかに低いと考えられた。

2.4.2.3.2 心血管系

M5121は10 μmol/L（3.6 μg/mL）までhERGチャネル電流に影響を示さなかった。イヌに皮下投与した試験において、M5121は20 mg/kgまでQT間隔を延長させなかった。一方、血圧の上昇及び心拍数の増加が認められたが、これは投与直後に泣鳴、興奮がみられていたことから、M5121投与液の皮下投与による刺激による変化と考えられた。以上より、臨床使用経路においては心血管系に対する影響はないものと考えられた。

2.4.2.3.3 呼吸器系

ラットに皮下投与した試験において、M5121は100 mg/kgまで呼吸数、一回換気量、分時換気量、吸気時間、呼気時間、最大吸気流量及び最大呼気流量等の呼吸機能に影響を及ぼさなかった。

2.4.2.4 薬力学的薬物相互作用

2.4.2.3.1 中枢神経系を参照。

2.4.3 薬物動態試験

薬物動態試験の一覧表を2.6.5.1に示す。

2.4.3.1 分析法

血漿試料を固相抽出した後、液体クロマトグラフ/質量分析（LC/MS）あるいは液体クロマトグラフ/タンデム質量分析（LC/MS/MS）により血漿中M5121濃度を測定した。また、皮膚中M5121

濃度は、皮膚試料を有機溶媒で除蛋白した後、紫外吸収検出高速液体クロマトグラフ（HPLC-UV）により測定した。これら本定量法の定量下限は、血漿で0.1 ng/mL、皮膚で0.15 μg/siteであった。放射性標識体を投与したときの生体試料中の放射能濃度は、試料に直接、あるいは試料を可溶化又は燃焼処理した後、液体シンチレーターを加えて液体シンチレーションカウンタ（LSC）により測定した。

2.4.3.2 吸収

ヒト摘出皮膚を用いて*in vitro*皮膚透過性を検討した結果、累積透過量及び皮膚中放射能量を合わせた吸収率は、塗布量の1%～2%程度であり、M512101を経皮投与したときの全身への移行は少ないことが示唆された。

ラットの正常皮膚にM512101を単回経皮投与した際、皮膚中M5121濃度は、速やかに上昇した後、投与24時間後まで定常状態を維持した。また、製剤濃度が0.5、1、2及び4%と増加するに伴って皮膚中M5121濃度は増加した。角質層を除去した損傷皮膚に投与した際の最高血漿中濃度（C_{max}）は、正常皮膚の約70倍と計算された。ラットにCarbon 14で標識したM5121を含有するローション製剤（^{14}C-M512101）を1日1回7日間反復経皮投与した際の皮膚中放射能濃度は、1回投与後と7回投与後で同程度であり、投与期間中の残存製剤中放射能量の投与放射能量に対する割合も変化がないことから、反復経皮投与が皮膚中への蓄積及び吸収に与える影響は小さいものと考えられた。また、ラットにM512101を1日1回7日間反復経皮投与した際の血漿中M5121濃度は、C_{max}及び時間–濃度曲線下面積（$AUC_{0.25\text{-}24\,h}$）とも投与開始5日目まで徐々に上昇したが、投与開始5日目以降でほぼ一定となった。投与開始1日目～7日目の消失半減期（$t_{1/2}$）はほぼ一定であったことから、M5121が体内に蓄積することはないと考えられた。

ラットにM5121を単回皮下投与した際、投与用量とC_{max}及び$AUC_{0\text{-}24\,h}$の間にはいずれも良好な線形性が認められた。また、ラットにM512101を単回経皮投与あるいはM5121を単回皮下投与した際、雌雄間で薬物動態学的パラメータに有意な差は認められなかった。

2.4.3.3 分布

^{14}C-M512101を単回塗布したラット正常皮膚の皮膚ミクロオートラジオグラムにおいて、角質層に非常に高い放射能が認められた。これに対し、表皮中の放射能はわずかで、真皮以下の各層には放射能はほとんど認められなかった。一方、損傷皮膚では表皮表面から真皮まで高い放射能が認められた。

ラットに^{14}C-M5121を単回皮下投与し体循環移行後の放射能分布を調べた。肝臓、腎臓、胃、小腸及び大腸などに高い放射能濃度が認められたが、それ以外の組織における放射能濃度は、血漿中放射能濃度と同程度以下の値を示した。ほとんどの組織の放射能濃度はそれぞれ最高濃度を示した後、ほぼ直線的に減少し、投与後96時間では副腎、精巣、腎臓、精巣上体及び肝臓の放射能濃度はそれぞれの最高濃度の6%以下に、他の組織の放射能濃度は検出限界未満となった。組織内分布率は、^{14}C-M5121由来の放射能の組織／血漿比が低いことを反映し、いずれの時点においても投与量の3%を超えなかった。また、ラットの損傷皮膚に^{14}C-M512101を単回経皮投与した際、皮膚から吸収された放射能の分布及び消失は皮下投与後のそれとほぼ同様であった。

1日1回7日間^{14}C-M5121を反復皮下投与したラットの全身への放射能の分布傾向は単回投与時の分布傾向と同様であった。以上の試験結果はM5121の臓器における蓄積性がないことを示唆する。

ラット、イヌ及びヒトの*in vitro*での血漿蛋白結合率は、薬物濃度に依存した変化が認められず、

それぞれ91.5%～93.1%、83.6%～84.0%、89.7%～90.5%であり、その結合は可逆的であった。また、ラットに^{14}C-M5121を単回皮下投与した際の血漿蛋白結合率は、88.8%～92.8%であり、その結合も可逆的であることが判明している。これらの主要な結合蛋白種はアルブミンであった。

血液に^{14}C-M5121を混和させたとき、ラットでは23.8%～29.2%、イヌでは69.0%～70.7%、ヒトでは70.1%～76.9%の血球移行率を示した。ヒト血球へのM5121の移行性はイヌとほぼ等しく、ラットより高いことが明らかとなった。*In vivo*における血球移行率は、投与後24時間においてラット及びイヌで、それぞれ47.5%及び63.9%であった。

有色ラットに^{14}C-M5121を単回皮下投与した際の組織内分布試験において、^{14}C-M5121由来の放射能はメラニン含有組織である眼球に多く分布した。眼球からの消失は他の組織に比べ緩慢であった。一方、*in vitro*でM5121のメラニンに対する親和性を検討したところ、M5121のメラニン親和性の程度は他のキノロン系抗菌薬と同程度であることが判明した。

妊娠ラットに^{14}C-M5121を単回皮下投与した際、妊娠前期後期ともに胎児中放射能濃度は母体の血漿中放射能濃度よりも低い値であった。また、胎児へ移行した放射能は母体中放射能の減少とともに低下した。

2.4.3.4 代謝

ラット、イヌ、サル及びヒト肝ミクロソームを用いた^{14}C-M5121の*in vitro*代謝試験において、M5121の脱メチル体（M5121M01）、水酸化体（M5121M05、ヒトでは認められず）及びグルクロン酸抱合体（M5121M02）が検出され、代謝物に明らかな種差は認められなかった。これとは別に、ヒト皮膚細胞（ケラチノサイト及びファイブロブラスト）を用いた^{14}C-M5121の*in vitro*代謝試験結果は、ヒト皮膚細胞中でM5121はほとんど代謝を受けないことを示した。

^{14}C-M5121をラットに単回皮下投与あるいは、イヌに単回静脈内投与し、血漿、尿あるいは糞中代謝物を検索した。ラット血漿中にはM5121のグルクロン酸抱合体（M5121M02）の存在が明らかになった。ラット尿及び糞中にはM5121のグルクロン酸抱合体（M5121M02）、水酸化体（M5121M05）及び脱メチル体（M5121M01）が検出された。イヌ尿中にはラットで認められた代謝物の他に、M5121の脱メチル水酸化体（M5121M06）の存在が明らかになったが、これは、M5121の脱メチル体（M5121M01）あるいはM5121の水酸化体（M5121M05）が更に代謝を受けて生成したものと考えられた。M5121の推定代謝経路を図 2.4.3-1に示した。

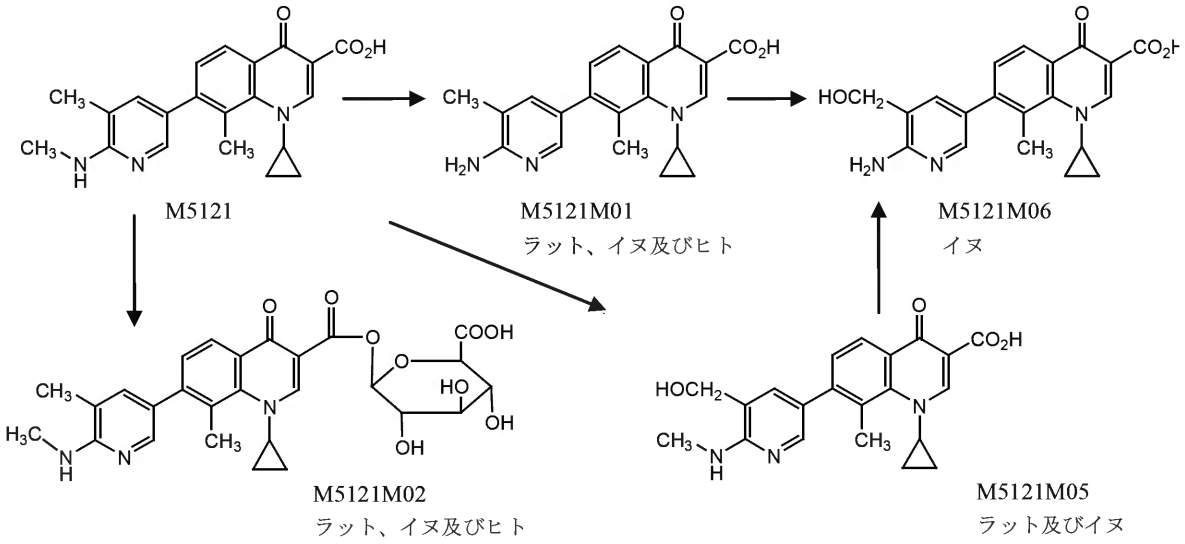


図 2.4.3-1 M5121の推定代謝経路

ヒトにM512101を単回又は7日間反復経皮投与した（1% M512101及び2% M512101）とき、M5121M02が血漿にわずかに認められた。また尿中代謝物としてはM5121M01、M5121M02、M5121M05及びM5121M06が検出され、その内M5121M02が最も多かった（「2.7.2.2.2.2 健康成人を対象とした臨床薬理試験」参照）。このサンプルを用いて前頁の推定代謝経路に記載した代謝物以外の探索を実施したが、新たな代謝物は検出されなかった。

ヒトで認められた前述の代謝物は毒性試験に使用されたラット及びイヌにおいても同様に認められている。

ヒト肝ミクロソーム及びヒトCYP発現系ミクロソームを用いた試験結果から、M5121の代謝には主にCYP3A4が関与しているものと推察された。1日1回7日間ラットに反復皮下投与した試験において、M5121は絶対肝重量、相対肝重量、ミクロソーム蛋白含量、チトクロームb$_5$含量、CYP含量及び肝薬物代謝酵素活性に影響を与えなかった。また、ヒト肝細胞を用いた*in vitro*薬物代謝酵素の誘導試験結果も肝薬物代謝酵素の誘導のないことを示唆している。これとは別にヒトCYP分子種に対する酵素阻害作用を検討したが、M5121は阻害作用を示さなかった。

2.4.3.5 排泄

ラットの正常皮膚に^{14}C-M512101を単回経皮投与し168時間（製剤除去後144時間）までの採取した尿及び糞中の総排泄率は、投与量の1.4%であった。一方、損傷皮膚では27.1%であった。なお、2% M512101を経皮投与した場合のヒト（健康成人）におけるM5121及びその代謝物の尿中累積排泄率の総和は、0.01%以下であった。（2.7.2.2.2.2　健康成人を対象とした臨床薬理試験）。体循環移行後の排泄について調べるため、ラットに^{14}C-M5121を単回皮下及び静脈内投与、イヌに単回静脈内投与した。いずれも投与後48時間までに投与したものがほぼ排泄された。排泄経路が主として糞中であったラットに^{14}C-M5121を1日1回7日間反復皮下投与した際の排泄パターンは、単回投与時と同様であった。胆管カニューレ処置したラットに^{14}C-M5121を単回皮下投与した後の48時間までの胆汁中には投与量の95.2%が排泄された。また、排泄された胆汁の一部を別のラット十二指腸内に注入した際、投与後48時間までの胆汁中に注入量の73.6%、尿中に0.3%が排泄されたことから、胆汁中に排泄された放射能は腸管より再吸収され、主として胆汁中を通って糞中へ排泄され

ることが明らかとなった。

分娩後のラットに^{14}C-M5121を単回皮下投与した後の乳汁には、投与後4時間以降に高い乳汁濃度（血漿中放射能濃度の約2～5倍）が認められた。しかし、投与後72時間の乳汁中の放射能は検出限界未満となったことから、乳汁中に蓄積しないものと考えられた。

2.4.3.6 薬物動態学的薬物相互作用

経皮から全身へのM5121の移行は少ないことが確認されていることと、薬物代謝酵素に影響を及ぼさないことから（「2.4.3.4 代謝」参照）、薬物相互作用の懸念はないと考えられたので薬物相互作用に関する試験は実施しなかった。

2.4.4 毒性試験

毒性試験の一覧表を2.6.7.1に示す。

2.4.4.1 単回投与毒性試験

ラット及びイヌを用いて単回投与毒性試験を行った。経皮投与での概略の致死量（概略の最小致死量）は、いずれの動物種においても80 mg/kgを上回った。

皮下投与での概略の致死量は、ラットでは2000 mg/kgを上回り、イヌでは500 mg/kgを上回った。また、イヌ単回皮下投与毒性試験では、M5121投与液の皮下刺激に対する反応や一過性の活動性低下、流涎及び水様便が認められた。

2.4.4.2 反復投与毒性試験

2.4.4.2.1 ラット反復経皮・皮下投与毒性試験

ラット4週間反復経皮投与毒性試験（20 mg/kg群には1% M512101、40 mg/kg群には2% M512101、80 mg/kg群には4% M512101を投与）では、40 mg/kg群の雄、80 mg/kg群の雌雄で抗菌剤に特徴的な盲腸重量の高値が認められたが、盲腸の病理組織学的検査で異常は認められなかった。また、20 mg/kg以上の群で褐色尿が認められたが、投与期間中に消失する一過性の変化であり、腎臓の病理組織学的検査を含めて腎機能への影響を示唆する変化は認められなかった。無毒性量は80 mg/kgと推察された。

ラット13週間反復経皮投与毒性試験（20 mg/kg群には1% M512101、40 mg/kg群には2% M512101、80 mg/kg群には4% M512101を投与）では、80 mg/kg群の雌で抗菌剤に特徴的な盲腸重量の高値が認められたが、盲腸の病理組織学的検査で異常は認められなかった。また、40 mg/kg以上の群で褐色尿が認められたが、投与期間中に消失する一過性の変化であり、腎臓の病理組織学的検査を含めて腎機能への影響を示唆する変化は認められなかった。回復性試験では、80 mg/kg群の雌で盲腸の絶対重量の高値が認められた。無毒性量は80 mg/kgと推察された。

ラット2週間反復皮下投与毒性試験（10、30及び100 mg/kg）では、投与部局所への影響として、10 mg/kg以上の群で皮下の炎症性変化がみられ、これら投与部局所の炎症性変化に関連した生体反応と考えられる変化として100 mg/kg群の雌で赤血球数、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値の低値、雄でアルブミンの低値、雌雄でフィブリノーゲン量及び血小板数の高値、総蛋白の低値が認められた。全身に及ぼす無毒性量は30 mg/kg、投与部局所に及ぼす無毒性量は10 mg/kgを下回ると推察された。

ラット4週間反復皮下投与毒性試験（1.2、6及び30 mg/kg）では、投与部局所への影響として、6 mg/kg以上の群で皮下の炎症性変化がみられ、これら投与部局所の炎症性変化に関連した生体反応と考えられる変化として30 mg/kg群の雄でフィブリノーゲン量及びα2-グロブリン比率の高値、アルブミンの低値、雌で総蛋白の低値が認められた。また、30 mg/kg群の雄で体重の低値が認められた。全身に及ぼす無毒性量は6 mg/kg、投与部局所に及ぼす無毒性量は1.2 mg/kgと推察された。

ラット13週間反復皮下投与毒性試験（0.6、3及び15 mg/kg）では、投与部局所への影響として、3 mg/kg以上の群で皮下の炎症性変化がみられ、これら投与部局所の炎症性変化に関連した生体反応と考えられる変化として15 mg/kg群の雄で血小板数及びフィブリノーゲン量の高値、雌で総蛋白の低値、アルブミンの低値傾向並びにα2-グロブリン比率の高値が認められた。上記の変化はいずれも4週間の休薬により回復性が認められた。全身に及ぼす無毒性量は3 mg/kg、投与部局所に及ぼす無毒性量は0.6 mg/kgと推察された。

ラット26週間反復皮下投与毒性試験（0.3、1.5及び7.5 mg/kg）では、投与部局所への影響として、0.3 mg/kgの雄、並びに1.5及び7.5 mg/kg群の雌雄で皮下の炎症性変化がみられ、これら投与部局所の炎症性変化に関連した生体反応と考えられる変化として7.5 mg/kg群の雌雄で血小板数の高値、同群の雄でフィブリノーゲン量の高値が認められた。全身に及ぼす無毒性量は雌雄とも1.5 mg/kg、投与部局所に及ぼす無毒性量は雄で0.3 mg/kg未満、雌で0.3 mg/kgと推察された。

ラット反復皮下投与毒性試験では、上記以外に盲腸腔の拡張、盲腸重量の高値、軟便及び褐色尿が認められたが、盲腸や腎臓の病理組織学的検査で異常は認められなかった。

2.4.4.2.2 イヌ反復経皮・皮下投与毒性試験

イヌ4週間反復経皮投与毒性試験及び13週間反復経皮投与毒性試験（20 mg/kg群には1% M512101、40 mg/kg群には2% M512101、80 mg/kg群には4% M512101を投与）並びにイヌ39週間反復経皮投与毒性試験（80 mg/kg群に4% M512101を投与）では、いずれの検査項目においても被験物質投与による影響は認められず、無毒性量は80 mg/kgと推察された。

イヌ2週間反復皮下投与毒性試験（1.25、5及び20 mg/kg）では、投与部局所への影響として、1.25 mg/kg以上の群で皮下の炎症性変化がみられ、投与直後に泣鳴が認められた。また、5 mg/kg以上の群で白血球数、フィブリノーゲン量及び好中球比の高値、アルブミンの低値、20 mg/kg群で血小板数の高値など投与部位の炎症に関連したと考えられる変化が認められた。全身に及ぼす無毒性量は1.25 mg/kg、投与部局所に及ぼす無毒性量は1.25 mg/kgを下回ると推察された。

イヌ4週間反復皮下投与毒性試験（0.2、1及び5 mg/kg）では、投与部局所への影響として、0.2 mg/kg以上の群で皮下の炎症性変化がみられ、投与直後に泣鳴が認められた。また、投与部皮膚に潰瘍が認められた5 mg/kg群の雄の1例で、赤血球数、ヘモグロビン量及びヘマトクリット値の低値、血小板数の高値が認められた。これらの変化は、投与部局所の出血あるいは潰瘍などの炎症性変化に関連した生体の反応と考えられた。全身に及ぼす無毒性量は雄で1 mg/kg、雌で5 mg/kgであり、投与部局所に及ぼす無毒性量は雌雄とも0.2 mg/kgを下回ると推察された。

イヌ13週間反復皮下投与毒性試験（0.1、0.5及び2.5 mg/kg）では、投与部局所への影響として、0.1 mg/kg以上の群で皮下の炎症性変化がみられ、0.5 mg/kg以上の群で投与直後に泣鳴が認められた。また、0.5 mg/kg群の雄で白血球数（好中球数）の高値、2.5 mg/kg群の雌雄で白血球数（好中球数）の高値及びフィブリノーゲン量の高値が認められた。これらの変化は、投与部局所の炎症性変化に関連した生体の反応と考えられた。また、これらの炎症性変化に関連した二次的な変化

として、2.5 mg/kg群の雌雄で大腿骨及び胸骨骨髄の造血細胞増加が認められた。上記の変化はいずれも4週間の休薬により回復性が認められた。全身に及ぼす無毒性量は雄で0.1 mg/kg、雌で0.5 mg/kgであり、投与部局所に及ぼす無毒性量は雌雄とも0.1 mg/kgを下回ると推察された。

2.4.4.3 遺伝毒性試験

細菌を用いる復帰突然変異試験、ラット肝細胞不定期DNA合成試験及びMuta^{TM}マウスを用いる遺伝子突然変異試験の結果は、いずれも陰性であった。MLA及びCHL/IU細胞を用いる染色体異常試験で、LVFXやシタフロキサシンと同様に高濃度の処理により染色体異常誘発作用が認められたが、*in vivo*のラット骨髄小核試験及びラット皮膚小核試験は陰性であった。

以上の試験結果より、M5121が生体内で遺伝毒性を示す可能性は低いと考えられた。

2.4.4.4 がん原性試験

M5121の臨床使用期間は12週以内であること、遺伝毒性を示す可能性は低いこと、更に、ラット及びイヌの長期間反復投与毒性試験ではいずれの器官及び組織にも前がん病変は認められなかったことから、がん原性試験は実施しなかった。

2.4.4.5 生殖発生毒性試験

ラット受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験（皮下投与：1.2、6及び30 mg/kg）では、1.2 mg/kg以上の群の雌雄で褐色尿、6 mg/kg以上の群の雌雄で盲腸腔の拡張、30 mg/kg群の雌雄で体重の増加抑制傾向を示し、投与初期には摂餌量の低値が認められた。親動物の生殖能及び初期胚発生に及ぼすM5121投与の影響は認められなかった。

ラット胚・胎児発生への影響に関する試験（皮下投与：3、10及び30 mg/kg）では、母動物に及ぼす影響として、3 mg/kg以上の群で褐色尿、30 mg/kg群で体重の増加抑制傾向並びに摂餌量の低値が認められ、胚・胎児では、母動物の栄養不良に起因すると考えられるわずかな化骨進行度の遅延が第5及び第6胸椎にみられたが、胚・胎児に催奇形性を疑わせる異常所見はなかった。

ウサギ胚・胎児発生への影響に関する試験（皮下投与：1、3及び10 mg/kg）では、母動物に及ぼす影響として、3 mg/kg以上の群で褐色尿、10 mg/kg群で体重の増加抑制傾向並びに摂餌量の低値が認められた。胚・胎児に催奇形性を疑わせる異常所見はなかった。

ラット出生前及び出生後の発生並びに母動物の機能に関する試験（皮下投与：3、10及び30 mg/kg）では、F_0母動物に及ぼす影響として、10 mg/kg以上の群で盲腸腔の拡張、30 mg/kg群で体重の増加抑制並びに摂餌量の低値が認められた。F_0母動物の分娩及び哺育状態は各群とも良好であり、妊娠期間、着床痕数、出産児数及び出産率においても、M5121投与の影響は認められなかった。F_1出生児及びF_2初期胚発生についても、M5121投与の影響は認められなかった。

2.4.4.6 局所刺激性試験

臨床使用濃度の2% M512101、その2倍濃度の4% M512101及びプラセボを用いて、ウサギ皮膚一次刺激性試験、ウサギ皮膚累積刺激性試験、イヌ皮膚累積刺激性試験（39週間反復経皮投与毒性試験の中で皮膚反応を評価）及びウサギ眼粘膜一次刺激性試験を実施した。皮膚一次刺激性は2及び4% M512101のいずれも「弱い刺激物」に分類された。ウサギあるいはイヌに、14日間あるいは39週間連続投与した皮膚累積刺激性試験の皮膚反応は、2及び4% M512101のいずれも軽微であった。眼粘膜一次刺激性試験では、2及び4% M512101のいずれも眼刺激性は認められなかった。

2.4.4.7 その他の毒性試験

2.4.4.7.1 抗原性試験

モルモットを用いる能動的全身性アナフィラキシー試験及び同種受身皮膚アナフィラキシー試験のいずれの試験結果も陰性であった。

2.4.4.7.2 その他の試験

2.4.4.7.2.1 皮膚感作性試験

モルモットを用いる皮膚感作性試験（Adjuvant and Patch test）では、2及び4% M512101のいずれも陰性であった。

2.4.4.7.2.2 光毒性試験

Balb/3T3 clone A31を用いる*in vitro*光毒性試験、モルモットを用いる光毒性試験（*in vivo*）を実施した。その結果、M5121は*in vitro*試験系で光毒性を誘発させたが、その作用はNDFXよりも弱いものであった。一方、*in vivo*試験系では、2及び4% M512101のいずれも陰性であった。

2.4.4.7.2.3 皮膚光感作性試験

モルモットを用いる皮膚光感作性試験（Adjuvant and Strip法）では、2及び4% M512101のいずれも陰性であった。

2.4.4.7.2.4 光染色体異常試験

M5121の光遺伝毒性を検討するために、ほ乳類培養細胞を用いる光染色体異常試験を実施した。その結果、M5121には光染色体異常誘発性は認められなかった。

2.4.4.7.2.5 関節毒性試験

3カ月齢の幼若イヌにM5121を1.25、5及び20 mg/kgの用量で1日1回、1週間、背部に反復皮下投与した試験において、肩、肘、手根、股、膝及び足根の関節軟骨に変化は認められなかった。

規格に基づくと、原薬あるいは、製剤に含まれるすべての類縁物質含量は、安全性の確認が必要な閾値未満であったため、類縁物質に関して安全性を確認するための毒性試験は実施しなかった。

2.4.5 総括及び結論

2.4.5.1 M5121の有効性に関する考察

新規キノロン系合成抗菌化合物であるM5121は、各種好気性及び通性嫌気性のグラム陽性菌とグラム陰性菌、並びに偏性嫌気性のグラム陽性菌とグラム陰性菌に対して強い抗菌作用と幅広い抗菌スペクトルを示した。

キノロン系抗菌薬は、細菌のDNA複製に必要な酵素であるDNAジャイレース及びトポイソメラーゼIVを阻害することにより抗菌作用を発揮すると考えられている[1), 2), 3)]。M5121は、DNAジャイレース及びトポイソメラーゼIVを選択的に阻害し、その阻害作用はNDFXより強かった。一方、細菌はこれらの酵素のサブユニットを構成するGyrA、GryB、ParC（GrlA）又はParE（GrlB）のQRDRにアミノ酸変異を獲得することにより、キノロン系抗菌薬に耐性化することが知られてい

る[4]。M5121は、DNAジャイレース及びトポイソメラーゼIVのQRDRにアミノ酸変異を有するLVFX耐性*S. aureus*に対して、NDFXより強い抗菌作用を示した。

M5121は、尋常性ざ瘡又は表在性皮膚感染症患者から分離された*P. acnes*、*S. aureus*、*S. epidermidis*及びその他のCNSに対して、NDFX、CLDM及びその他の対照抗菌薬と同程度又はそれ以上に強い抗菌作用を示した。また、M5121は、MSSA、MRSA及び*S. pyogenes*の皮膚由来臨床分離菌株に対して、NDFX、CLDM及びその他の対照抗菌薬と同程度又はそれ以上の強い抗菌作用を示した。

M5121の*P. acnes*、MRSAを含む*S. aureus*及び*S. epidermidis*に対するMICとMBCはほぼ一致し、その抗菌作用様式は殺菌的であった。また、*P. acnes*及び*S. aureus*に対して、M5121はNDFX及びCLDMと同程度又はそれ以上の強い殺菌作用を示した。

更に、*P. acnes*及び*S. aureus*のM5121に対する耐性化の可能性を予測するために実施した自然耐性菌出現頻度は10^{-8}未満であり、NDFX及びCLDMに対する頻度と同様に低率であった。また、M5121に対する*P. acnes*及び*S. aureus*の試験管内耐性獲得試験において28回の継代後のMIC上昇は2倍であり、NDFX及びCLDMと同様にMIC上昇は軽度であった。

P. acnes、*S. epidermidis*及びMRSAを含む*S. aureus*によるマウス皮膚感染症モデルにおいて、1又は2% M512101の経皮投与は皮膚中生菌数を有意に減少させ、その生菌数減少効果は同効類薬である1% NDFXローション及び1% CLDMゲルよりも強かった。

以上、M5121及びM512101は表在性皮膚感染症や尋常性ざ瘡の病態に関与するMRSAを含む*S. aureus*、*S. epidermidis*、*S. pyogenes*及び*P. acnes*に対して既存の同効類薬と同程度又はそれ以上に強い*in vitro*及び*in vivo*抗菌作用を示し、本薬剤の表在性皮膚感染症及び尋常性ざ瘡に対する有効性が示唆された。

2.4.5.2 M5121の薬物動態に関する考察

ヒト皮膚を用いてM5121の*in vitro*皮膚透過性を検討した結果、累積透過量及び皮膚中放射能量を合わせた吸収率は、塗布量の1%～2%程度であり、M512101を経皮投与したときの全身への移行は少ないことが示唆された。一方で、皮膚中M5121濃度は約80 μg/g（放射能濃度0.08 μg eq./mgから概算）と計算され、*P. acnes*、*S. epidermidis*及び*S. aureus*の臨床分離株に対するMIC_{90}（0.125 μg/mL以下）の約640倍に相当する。したがって、皮膚中のM5121は十分な有効濃度を有するとみなされる。ラットに^{14}C-M512101を単回経皮投与した際の皮膚ミクロオートラジオグラムは、表皮以下の各層への放射能は少ないことを示した。

ラットに^{14}C-M5121を単回皮下投与した際、放射能は主として肝臓、腎臓、胃、小腸及び大腸などの代謝・排泄に関わる組織に分布し、それ以外の組織中放射能濃度はいずれの時点においても血漿中放射能濃度と同程度以下の値を示した。また、反復した際の全身への放射能の分布は単回投与時のそれと同様であった。反復投与の結果はM5121が蓄積性の乏しい化合物であることを示唆した。ただし、有色ラットにおける試験結果は^{14}C-M5121由来の放射能が眼球に多く分布し、その消失速度も他の組織に比べ緩慢であることを示した。これは眼球内成分であるメラニンとの親和性をうかがわせるが、*in vitro*での他のキノロン系抗菌薬との比較試験から、M5121のメラニン親和性はそれらと同程度であることが確認された。

*In vitro*代謝試験結果は、M5121の代謝に明らかな種差がないことを示した。また、経皮投与した際、皮膚中には未変化体であるM5121のみが検出された。ヒト皮膚細胞を用いた代謝試験でもM5121はほとんど代謝されなかった。このことから、M5121は皮膚では代謝されないものと考え

られた。

ヒトCYP分子種に対する酵素阻害作用を検討した結果、M5121にはすべての分子種に対し阻害作用を示さなかった。また、ラットにM5121を7日間反復皮下投与しても肝薬物代謝酵素活性に影響を与えなかった。ヒト肝細胞を用いた試験において、M5121は肝薬物代謝酵素を誘導しなかった。これらのことから、臨床上M5121が薬物代謝酵素を阻害・誘導する可能性は低いと考えられた。

^{14}C-M5121を投与後、動物種（ラット及びイヌ）、性及び投与経路（皮下及び静脈内）を問わず、放射能の大部分が糞中に排泄された。また、ラットにおいて腸肝循環の関与が示された。

2.4.5.3 臨床での安全使用に関する考察

臨床投与経路である13週間反復経皮投与毒性試験では、ラット及びイヌのすべての薬剤投与群に毒性兆候は観察されなかった。一方、全身の暴露量を上げるために実施したラット13週間反復皮下投与毒性試験では、投与部局所への影響として、3 mg/kg以上の群で皮下の炎症性変化（出血及び肉芽腫性炎）がみられた。これら投与部局所の炎症性変化に関連した生体反応と考えられる変化として15 mg/kg群の雄で血小板数及びフィブリノーゲン量の高値、雌で総蛋白の低値、アルブミンの低値傾向並びにα2-グロブリン比率の高値が認められた。ラットの無毒性量（3 mg/kg）のC_{max}と、ヒト（患者）の臨床薬理試験（2% M512101を1日1回、適量、4週間）の平均暴露量あるいは最高値との比は、それぞれ646-679倍及び182-191倍であった。また、イヌの13週間反復皮下投与毒性試験の無毒性量（雄：0.1 mg/kg、雌：0.5 mg/kg）のC_{max}と、ヒト（患者）の臨床薬理試験の平均暴露量あるいは最高値との比は、それぞれ17-53倍及び5-15倍であった。

また、他のキノロン系抗菌薬では中枢神経症状、心血管系に対する影響、関節炎、光線過敏症、遺伝毒性、眼毒性及び膵毒性、更に、抗菌薬の一般的な毒性として消化管に対する影響が報告されている[5), 6), 7), 8), 9), 10), 11)]。そこで、M5121の非臨床試験で得られた成績を基に、臨床での安全使用について考察した。

2.4.5.3.1 中枢神経系に対する影響

ラットを用いた中枢神経系に対する試験（安全性薬理試験）では、中枢神経系作用を疑わせる症状は観察されなかった。マウスに脳室内投与し痙攣誘発作用を検討したところ、M5121の痙攣誘発用量はNFLXに比べ明らかに高用量を必要とした。イヌ単回皮下投与毒性試験においては、一過性の活動性低下や流涎が認められたが、これらは泣鳴や旋回といった行動異常を伴っていた。このことから活動性低下や流涎はM5121投与液の皮下投与による刺激による変化と考えられた。また、M5121は非ステロイド性抗炎症薬存在下で痙攣誘発を増強させなかった。更に、痙攣誘発に関連するGABA受容体を用いた試験においても、M5121は10^{-4} mol/L（36 μg/mL、ヒトにおける推定脳内M5121濃度（ヒトの臨床薬理試験における最高の血漿中濃度並びにラットの脳／血漿濃度比から推定）の約150000倍）までGABA受容体結合に対する阻害作用を示さなかった。

以上より、M5121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。

2.4.5.3.2 心血管系に対する影響（血圧、心拍数、QTcの延長）

CHO-K1細胞を用いた試験で、M5121は10 μmol/L（3.6 μg/mL）までhERGチャネル電流に影響を

与えず、イヌ単回皮下投与によるテレメトリー試験（安全性薬理試験）においても、M5121は20 mg/kgまでQT間隔を延長させなかった。また、イヌを用いる39週までの反復投与による一般毒性試験では、いずれの投与経路及び用量においても心血管系に対する影響は認められなかった。以上より、M5121の臨床使用において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。

2.4.5.3.3 関節への影響

幼若イヌに20 mg/kgまでの用量を1週間皮下投与したが、関節軟骨に異常所見は認められなかった。また、ラットを用いる26週までの反復投与試験並びにイヌを用いる39週までの反復投与試験では、いずれの投与経路及び用量においても関節軟骨に異常は認められなかった。

以上より、M5121の臨床使用において関節への影響が発現する可能性は低いと考えられた。

2.4.5.3.4 光線暴露の影響

*In vitro*光毒性試験では、M5121は0.781 μg/mL以上で光毒性誘発作用を示したが、その作用はNDFXよりも弱いものであった。また、M5121は、*in vitro*光染色体異常試験、モルモットを用いた皮膚光毒性及び皮膚光感作性試験のいずれの試験においても陰性結果が得られた。

以上より、M5121の光安全性に関するリスクは、低いものと考えられた。

2.4.5.3.5 遺伝毒性

細菌を用いる復帰突然変異試験、ラット肝細胞不定期DNA合成試験及びMuta^{TM}マウスを用いる遺伝子突然変異試験の結果は、いずれも陰性であった。MLA及び染色体異常試験で、高濃度の処理により染色体異常誘発作用が認められたが、*in vivo*のラット骨髄小核試験及びラット皮膚小核試験の結果は陰性であった。

以上より、M5121が生体内で遺伝毒性を示す可能性は低いものと考えられた。

2.4.5.3.6 眼に対する影響

キノロン系抗菌薬は、一般にメラニンへの親和性が強く網膜障害が懸念されるため、イヌを用いる39週までの反復投与試験に、網膜電位図検査を含む眼科学的検査及び病理組織学的検査を組み込んで検討した。その結果、眼毒性を示唆する所見はみられなかった。

以上より、M5121の臨床使用において眼に対する影響が発現する可能性は低いと考えられた。

2.4.5.3.7 膵臓への影響

ラットを用いる26週までの反復投与試験並びにイヌを用いる39週までの反復投与試験では、いずれの投与経路及び用量においても血糖値への影響はみられておらず、膵臓の病理組織学的検査でも異常はみられなかった。

以上より、M5121の臨床使用において膵臓への影響が発現する可能性は低いと考えられた。

2.4.5.3.8 消化管に対する影響

ラットを用いる試験では、いずれの投与経路においてもM5121の消化管内の細菌叢の変化に伴う所見（軟便あるいは、盲腸腔の拡張（重量増加））が認められたが、投与期間を延長しても重篤化することはなく、盲腸の病理組織学的検査でも異常は認められなかった。また、イヌを用いる

試験では、いずれの投与経路及び用量においても消化管への影響は認められなかった。

以上より、M5121の臨床使用において重篤な消化管に対する影響が発現する可能性は低いと考えられた。

2.4.5.3.9 妊婦又は妊娠している可能性のある婦人への影響

ラットを用いる受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験及び出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験で、雌雄の受胎能、母体の生殖能力、並びに胎児及び出生児にM5121投与の影響はみられなかった。ラットを用いる胚・胎児発生に関する試験では、30 mg/kg群で母動物に体重増加の抑制傾向、並びに摂餌量の低値がみられ、胚・胎児では、第5及び第6胸椎の化骨進行度がわずかに遅延し発育抑制がみられたが、異常所見（催奇形性）はみられなかった。更に、ウサギを用いる胚・胎児発生に関する試験においても催奇形性はみられなかった。

しかし、妊娠ラットでM5121の胎児への移行が確認されていること（2.6.4.4.4 胎盤・胎児移行性）、妊娠又は妊娠している可能性のある婦人に対する使用経験がなく、ヒトの妊娠中の投与に関する安全性が確立されていないことより、添付文書の妊婦、産婦、授乳婦等への投与の項目にて注意喚起することとした。

2.4.5.3.10 授乳婦への影響

ラットでM5121は乳汁中へ移行することが確認されており（2.6.4.6.2 乳汁排泄）、授乳により新生児に移行する可能性があることから、添付文書の妊婦、産婦、授乳婦等への投与の項目にて注意喚起することとした。

2.4.5.4 結論

以上、M5121及びM512101は、MRSAを含む*S. aureus*、*S. epidermidis*、*S. pyogenes*及び*P. acnes*に対して既存のキノロン系抗菌薬と同程度又はそれ以上に強い抗菌作用を示した。また、M512101の経皮投与では、全身への移行が少なく、ほとんどが皮膚中で長時間、未変化体として存在することが明らかとなった。また、M512101は、既存のキノロン系抗菌薬と比べて、同等かそれ以上の安全性を示すことが確認された。

これら非臨床試験の成績は、有効性及び安全性の両面から、M512101が表在性皮膚感染症及び尋常性ざ瘡の治療に用いる外用抗菌剤として既存の抗菌薬剤と同程度あるいはより優れていることを示唆している。

2.4.6 参考文献

1) Drlica K, Zhao X. DNA gyrase, topoisomerase IV, and the 4-quinolones. Microbiol Mol Biol Rev 1997; 61: 377-392.
2) Ferrero L, Cameron B, Manse B, Lagneaux D, Crouzet J, Famechon A, et al. Cloning and primary structure of *Staphylococcus aureus* DNA topoisomerase IV: a primary target of fluoroquinolones. Mol Microbiol 1994; 13: 641-653.
3) Hane MW, Wood TH. *Escherichia coli* K-12 mutants resistant to nalidixic acid: genetic mapping and dominance studies. J Bacteriol 1969; 99: 238-241.
4) 平井敬二. キノロン系薬の作用機序と耐性機構研究の歴史. 日化療会誌 2005; 53: 349-356.
5) Ball P. Adverse reactions and interactions of fluoroquinolones. Clin Invest Med 1989; 12: 28-34.
6) Stahlmann R, L ode H. Safety overview. The quinolones (3rd edition). Edited by Andriole VT. San

Diego: Academic Press; 2000. 397-453.
7) シプロキサン注，インタビューフォーム第23版，バイエル薬品株式会社．2012
8) ガチフロ点眼液，インタビューフォーム第7版，千寿製薬株式会社．2011
9) Takayama S, Hirohashi M, Kato M, Shimada H. Toxicity of Quinolone Antimicrobial Agents. Journal of Toxicological and Environmental Health 1995; 45: 1-45.
10) アベロックス錠，インタビューフォーム第11版，バイエル薬品株式会社．2012
11) スオード錠，インタビューフォーム第10版，Meiji Seikaファルマ株式会社．2011