# コムレクス耳科用液 1.5%

第 2 部（モジュール 2）：CTD の概要（サマリー）

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.6 毒性試験の概要文

セオリアファーマ株式会社

## 目次

2.6.6 毒性試験の概要文 ..... 4
2.6.6.1 まとめ ..... 4
2.6.6.1.1 概要 ..... 4
2.6.6.2 レボフロキサシン水和物（ENT103）の中耳腔内投与による 聴器毒性試験 ..... 8
2.6.6.2.1 生死の確認、一般状態の観察、体重測定 ..... 8
2.6.6.2.2 聴性脳幹反応（ABR） ..... 8
2.6.6.2.3 内耳及び中耳の病理組織学的検査 ..... 9
2.6.6.2.4 蝸牛有毛細胞病理組織学的検査（[redacted]顕微鏡） ..... 10
2.6.6.2.5 まとめ ..... 10
2.6.6.3 レボフロキサシン水和物の毒性試験（文献報告） ..... 11
2.6.6.3.1 単回投与毒性試験 ..... 11
2.6.6.3.2 反復投与毒性試験（トキシコキネティクス評価を含む） ..... 12
2.6.6.3.3 遺伝毒性試験 ..... 12
2.6.6.3.4 がん原性試験 ..... 13
2.6.6.3.5 生殖発生毒性試験 ..... 14
2.6.6.3.6 局所刺激性試験 ..... 15
2.6.6.3.7 抗原性試験 ..... 15
2.6.6.3.8 その他の毒性試験 ..... 15
2.6.6.4 オフロキサシン耳科用液の聴器毒性試験（参考） ..... 18
2.6.6.4.1 中耳腔内投与 ..... 18
2.6.6.4.2 鼓室内投与 ..... 18
2.6.6.5 考察及び結論 ..... 19
2.6.6.6 図表 ..... 19
2.6.6.7 参考文献 ..... 20

## 表一覧

表 2.6.6.1.1-1 レボフロキサシン水和物（ENT103）の毒性試験一覧 ..... 4
表 2.6.6.1.1-2 レボフロキサシン水和物（経口剤）の文献報告による毒性試験一覧（1/2） 5
表 2.6.6.1.1-3 オフロキサシン（タリビッド®耳科用液）の文献報告に基づいた毒性試験 .. 7
表 2.6.6.2.2-1 ABR 閾値 ..... 9
表 2.6.6.3.1-1 単回投与毒性試験の $LD_{50}$ ..... 11
表 2.6.6.3.8-1 レボフロキサシン水和物とフェンブフェンの投与量 ..... 16

**略号一覧**

| 略号 | 略していない表現又は説明 | |
|---|---|---|
| | 英名 | 和名 |
| ABR | auditory brainstem response | 聴性脳幹反応 |
| Alum. | aluminium hydroxide gel | 水酸化アルミニウムゲル |
| AUC | area under the (plasma) concentration-time curve | （血漿中）濃度－時間曲線下面積 |
| $AUC_{0\text{-}inf}$ | area under the (plasma) concentration-time curve from time zero to infinity | 投与後 0～無限大時間までの（血漿中）濃度－時間曲線下面積 |
| $AUC_{0\text{-}24h}$ | area under the (plasma) concentration-time curve from time zero to 24h | 投与後 0～24 時間までの（血漿中）濃度－時間曲線下面積 |
| $C_{max}$ | maximum (plasma) concentration | 最高（血漿中）濃度 |
| CMC | carboxymethyl cellulose | カルボキシメチルセルロース |
| DNA | deoxyribonucleic acid | デオキシリボ核酸 |
| FCA | Freund's complete adjuvant | フロイント完全アジュバント |
| FEN | fenbufen | フェンブフェン |
| GLP | Good Laboratory Practice | 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準 |
| $LD_{50}$ | 50% lethal dose | 50%致死量 |
| PCA | passive cutaneous anaphylaxis | 受動的皮膚アナフィラキシー |
| SCE | sister chromatid exchange | 姉妹染色分体交換 |
| SD | standard deviation | 標準偏差 |
| $t_{max}$ | time to maximum (plasma) concentration | 最高（血漿中）濃度到達時間 |
| $t_{1/2}$ | elimination half life | 消失半減期 |
| UDS | unscheduled DNA synthesis | 不定期 DNA 合成 |

## 2.6.6　毒性試験の概要文

### 2.6.6.1　まとめ

セオリアファーマ株式会社において、レボフロキサシン水和物の中耳腔内投与による聴器毒性試験を行い、聴性脳幹反応（ABR）検査、内耳及び中耳の病理組織学的検査並びに蝸牛有毛細胞の[redacted]顕微鏡検査で評価した。その他、レボフロキサシン水和物及びオフロキサシンを用いた毒性試験は実施していないため、参考として、レボフロキサシン水和物経口剤（クラビット®）及びオフロキサシン（タリビッド®耳科用液）の開発時に行われた毒性試験の文献報告について記載する。

#### 2.6.6.1.1　概要

レボフロキサシン水和物（ENT103）を中耳腔内投与時の聴器毒性試験（4.2.3.2.1）の結果の要約を表 2.6.6.1.1-1 に、レボフロキサシン水和物経口剤（クラビット®）及びオフロキサシン（タリビッド®耳科用液）の文献報告に基づいた毒性試験の結果の要約を、それぞれ表 2.6.6.1.1-2 及び表 2.6.6.1.1-3 に示した。

**表 2.6.6.1.1-1　レボフロキサシン水和物（ENT103）の毒性試験一覧**

| 試験の種類 | 動物種/系統<br>試験系 | 投与方法・投与期間<br>処理方法 | 投与量 | GLP 適用 |
|---|---|---|---|---|
| 聴器毒性試験 | モルモット／<br>Hartley（雄）<br>各 10 例 | 中耳腔内・1 日 1 回・10 日間 | 0、1.5、3.0、6.0%レボフロキサシン水和物、<br>4%ゲンタマイシン、<br>100 µL | 非適 |

備考: Good Laboratory Practice (GLP)

表 2.6.6.1.1-2　レボフロキサシン水和物（経口剤）の文献報告による毒性試験一覧（1/2）

| 試験の種類 | 動物種/系統<br>試験系 | 投与方法・<br>投与期間<br>処理方法 | 投与量 | 結果 | 文献 |
|---|---|---|---|---|---|
| 単回投与毒性 | マウス／ddY<br>（雌雄）各 10 例 | 経口・単回 | 1229～3750 mg/kg | $LD_{50}$ 値; ♂1881 mg/kg<br>♀1803 mg/kg | 1) |
| | ラット／SD<br>（雌雄）各 10 例 | 経口・単回 | 983～3000 mg/kg | $LD_{50}$ 値; ♂1478 mg/kg<br>♀1507 mg/kg | |
| | カニクイザル<br>（雌）2 例 | 経口・単回 | 250、500 mg/kg | $LD_{50}$ 値; ♀> 250 mg/kg | |
| 反復投与毒性<br>（4 週間投与） | ラット／CD<br>（雌雄）各 10 例 | 経口・4 週 | 50、200、800 mg/kg/日 | 無毒性量; 200 mg/kg/日 | 2) |
| | カニクイザル<br>（雌雄）各 3 例 | 経口・4 週 | 10、30、100 mg/kg/日 | 無毒性量; 30 mg/kg/日 | |
| 反復投与毒性<br>（26 週間投与） | ラット／CD<br>（雌雄）各 20 例 | 経口・26 週 | 20、80、320 mg/kg/日 | 無毒性量; 20 mg/kg/日 | 3) |
| | カニクイザル<br>（雌雄）各 4 例 | 経口・26 週 | 10、25、62.5 mg/kg/日 | 無毒性量; 62.5 mg/kg/日 | |
| 遺伝毒性 | | | | | 4) |
| 復帰突然変異試験 | ネズミチフス菌 | 直接法<br>代謝活性化法 | 0.0016～0.1 μg/plate | 陰性 | |
| | 大腸菌 | 直接法<br>代謝活性化法 | 0.008～0.5 μg/plate | 陰性 | |
| 前進突然変異試験 | CHO-K1 細胞 | 直接法<br>代謝活性化法 | 375、750、1500 μg/mL | 陰性 | |
| 染色体異常試験 | CHL 細胞 | 直接法<br>代謝活性化法 | 50～4000 μg/mL | 連続処理法（24、48 時間）の代謝活性化処理なしで染色体異常を有する細胞の増加 | |
| 小核試験 | マウス／ddY | 腹腔内・単回<br>腹腔内・5 日間 | 150、300、600 mg/kg<br>100、200、400 mg/kg | 陰性 | |
| 姉妹染色分体交換（SCE）試験 | CHL 細胞 | 直接法<br>代謝活性化法 | 50～300 μg/mL<br>125～1000 μg/mL | 陽性 | |
| | マウス／ddY | 腹腔内・単回 | 150、300、600 mg/kg | 陰性 | |
| 不定期 DNA 合成（UDS）試験 | ラット／F344/N | 経口・単回 | 300、600 mg/kg | 陰性 | |
| 優性致死試験 | マウス／$BDF_1$ | 腹腔内・5 日間 | 30、90、270 mg/kg | 陰性 | |
| がん原性試験 | ラット／<br>F344/DuCrj<br>（雄）15～16 例 | 経口・16 週 | 0.9%<br>（平均; 667.8 及び 623.4 mg/kg/日） | 陰性 | 5) |

$LD_{50}$: 50%致死量、DNA: デオキシリボ核酸
備考: 文献中に GLP 適用の情報なし

表 2.6.6.1.1-2　レボフロキサシン水和物（経口剤）の文献報告による毒性試験一覧（2/2）

| 試験の種類 | 動物種/系統<br>試験系 | 投与方法・<br>投与期間<br>処理方法 | 投与量 | 結果 | 文献 |
|---|---|---|---|---|---|
| 生殖発生毒性試験 | | | | | 6) |
| 妊娠前及び妊娠初期投与試験（Seg.1） | ラット／SD<br>（雌雄）各 24 例 | 雌：経口・妊娠前 2 週～妊娠初期<br>雄：経口・妊娠前 9 週～交配 | 10、60、360 mg/kg/日 | 無毒性量;<br>親動物<br>一般毒性: 10 mg/kg/日<br>生殖能: 360 mg/kg/日<br>胚・胎児: 360 mg/kg/日 | |
| 器官形成期投与試験（Seg.2） | ラット／SD<br>（雌）36 例 | 経口・胎児器官形成期（妊娠 7 日～17 日） | 10、90、810 mg/kg/日 | 無毒性量;<br>親動物: 10 mg/kg/日<br>胎児・出生児: 90 mg/kg/日 | |
| | ウサギ／NZW<br>（雌）16 例 | 経口・胎児器官形成期（妊娠 6 日～18 日） | 5、16、50 mg/kg/日 | 無毒性量;<br>親動物: 5 mg/kg/日<br>胎児: 50 mg/kg/日 | |
| 周産期及び授乳期投与試験（Seg.3） | ラット／SD<br>（雌）24 例 | 経口・周産期及び授乳期（妊娠 17 日～産後 21 日） | 10、60、360 mg/kg/日 | 無毒性量;<br>親動物: 10 mg/kg/日<br>出生児: 360 mg/kg/日 | |
| その他の毒性試験 | | | | | |
| 抗原性 | モルモット／Hartley<br>（雌）5 又は 10 例 | 経口・3 回/週 × 4<br>腹腔内・3 回/週 × 4<br>皮下・1 回/2 週 × 3（+ FCA） | 10、100 mg/kg<br>4、40 mg/kg<br>2、20 mg/kg | 免疫原性及びアレルギー誘発原性なし | 7) |
| | マウス／Balb/c<br>（雌）10 例 | 腹腔内・<br>1 回/3 週 × 2（+ Alum.） | 1、10、100 mg/kg | 免疫原性なし<br>アレルギー誘発原性;<br>40 mg/kg 誘発で 3/10 例陽性 | |
| | ウサギ／NZW<br>（雌）3 又は 5 例 | 皮下・1 回/2 週 × 3（+ FCA） | 2、20 mg/kg | 免疫原性及びアレルギー誘発原性なし | |
| 腎毒性試験 | ウサギ／NZW<br>（雄）4 例 | 経口・10 日間 | 30、120 mg/kg | 腎の機能及び形態学変化なし | 8) |
| 聴器毒性試験 | ラット／Crl:BR(Long Evans<br>（雌雄）各 6 例 | 経口・2 週間 | 100 mg/kg | 聴器機能及び病理組織学的変化なし | 9) |
| 光毒性試験 | マウス／Balb/c<br>（雌）6 例 | 経口・単回<br>（紫外線 A 波を 4 時間照射） | 200、800 mg/kg | 800 mg/kg 群で耳介厚の有意な増加あり | 10) |
| フェンブフェンとの相互作用 | マウス／ddY<br>（雄）6 例 | 経口・単回 | 400、800 mg/kg<br>(FEN; 200、400 mg/kg) | 高用量併用群 (800 mg/kg と FEN 400 mg/kg) で死亡例が 2/6 例であった。 | 11) |

FCA; Freund's complete adjuvant（フロイント完全アジュバント）
Alum.; 水酸化アルミニウムゲル
FEN: fenbufen（フェンブフェン）
備考: 文献中に GLP 適用の情報なし

**表 2.6.6.1.1-3　オフロキサシン（タリビッド®耳科用液）の文献報告に基づいた毒性試験**

| 試験の種類 | 動物種/系統<br>試験系 | 投与方法・<br>投与期間<br>処理方法 | 投与量 | 結果 | 文献 |
|---|---|---|---|---|---|
| 聴器毒性試験 | モルモット a)<br>／Hartley | 中耳腔内<br>7 日間 | オフロキサシン<br>0.3%、0.5%<br>溶解液 | ABR の閾値<br>いずれの群でも有意な変動は認められなかった。<br>蝸牛有毛細胞の組織学的所見<br>内外有毛細胞に変性は認められなかった。<br>中耳腔の組織学的所見<br>様々な所見が観察されたが、鼓膜穿孔の外科的処置による影響で自然感染による中耳炎を起こしたとされた。 | 12) |
| 聴器毒性試験 | モルモット b) | 鼓室内<br>10 日間 | オフロキサシン<br>0.5%<br>ゲンタマイシン<br>4%<br>対照液 | オフロキサシン群<br>ABR 及び蝸牛有毛細胞の走査型電子顕微鏡検査で異常は認められなかった。<br>ゲンタマイシン群<br>蝸電図所見（ABR）の聴力閾値の上昇が認められた。また、蝸牛有毛細胞の内外有毛細胞で配列の乱れや消失が認められた。 | 13) |

a) 性別の記載なし、b) 性別、系統の記載なし
備考: 文献中に GLP 適用の情報なし

## 2.6.6.2　レボフロキサシン水和物（ENT103）の中耳腔内投与による聴器毒性試験

……4.2.3.2.1

5 週齢の雄 Hartley モルモット（n=10）にレボフロキサシン水和物の 0%（溶媒）、1.5%、3.0%、6.0%溶液及び 4.0%ゲンタマイシン溶液（陽性対照）を 1 日 1 回、10 日間中耳腔内投与した。レボフロキサシン水和物溶液は、[redacted]と同様の添加物を用いて調製した。投与方法は、イソフルラン吸入麻酔下で内視鏡（[redacted]）を用いて、モルモット左耳に 30 G 注射針で鼓膜に穿孔し、各溶液 100 μL を中耳腔内投与した。

生死の確認、一般状態の観察、体重測定、ABR 検査（投与前、投与 11 日目及び投与 14 日目）、内耳及び中耳の病理組織学的検査並びに蝸牛有毛細胞の[redacted]顕微鏡検査を行った。

投与量設定の根拠は以下のとおりであった。レボフロキサシン水和物は、ヒトにおける局所製剤の最大臨床濃度の 1.5%を低用量群とし、レボフロキサシン水和物の溶解性を鑑みて、公比 2 により 3.0%及び 6.0%を中及び高用量群の投与液濃度とした。ゲンタマイシン硫酸塩は、聴覚脳幹反応の閾値上昇と外有毛細胞の障害が期待できる投与液濃度として 4.0%とした。投与容量は、モルモットの中耳腔の容積等を鑑みて、0.1 mL/body に設定した。

### 2.6.6.2.1　生死の確認、一般状態の観察、体重測定

レボフロキサシン水和物 3.0%溶液群の 10 例中 4 例で死亡を認めた。これらは、3 日目の麻酔覚醒確認時（投与 2 時間後）に 2 例、5 日目の投与 15 分後及び 20 分後（麻酔中）に 2 例の死亡であった。麻酔時に死亡例が散見したため、麻酔導入、投与、動物モニタリング、覚醒確認を徹底した。レボフロキサシン水和物 3.0%溶液群では、投与 6 日目以降に特記すべき異常所見は認めなかった。

レボフロキサシン水和物 6.0%溶液群の 10 例中 1 例で死亡を認めた。7 日目の投与 10 分後（麻酔中）に痙攣を認め、20 分後に死亡した。また、1 例で 7 日目の投与 15 分後（麻酔中）に痙攣を認め、1 時間後に重度の自発活動低下を認めたが、5.5 時間後に回復した。本動物については、8～10 日目の投与時に異常所見はなく、試験を終了した。

溶媒群、レボフロキサシン水和物 1.5%溶液群及び 4.0%ゲンタマイシン溶液群では、特記すべき一般状態の変化は認めなかった。

レボフロキサシン水和物を投与した群の 3 日目、5 日目、7 日目に死亡例を認めたが、いずれも麻酔及び麻酔覚醒時に発現しており、8 日目以降には死亡例や特記すべき異常所見を認めていないことから、レボフロキサシン水和物による蓄積毒性の影響ではなく、麻酔手技に影響した事象と判断した。

体重については、レボフロキサシン水和物及びゲンタマイシン溶液投与に起因する変化は見られなかった。

### 2.6.6.2.2　聴性脳幹反応（ABR）

投与前、11 日目（投与終了翌日）、14 日目に音刺激に対する ABR を測定した。ペントバルビタールナトリウムによる腹腔内麻酔を行い、[redacted]、測定した。ABR の波形の[redacted]を指標として、各個体の ABR 閾値を算出するとともに、[redacted]と[redacted]間の[redacted]差も算出した。なお、14 日目は、11 日目

の[redacted] dB 及び 14 日目の[redacted] dB で ABR の波形が観察できなかった個体に対して、それぞれ[redacted] dB 及び[redacted] dB の刺激音圧で測定した。ABR 閾値は、[redacted] dB 及び[redacted] dB で ABR の波形が観察できない場合、[redacted] dB（11 日目）あるいは[redacted] dB（14 日目）として計算し、[redacted]と[redacted]間の[redacted]差は欠損として取り扱った。

各群の投与前、11 日目、14 日目の ABR 閾値の平均値を表 2.6.6.2.2-1 に示した。溶媒群と比較して、14 日目の ABR 閾値の平均値は、1.5%溶液群及び 3.0%溶液群で約 10 dB 低く、6.0%溶液群で同程度、4.0%ゲンタマイシン溶液群で約 11 dB 高かったが、統計学的有意差は認めなかった（Dunnett 検定、Miller 検定又は Student's t 検定）。

また、最大の刺激音圧で波形が観察できなかった被験動物は、溶媒群で 11 日目が 10 例中 4 例、14 日目が 10 例中 1 例、レボフロキサシン水和物 1.5%溶液群で 11 日目が 10 例中 2 例、14 日目が 10 例中 1 例、3.0%溶液群で 11 日目が 6 例中 1 例、14 日目が 6 例中 1 例、6.0%溶液群で 11 日目が 9 例中 5 例、14 日目が 9 例中 3 例、4.0%ゲンタマイシン溶液群で 11 日目が 10 例中 7 例、14 日目が 10 例中 4 例であった。

レボフロキサシン水和物群は、溶媒群と比較して、ABR の平均値に明らかな悪化は認めなかった。陽性対照の 4.0%ゲンタマイシン溶液群で ABR 閾値の上昇を認めたが、溶媒群と比較して、統計学的に有意な差はなかった。

[redacted]と[redacted]間の[redacted]差については、投与 11 日目及び 14 日目において、各群 2～7 例の欠損があったためレボフロキサシン水和物及びゲンタマイシン溶液投与による影響を判定できなかった。

表 2.6.6.2.2-1　ABR 閾値

| 群 | ABR 閾値（dB）／ABR 波形の未確認例数 | | |
|---|---|---|---|
| | 投与前 | 11 日目 | 14 日目 |
| 溶媒群 | 43.0 ± 10.1（n=10） | 78.0 ± 21.0（n=10） | 81.5 ± 15.3（n=10） |
| | | 4 例 | 1 例 |
| レボフロキサシン水和物 1.5%溶液群 | 43.5 ± 9.4（n=10） | 72.0 ± 21.6（n=10） | 70.0 ± 23.2（n=10） |
| | | 2 例 | 1 例 |
| レボフロキサシン水和物 3.0%溶液群 | 42.0 ± 9.8（n=10） | 68.3 ± 14.7（n=6） | 73.3 ± 20.4（n=6） |
| | | 1 例 | 1 例 |
| レボフロキサシン水和物 6.0%溶液群 | 43.0 ± 9.5（n=10） | 85.6 ± 15.1（n=9） | 82.2 ± 20.9（n=9） |
| | | 5 例 | 3 例 |
| 4.0%ゲンタマイシン溶液群 | 42.5 ± 10.3（n=10） | 91.5 ± 5.8（n=10） | 92.5 ± 12.7（n=10） |
| | | 7 例 | 4 例 |

ABR 閾値；平均 ± 標準偏差(SD)、測定例数
最大の刺激音圧で ABR 波形が確認できない動物は[redacted]dB（11 日目）あるいは[redacted] dB（14 日目）で算出した。

### 2.6.6.2.3　内耳及び中耳の病理組織学的検査

投与期間終了時剖検例については、14 日目の ABR 測定終了後に、左右の中耳（鼓膜、鼓室、中耳粘膜）及び内耳（蝸牛、コルチ器）の標本作製（各群 5 例、3.0%溶液群のみ 4 例）を行った。標本は、ヘマトキシリン・エオジン（HE）染色を施し、光学顕微鏡で観察した。

各レボフロキサシン水和物群及びゲンタマイシン 4.0%溶液群のいずれにも、薬物投与に起因する変化は認められなかった。内耳及び中耳において、投与手技に起因するアーチファクトの組織変化が以下のように認められた。

内耳では、溶媒群の 3 例、各レボフロキサシン水和物群の 1 例あるいは 2 例及び 4.0%ゲンタマイシン溶液群の 2 例で、蝸牛の鼓室階、前庭階あるいは蝸牛管の出血、線維化あるいはそれらの両方を認めた。

投与側（左）の中耳及び外耳では、溶媒群の 3 例、各レボフロキサシン水和物群の 1～3 例及び 4.0%ゲンタマイシン溶液群の 4 例で外耳道の痂皮を認めた。また、溶媒群、レボフロキサシン水和物 1.5%及び 3.0%群の全例並びに 4.0%ゲンタマイシン溶液群の 2 例で鼓膜の線維化を認めた。その他、中耳粘膜下あるいは鼓室での出血、鼓室における肉芽組織、中耳粘膜下の線維化、あるいは鼓室で細胞残渣を認めた。鼓室での細胞残渣以外の頻度は、4.0%ゲンタマイシン溶液群でやや高かったが、溶媒群を含む各レボフロキサシン水和物群では、0～2 例と低かった。

病理組織学的検査を行った死亡例 2 例（レボフロキサシン水和物 3.0%群及び 6.0%群の各 1 例）については、2 例ともに投与側（左）の内耳における蝸牛の鼓室階、前庭階あるいは蝸牛管及び中耳の粘膜下及び／又は鼓室で出血がみられたが、レボフロキサシン水和物投与の影響は認められなかった。

備考：「その他の所見」について投与手技による影響と判断した理由（補足説明）

その他の所見については、溶媒群、各レボフロキサシン水和物群及び 4.0%ゲンタマイシン溶液群に頻度及び程度の差はなかった。本試験は鼓膜を穿孔しての投与であったことから、鼓膜あるいは鼓室に病変が目立ち、蝸牛においても一部の例で組織変化を認めた。これらの組織変化は、溶媒群（対照群）においても認め、各レボフロキサシン水和物群及び 4.0%ゲンタマイシン溶液群にも同程度に認めたことから、投与手技による影響（アーチファクト）と判断した。したがって、レボフロキサシン水和物の 0%（溶媒群）、1.5%、3.0%、6.0%溶液及び 4.0%ゲンタマイシン溶液（陽性対照）による中耳（鼓膜、鼓室、中耳粘膜）及び内耳（蝸牛、コルチ器）への影響はないと判断した。

### 2.6.6.2.4　蝸牛有毛細胞病理組織学的検査（[redacted]顕微鏡）

14 日目の ABR 測定終了後に、左右蝸牛の標本作製（各群 5 例、3.0%溶液群のみ 4 例）を行った。[redacted]後、[redacted]、蝸牛有毛細胞（[redacted]）を[redacted]顕微鏡で観察した。

4.0%ゲンタマイシン溶液群では、4 例（1 例は評価不能）で外有毛細胞及び内有毛細胞の聴毛の消失を認めた。レボフロキサシン水和物 1.5%、3.0%及び 6.0%溶液群では、溶媒群に比べて蝸牛内外有毛細胞における不動毛の消失の差は認めなかった。

### 2.6.6.2.5　まとめ

レボフロキサシン水和物をモルモットに 1 日 1 回 10 日間、中耳腔内投与した場合の聴覚器への影響を調べた。聴覚脳幹反応検査では、6.0%の濃度まで、溶媒群との間に ABR 閾値の上昇の差はなかった。また、レボフロキサシン水和物のいずれの投与量群においても、内耳及び中耳の病理組織学的検査並びに蝸牛の[redacted]顕微鏡検査で得られた所見に、溶媒群と差はなかった。一方、4.0%ゲンタマイシン溶液群では、4 例中 4 例（1 例は評価不能）で外有毛細胞及び内有毛細胞の聴毛の消失を認めた。

以上より、レボフロキサシン水和物では 6.0%の濃度まで聴覚器に影響を及ぼさないことが示された。

## 2.6.6.3　レボフロキサシン水和物の毒性試験（文献報告）

### 2.6.6.3.1　単回投与毒性試験

…… 参考文献 1)

雌雄 ddY マウス（各 n=10）、雌雄 SD 系ラット（各 n=10）及び雌のカニクイザル（n=2）を用いた経口投与による単回投与毒性試験の結果を表 2.6.6.3.1-1 に示した。レボフロキサシン水和物は 0.5%カルボキシメチルセルロースナトリウム（CMC-Na）に懸濁して投与し、観察期間は 14 日間であった。

表 2.6.6.3.1-1　単回投与毒性試験の $LD_{50}$

| 動物種 | 投与経路 | 性別 | 投与量（mg/kg） | 死亡数 | $LD_{50}$（mg/kg）<br>（95%信頼区間） |
|---|---|---|---|---|---|
| マウス（ddY） | 経口 | ♂ | 1229<br>1536<br>1920<br>2400<br>3000<br>3750 | 0/10<br>2/10<br>6/10<br>8/10<br>10/10<br>10/10 | 1881<br>（1691－2083） |
| | | ♀ | 1229<br>1536<br>1920<br>2400<br>3000<br>3750 | 0/10<br>2/10<br>7/10<br>9/10<br>10/10<br>10/10 | 1803<br>（1634－1988） |
| ラット（SD） | 経口 | ♂ | 983<br>1229<br>1536<br>1920<br>2400<br>3000 | 0/10<br>2/10<br>8/10<br>8/10<br>9/10<br>10/10 | 1478<br>（1309－1652） |
| | | ♀ | 983<br>1229<br>1536<br>1920<br>2400<br>3000 | 0/10<br>1/10<br>6/10<br>9/10<br>10/10<br>10/10 | 1507<br>（1364－1660） |
| カニクイザル | 経口 | ♀ | 250<br>500 a) | 0/2<br>0/2 | ＞250 |

a) 2 例で嘔吐を発現

### 2.6.6.3.2　反復投与毒性試験（トキシコキネティクス評価を含む）

(1) 4 週間投与

…… 参考文献 2)

雌雄 CD 系ラット（各 n=10）、雌雄のカニクイザル（各 n=3）にレボフロキサシン水和物を餌に混和し、4 週間経口投与した。投与量は、CD ラットが 50、200 及び 800 mg/kg/日、カニクイザルが 10、30 及び 100 mg/kg/日とした。対照として、0.5%CMC-Na を投与した。

ラットに 4 週間反復経口投与を行った結果、800 mg/kg/日まで死亡例はなく、高投与量群（800 mg/kg/日）で、流涎、白血球・リンパ球数の減少、血漿中電解質バランスのわずかな変化、尿素濃度の軽度減少が認められた。上腕骨及び大腿骨では関節表面の軽度の変性性変化が認められた。また、すべての投与群で盲腸重量の増加があった。無毒性量は 200 mg/kg/日とされた。

カニクイザルに 4 週間反復経口投与を行った結果、100 mg/kg/日まで死亡例はなく、高投与量群（100 mg/kg/日）で、流涎、下痢、体重減少が認められた。組織の顕微鏡的変化は認めなかった。無毒性量は 30 mg/kg/日とされた。

(2) 26 週間投与

…… 参考文献 3)

雌雄 CD 系ラット（各 n=20）、雌雄カニクイザル（各 n=4）にレボフロキサシン水和物を 0.5% CMC-Na に懸濁して 26 週間経口投与した。投与量は、CD ラットが 20、80 及び 320 mg/kg/日、カニクイザルが 10、25 及び 62.5 mg/kg/日とした。対照として、0.5% CMC-Na を投与した。

ラットに 26 週間反復経口投与を行った結果、320 mg/kg/日まで死亡例はなく、80 及び 320 mg/kg/日で流涎、わずかな摂餌量の増加、尿 pH の高値、盲腸重量の増加（伸長、膨張も観察）などが、320 mg/kg/日で巨大な糞塊の増加などが認められた。無毒性量は 20 mg/kg/日とされた。

カニクイザルに 26 週間反復経口投与を行った結果、62.5 mg/kg/日まで死亡例はなく、投与に関連する臨床所見などの異常は認めなかった。無毒性量は 62.5 mg/kg/日とされた。

### 2.6.6.3.3　遺伝毒性試験

…… 参考文献 4)

(1) 復帰突然変異試験

細菌には *Salmonella typhimurium* TA1535、TA1537、TA98 及び TA100 株、*E. coli* WP2uvrA 株を用い、各 plate 当たりの濃度は、TA 株が 0.0016～0.1 μg/plate、WP2 株が 0.008～0.5 μg/plate とした。代謝活性化の有無にかかわらず、いずれの条件下においても各 plate 当たりの復帰変異コロニー数の増加を認めなかった。

(2) 前進突然変異試験

チャイニーズハムスター卵巣細胞由来株（CHO-K1 細胞）に対する細胞毒性試験、変異原性試験を行った。変異原性試験では、代謝活性化の有無にかかわらず、コロニー形成能や変異コロニー数に異常を認めなかった。

(3) 染色体異常試験

チャイニーズハムスター肺細胞由来株（CHL 細胞）に対して、短時間処理法では、レボフロキサシン水和物 250～4000 μg/mL、連続処理法では、レボフロキサシン水和物 50～500 μg/mL の濃度で実施した。連続処理法（24、48 時間）の代謝活性化処理なしでは、300 μg/mL、24 時間及び 100 μg/mL、48 時間作用時に染色体異常を有する細胞の増加が認められた。短時間処理法（6 時間）では、代謝活性化の有無にかかわらず高濃度まで染色体異常を有する細胞の明らかな増加を認めなかった。

(4) 小核試験

8 週齢の雌 ddY マウス（n=6）に 150、300 及び 600 mg/kg を腹腔内に単回投与、又は 100、200 及び 400 mg/kg を腹腔内に 5 日間投与した。小核を有する幼若赤血球の出現頻度は、陰性対照群と比較して有意な増加を認めなかった。

(5) 姉妹染色分体交換（SCE）試験

チャイニーズハムスター肺細胞由来株（CHL 細胞）を用い、直接法では、レボフロキサシン水和物 50、100、200 及び 300 μg/mL、代謝活性化法では、レボフロキサシン水和物 125、250、500 及び 1000 μg/mL の濃度で実施した。代謝活性化処理なしで SCE 頻度の明らかな増加（50、100 μg/mL）や分裂指数の著しい低下（200、300 μg/mL）が認められた。代謝活性化処理ありでも SCE 頻度の明らかな増加（250 μg/mL 以上）や分裂指数の著しい低下（1000 μg/mL）が認められた。

また、8 週齢の雌 ddY マウス（n=5）にレボフロキサシン水和物 150、300 及び 600 mg/kg を腹腔内に単回投与した。SCE 頻度は、陰性対照群と比較して有意な増加を認めなかった。

(6) 不定期 DNA 合成（UDS）試験

6～7 週齢の雄 F344/N 系ラット（n=4）にレボフロキサシン水和物 300 及び 600 mg/kg を単回経口投与し、投与 3 時間及び 12 時間後にサンプリングした。標識ヌクレオシドはトリチウム標識チミジンを用いた。レボフロキサシン水和物投与群では、核からのプラズマ粒子数を差し引いた正味銀粒子数の有意な増加を認めなかった。修復中の細胞の指標である 5 つ以上の銀粒子の存在が観察された細胞の割合は、陰性対照群と比較して有意な増加を認めなかった。

(7) 優性致死試験

8～9 週齢の雄 $BDF_1$ 系マウス（n=15）にレボフロキサシン水和物 30、90 及び 270 mg/kg を腹腔内に 5 日間投与し、無処理の未経産雌（各 n=3、計 n=45）と 1 週間交配し、新たな雌と交換して 8 週間継続した。交配終了 10 日後、優性致死について評価した。いくつかのパラメータで陰性対照群と比較して有意な差を認めたが、生物学的意義があるものではないとされた。

## 2.6.6.3.4　がん原性試験

…… 参考文献 5)

6 週齢の雄 F344/DuCrj 系ラット（n=15 又は 16）を用いて多臓器二段階発がんモデルによるがん原性試験を行った。2 週時までにジエチルニトロソアミン、N-メチルニトロソ尿素、ジヒドロキシ-ジ-n-プロピルニトロソアミンを投与し、その後、飼料中に 0.9%レボフロキサシン水和物を混餌し、16 週間投与した。癌病変の誘発や増殖性前癌病変の発生増加を認めなかった。

## 2.6.6.3.5　生殖発生毒性試験

…… 参考文献 6)

(1) 妊娠前及び妊娠初期投与試験（Seg.1）

雄 8 週齢、雌 11 週齢の SD 系ラット（各 n=24）にレボフロキサシン水和物 10、60 及び 360 mg/kg/日を、交配前（雄：9 週間、雌：2 週間）から交配期間（2 週間）を通して反復経口投与した。その後、雌は、妊娠 7 日まで反復経口投与した。

1) 親動物の一般毒性学的影響

親動物の一般状態の観察では、60 mg/kg/日群の雌で摂水量の増加、雄で流涎が認められた。360 mg/kg/日群の雌で流涎、雄で流涎及び軟便が認められた。また、360 mg/kg/日群で摂餌量の減少及び摂水量の増加が認められた。

2) 親動物の生殖能に対する影響

親動物の生殖能への影響は認めなかった。

3) 胚発生・胎児に対する影響

胚発生・胎児への影響は認めなかった。

(2) 器官形成期投与試験（Seg.2）

1) ラットにおける試験

12 週齢の妊娠雌の SD 系ラット(n=36)にレボフロキサシン水和物 10､90 及び 810 mg/kg/日を妊娠 7 日から 17 日まで反復経口投与した。

親動物では､90 mg/kg/日群で流涎､鼻の汚れ及び摂餌量の減少が認められた｡810 mg/kg/日群で流涎、鼻・外皮の汚れ、流涙、軟便、体重・摂餌量の減少、及び摂水量の増加が認められた。

810 mg/kg/日群の胎児では、死亡率の増加、生存胎児数及び胎児体重の減少、並びに骨化遅延、骨格変異が認められた。いずれの群においても催奇形性は認められなかった。また、810 mg/kg/日群の出生児では、体重の減少が認められた。

2) ウサギにおける試験

5 カ月齢の妊娠雌のニュージーランドホワイト種ウサギ（n=16）にレボフロキサシン水和物 5、16 及び 50 mg/kg/日を妊娠 6 日から 18 日まで反復経口投与した。

親動物では、16 mg/kg/日群で摂餌量の減少、50 mg/kg/日群で体重及び摂餌量の減少が認められた。胎児には毒性が認められず、いずれの群においても催奇形性は認められなかった。

(3) 周産期及び授乳期投与試験（Seg.3）

11 週齢の妊娠雌の SD 系ラット（n=24）にレボフロキサシン水和物 10、60 及び 360 mg/kg/日を妊娠 17 日から分娩 21 日まで反復経口投与した。

親動物では、60 mg/kg/日群で流涎及び摂餌量の増加、360 mg/kg/日群で流涎、軟便、下痢、妊娠期の摂餌量・摂水量の減少及び授乳期の摂餌量・摂水量の増加が認められ、無毒性量は 10 mg/kg/日であった。

いずれの群においても晩期胎発達、分娩、出産、授乳及び出生児発育への影響は認められなかった。

### 2.6.6.3.6　局所刺激性試験

該当する試験は実施していない。

### 2.6.6.3.7　抗原性試験

…… 参考文献 7)

(1) モルモットにおける試験

雌 Hartley モルモット（n=5 又は 10）に対して、経口ではレボフロキサシン水和物を 0.5% CMC-Na に懸濁して 10 及び 100 mg/kg を週 3 回、4 週間、計 12 回感作した。腹腔内では、レボフロキサシン水和物 4 及び 40 mg/kg を週 3 回、4 週間、計 12 回感作した。皮下ではレボフロキサシン水和物 2、20 mg/kg を 1 回投与後、2 週間隔で FCA を 3 回感作した。

受動的皮膚アナフィラキシー（PCA）において、最終感作 4 時間及び 8 日後にアナフィラキシー反応の誘発を行った。レボフロキサシン水和物感作群において反応は認められなかった。

全身性アナフィラキシー反応において、最終感作 2 週間後にアナフィラキシー反応の誘発を行った。100 mg/kg 群の 1 例で誤った麻酔手技による死亡例が認められたが、レボフロキサシン水和物感作群においてアナフィラキシー症状は認められなかった。

その他、酵素免疫測定法において、特異抗体の産生は認められなかった。

したがって、レボフロキサシン水和物は免疫原性及びアレルギー誘発原性を示さなかった。

(2) マウスにおける試験

雌 Balb/c マウス（n=10）にレボフロキサシン水和物 1、10 及び 100 mg/kg を腹腔内に、水酸化アルミニウムゲル（Alum.）をアジュバントとして、3 週間隔で 2 回投与した。最終投与 1 週間後にラット受身感作を行い、PCA の誘発を行ったすべての感作群において、IgE 抗体は検出されなかった。卵白アルブミン感作では、10 例中 3 例で陽性反応が認められた。PCA の陽性反応は、レボフロキサシン水和物 2.5 mg/kg で認められなかった。

(3) ウサギにおける試験

雌ニュージーランドホワイト種ウサギ（各 n=3 又は 5）にレボフロキサシン水和物 2 及び 20 mg/kg で皮下投与し、FCA と同時に 2 週間隔で 3 回感作した。最終感作 4 時間後にアナフィラキシー反応の誘発を行った。レボフロキサシン水和物感作群において PCA 反応は認められず、免疫原性及びアレルギー誘発原性を示さなかった。

### 2.6.6.3.8　その他の毒性試験

(1) 腎毒性試験

…… 参考文献 8)

雄ニュージーランドホワイト種ウサギ（各 n=4）にレボフロキサシン水和物を 0.5% CMC-Na に懸濁し、30 及び 120 mg/kg で 10 日間反復経口投与した。臨床症状、死亡例は認められず、尿素窒素及びクレアチニン値に変動を認めなかった。120 mg/kg 投与群で体重及び尿量の減少が認められたが、摂餌量・摂水量の低下によるものと判断された。腎重量、肉眼及び顕微鏡下の所見においても異常は認められず、腎の機能及び形態学的変化はなかった。

(2) 聴器毒性試験

…… 参考文献 9)

雌雄 Crl:BR(Long Evans)系ラット（各 n=6）にレボフロキサシン水和物を 1%メチルセルロースに懸濁し、100 mg/kg で 2 週間反復経口投与した。聴覚機能検査として耳介反射閾値に変化はなかった。内耳の光学顕微鏡検査及び走査型電子顕微鏡検査でも異常は認められなかった。

なお、ナリジクス酸処置群で蝸牛コルチ器の外有毛細胞の消失、走査型電子顕微鏡検査で蝸牛第 1 回転下端部に限局した散発的な外有毛細胞の消失が認められた。その他のキノロン系抗菌剤（シプロフロキサシン、ノルフロキサシン）では、異常は認められなかった。

(3) 光毒性試験

…… 参考文献 10)

雌 Balb/c マウス（n=6）にレボフロキサシン水和物を 0.5% CMC-Na に懸濁し、200 及び 800 mg/kg で単回経口投与した。投与直後に耳介から 15 cm の距離で紫外線 A 波（300～400 nm）を 4 時間照射した。200 mg/kg 群で耳介厚に変化は認められなかったが、800 mg/kg 群で耳介厚の有意な増加が認められた。

(4) フェンブフェンとの相互作用

…… 参考文献 11)

雄 ddY マウス（n=6）を用いてレボフロキサシン水和物とフェンブフェンとの相互作用を単回併用経口投与にて検討した。レボフロキサシン水和物とフェンブフェンの投与量を表 2.6.6.3.8-1 に示した。レボフロキサシン水和物 800 mg/kg とフェンブフェン 400 mg/kg 併用群で強直性痙攣後の死亡例が 6 例中 2 例で認められた。

**表 2.6.6.3.8-1　レボフロキサシン水和物とフェンブフェンの投与量**

| レボフロキサシン水和物投与量（mg/kg） | フェンブフェン投与量（mg/kg） | 死亡例数 |
|---|---|---|
| 800 | 0 | 0/6 |
| 800 | 200 | 0/6 |
| 400 | 400 | 0/6 |
| 800 | 400 | 2/6 |
| 0 | 400 | 0/6 |

(5) 関節毒性

非臨床毒性試験においてレボフロキサシン水和物を幼若動物に投与した場合、関節への毒性が報告されており、レボフロキサシン水和物経口投与時の無毒性量は、幼若イヌ（ビーグル）関節毒性試験：5 mg/kg/日、幼若ラット関節毒性試験：100 mg/kg/日であった [14]。

以下に、レボフロキサシン水和物の関節毒性に対する無毒性量投与時の血中曝露量（AUC）と、コムレクス耳科用液 1.5%（本剤）の投与が想定される乳幼児又は小児の患者における推定 AUC とを比較し、本剤を乳幼児又は小児の患者に反復点耳投与した場合の関節毒性に対する安全性を検討した。

成熟イヌに対し、幼若イヌの関節毒性に関する無毒性量を投与した際のレボフロキサシン水和物の薬物動態の成績を PubMed で調査した結果、無毒性量の 5 mg/kg [15]（混血イヌ）又は近似量の 5.59 mg/kg [16]（ビーグル）を単回経口投与した際の投与後 0～24 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積（$AUC_{0\text{-}24h}$）は、平均値でそれぞれ 13.42 μg·h/mL [15]又は 32.919 μg·h/mL [16]であった。なお、レボフロキサシン水和物のラセミ体であるオフロキサシンでは、3 カ月齢の幼若イヌ（ビーグル）に反復経口投与した際の薬物動態が検討されており、5 mg/kg 投与時の $AUC_{0\text{-}24h}$ は、投与 1 日目が 34.7 ± 0.4 μg·h/mL、投与 7 日目が 35.4 ± 3.1 μg·h/mL であった [17]。

レボフロキサシン水和物を乳幼児又は小児に経口又は点滴静注投与した際の薬物動態成績を PubMed で調査した結果、Chien S らの報告 [18]が見出された。Abstract の記載内容を、原文に従い以下に示す。

〔Abstract〕

著者らは 5 つの年齢群（6 カ月～2 歳未満、2～5 歳未満、5～10 歳未満、10～12 歳未満、及び 12～16 歳）の小児 85 例を対象に、3 つの単回投与多施設共同薬物動態試験を実施した。各小児はレボフロキサシン 7 mg/kg（500 mg を超えない量）の単回静脈内又は経口投与を受けた。投与 24 時間後まで血漿及び尿サンプルが採取され、薬物動態パラメータが推定されるとともに、5 つの年齢群間及び以前に収集した成人データとの比較が行われた。小児におけるレボフロキサシンの吸収（最高血漿中濃度: $C_{max}$ 及び最高血漿中濃度到達時間: $t_{max}$ によって示される）及び分布は年齢依存性ではなく、成人と同等だった。しかしながら、レボフロキサシンの排泄（消失半減期: $t_{1/2}$ 及びクリアランスに反映される）は年齢依存的だった。5 歳未満の年齢では、レボフロキサシンは成人の 2 倍近く速くクリアされ（静脈内投与、0.32 ± 0.08 L/h/kg；経口投与、0.28 ± 0.05 L/h/kg）、その結果、総全身曝露量（AUC）は成人の約半分であった。経口液剤の単回投与を受けた小児における AUC（用量を標準化）は、静脈内投与を受けた小児における AUC と同等であった。成人におけるレボフロキサシンの臨床的有効性及び安全性に関連した曝露量を提供するには、5 歳未満の小児には 1 日量 10 mg/kg が必要であるが、6 カ月から 5 歳未満の小児には 12 時間ごとに 10 mg/kg が投与されるべきである。

本剤では、薬剤濃度がオフロキサシンの 5 倍となっているが、第 III 相試験において、ENT103-1.5%製剤を成人中耳炎患者に点耳投与した際の $C_{max}$ は 9.9008 ± 14.4606 ng/mL であり、オフロキサシン [19][20]と同程度であった。投与後 0～無限大時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積（$AUC_{0\text{-}inf}$）の平均値は 98.6797 ng·h/mL、最小値～最大値は、31.251～322.076 ng·h/mL であり、成熟イヌに、幼若イヌの無毒性量及び近似量である 5 mg/kg 又は 5.59 mg/kg を投与した際の $AUC_{0\text{-}24h}$（13.42 又は 32.919 μg·h/mL）に比べ、平均値で 136 又は 334 倍、最大値で 41.7 又は 102 倍の大きな安全域が認められた。

Chien S ら [18]の文献で示されたとおり、レボフロキサシン水和物を乳幼児又は小児に経口又は点滴静注投与した際の薬物動態では、小児における吸収及び分布は成人と同様だが、低年齢の小児では排泄が早いため、AUC は小さくなる。点耳投与後に体内に吸収された薬剤については、同様の薬物動態を取るため、低年齢の小児では成人に比べ AUC はむしろ小さくなることが考えられた。

以上より、本剤を乳幼児又は小児の患者に反復点耳投与した場合の関節毒性については、発現の可能性は極めて低いと判断された。

### 2.6.6.4　オフロキサシン耳科用液の聴器毒性試験（参考）

#### 2.6.6.4.1　中耳腔内投与

…… 参考文献 12)

左耳鼓膜を穿孔した Hartley 系白色モルモットにオフロキサシン 0.3%溶液（n=10）及び 0.5%溶液（n=9）を 7 日間中耳腔内投与した。最終投与から 10 日後に刺激音 10000 Hz の Longon 波に対する ABR と内耳及び中耳の光学顕微鏡検査を行った。いずれの群でも ABR の閾値に有意な変動は認められなかった。蝸牛有毛細胞の組織学的所見でも、内外有毛細胞に変性は認められなかった。中耳腔の組織学的所見では、様々な所見が観察されたが、鼓膜穿孔の外科的処置による影響で自然感染による中耳炎を起こしたとされた。左右両耳を鼓膜穿孔したモルモットでは、右中耳腔に炎症が残存し、オフロキサシン溶液を投与した左中耳腔で炎症が治癒した所見が認められた。

以上より、オフロキサシンの中耳腔内投与による内耳への毒性はないと判断された。

#### 2.6.6.4.2　鼓室内投与

…… 参考文献 13)

Preyer 耳介反射正常のモルモットにオフロキサシン 0.5%溶液（n=12）及び 4%ゲンタマイシン溶液（n=13）を 10 日間鼓室内投与した。オフロキサシン溶液群では、ABR 及び蝸牛有毛細胞の走査型電子顕微鏡検査でも異常は認められなかった。対照群のゲンタマイシン溶液群では、ABR の聴力閾値の上昇を認め、オフロキサシン群との間で有意差が認められた。また、ゲンタマイシン溶液群では、蝸牛有毛細胞の内外有毛細胞で配列の乱れや消失が認められた。

以上より、オフロキサシンの鼓室内投与による内耳毒性はないと判断された。

### 2.6.6.5　考察及び結論

レボフロキサシン水和物点耳剤の投与局所毒性を検討するため、モルモット中耳腔内投与による聴器毒性試験を行った。

レボフロキサシン水和物の 0%（溶媒）、1.5%、3.0%、6.0%溶液及び 4.0%ゲンタマイシン溶液（陽性対照）をモルモットに 0.1 mL/body、1 日 1 回、10 日間中耳腔内投与し、ABR、内耳、中耳の光学顕微鏡検査及び蝸牛有毛細胞の[redacted]顕微鏡検査で評価した。その結果、溶媒群と比較して、レボフロキサシン水和物 1.5%、3.0%及び 6.0%溶液投与による ABR の悪化並びに内耳、中耳及び蝸牛有毛細胞に対する組織学的な影響はなく、聴器毒性は認めなかった。

その他、ラセミ体のオフロキサシンの点耳剤を用いた試験（参考）では、Hartley 系白色モルモットに 0.3%又は 0.5%オフロキサシン耳用液を 7 日間注入した聴器毒性試験、モルモットに 0.5%オフロキサシン溶液 0.2 mL（1 mg）を 10 日間鼓室内に注入した聴器毒性試験において、内耳毒性はないと判断された。

以上より、レボフロキサシン水和物を点耳剤として使用するに際し、聴器毒性の懸念はないと判断した。

### 2.6.6.6　図表

表は本文中の適切な箇所に示した。

## 2.6.6.7　参考文献


1) Kato M, Furuhama K, Yoshida M, Akahane K, Takayama S. Acute oral toxicity of the new quinolone antibacterial agent levofloxacin in mice, rats and monkeys. Arzneimittelforschung. 1992; 42(3A): 365-6.
2) Kato M, West HA, Ashby R, Virgo DM, Fowler JS, Furuhama K, et al. Four-week sub-acute toxicity study of S-(-)-9-fluoro-2,3-dihydro-3-methyl-10-(4-methyl-1-piperazinyl)-7-oxo-7H-pyrido-[1,2,3,-de][1,4]benzoxazine-6- carboxylic acid hemihydrate (DR-3355) in CD rats and cynomolgus monkeys. J Toxicol Sci. 1991; 16(1): 29-48.
3) Kato M, Furuhama K, Woolley AP, Ashby R, Fowler JS, Takayama S. Twenty-six-week oral toxicity of the new quinolone antibacterial agent levofloxacin in rats and cynomolgus monkeys. Arzneimittelforschung. 1992; 42(3A): 367-73.
4) Shimada H, Itoh S, Hattori C, Tada S, Matsuura Y. Mutagenicity of the new quinolone antibacterial agent levofloxacin. Arzneimittelforschung. 1992; 42(3A): 378-85.
5) Kajimura T, Tojo H, Kudo G, Yamada M, Domon S, Nomura M, et al. Effect of the new quinolone antibacterial agent levofloxacin on multiple organ carcinogenesis initiated with wide-spectrum carcinogens in rats. Arzneimittelforschung. 1992; 42(3A): 390-5.
6) Watanabe T, Fujikawa K, Harada S, Ohura K, Sasaki T, Takayama S. Reproductive toxicity of the new quinolone antibacterial agent levofloxacin in rats and rabbits. Arzneimittelforschung. 1992; 42(3A): 374-7.
7) Wagai N, Hattori H, Yamaguchi F, Takayama S. Antigenicity of the new quinolone antibacterial agent levofloxacin. Arzneimittelforschung. 1992; 42(3A): 385-9.
8) Inage F, Kato M, Yoshida M, Akahane K, Takayama S. Lack of nephrotoxic effects of the new quinolone antibacterial agent levofloxacin in rabbits. Arzneimittelforschung. 1992; 42(3A): 395-7.
9) Nomura M, Yamada M, Yamamura H, Kajimura T, Takayama S. Ophthalmotoxicity and ototoxicity of the new quinolone antibacterial agent levofloxacin in Long Evans rats. Arzneimittelforschung. 1992; 42(3A): 398-403.
10) Wagai N, Yoshida M, Takayama S. Phototoxic potential of the new quinolone antibacterial agent levofloxacin in mice. Arzneimittelforschung. 1992; 42(3A): 404-5.
11) Furuhama K, Akahane K, Tawara K, Takayama S. Interaction of the new quinolone antibacterial agent levofloxacin with fenbufen in mice. Arzneimittelforschung. 1992; 42(3A): 406-8.
12) 佐藤喜一、宮崎巨、荒木伸彦、山下公一. オフロキサシン耳用液の内耳に及ぼす影響に関する実験的研究. 耳鼻と臨床. 1989; 35(1): 58-64.
13) 昇卓夫、花牟礼豊、松崎勉、宮崎康博、河野もと子、今村洋子、ほか. 耳用オフロキサシン剤の聴器へ及ぼす影響に関する実験的研究. 耳鼻と臨床. 1988; 34(4): 1028-34.
14) クラビット錠 250 mg、500 mg の CTD 第 2.4 項、表 2.4-3 LVFX の毒性試験の要約. https://www.pmda.go.jp/drugs/2009/P200900027/index.html
15) Urzúa N, Messina MJ, Caverzan M, Prieto G, Lüders C, Errecalde C. Pharmacokinetics of levofloxacin after single intravenous and oral administration, and its interaction with sucralfate in mixed-breed dogs. Xenobiotica. 2020; 50(12): 1490-3.
16) Landoni MF, Albarellos GA. Pharmacokinetics of levofloxacin after single intravenous, oral and subcutaneous administration to dogs. J Vet Pharmacol Ther. 2019; 42(2): 171-8.
17) Yabe K, Murakami Y, Nishida S, Sekiguchi M, Furuhama K, Goryo M, et al. 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(8): 867-72.
18) Chien S, Wells TG, Blumer JL, Kearns GL, Bradley JS, Bocchini Jr JA, et al. Levofloxacin pharmacokinetics in children. J Clin Pharmacol. 2005; 45(2): 153-60.

19) 石井正則、野原修、若盛和雄、橘敏郎、矢部武、永倉仁史、ほか. オフロキサシン耳用液の臨床的有用性の検討について. 耳鼻咽喉科展望. 1990; 33（補冊 4）: 595-605.
20) 馬場駿吉、小林武弘、島田純一郎、永田総一郎、小山賢吾、山本真一郎、ほか. Ofloxacin 耳用液の小児化膿性中耳炎および外耳炎に対する有用性の検討. 耳鼻と臨床. 1990; 36（補冊 3）:590-604.

# コムレクス耳科用液 1.5%

第 2 部（モジュール 2）：CTD の概要（サマリー）

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.7 毒性試験概要表

セオリアファーマ株式会社

# 目次

2.6.7 毒性試験概要表 ..... 4
2.6.7.1 毒性試験：一覧表 ..... 4
2.6.7.2 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験の一覧表 ..... 4
2.6.7.3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧 ..... 4
2.6.7.4 毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧 ..... 5
2.6.7.5 単回投与毒性試験 ..... 5
2.6.7.6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験 ..... 5
2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験 ..... 6
2.6.7.7.1 モルモットにおける聴器毒性試験（1/3） ..... 6
2.6.7.8 *In vitro* 遺伝毒性試験 ..... 9
2.6.7.9 *In vivo* 遺伝毒性試験 ..... 9
2.6.7.10 がん原性試験 ..... 9
2.6.7.11 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験 ..... 9
2.6.7.12 生殖発生毒性試験：受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 ..... 9
2.6.7.13 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験 ..... 9
2.6.7.14 生殖発生毒性試験：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 ..... 9
2.6.7.15 新生児を用いた試験 ..... 9
2.6.7.16 局所刺激性試験 ..... 10

略語一覧

| 略号 | 略していない表現又は説明 | |
|---|---|---|
| | 英名 | 和名 |
| ABR | auditory brainstem response | 聴性脳幹反応 |
| GLP | Good Laboratory Practice | 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準 |
| SD | standard deviation | 標準偏差 |

## 2.6.7　毒性試験概要表

### 2.6.7.1　毒性試験：一覧表

被験物質：レボフロキサシン水和物

| 試験の種類 | 動物種／系統<br>試験系 | 投与方法 | 投与期間 | 投与量 | GLP<br>適用 | 実施施設 | 試験番号 | 記載箇所 | 区分 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 聴器毒性試験 | モルモット／<br>Hartley／<br>雄　各 10 例 | 中耳腔内投与<br>1 日 1 回 | 10 日間 | レボフロキサシン水和物<br>0、1.5、3.0 及び 6.0%<br>ゲンタマイシン<br>4.0%<br>100 µL | 非適 | [redacted] | [redacted] | 4.2.3.2.1 | 評価 |

### 2.6.7.2　トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験の一覧表

該当する試験は実施していない。

### 2.6.7.3　トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧

該当する試験は実施していない。

## 2.6.7.4　毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧

被験物質：レボフロキサシン水和物

使用した点耳剤のロット

| 投与量 | ロット番号 | 含量値 | 試験番号 | 試験の種類 |
|---|---|---|---|---|
| 1.5% | 160514A-2 | 14.83 mg/mL | [redacted] | 聴器毒性試験 |
| 3.0% | 160514B-2 | 29.92 mg/mL | [redacted] | 聴器毒性試験 |
| 6.0% | 160514C-2 | 60.26 mg/mL | [redacted] | 聴器毒性試験 |

## 2.6.7.5　単回投与毒性試験

該当する試験は実施していない。

## 2.6.7.6　反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験

該当する試験は実施していない。

## 2.6.7.7　反復投与毒性試験：重要な試験

### 2.6.7.7.1　モルモットにおける聴器毒性試験（1/3）

被験物質：レボフロキサシン水和物

報告書の題名: レボフロキサシン水和物のモルモットにおける聴器毒性試験

| | | |
|---|---|---|
| 動物種／系統／試験系: モルモット／Hartley／雄 | 投与期間: 10 日間 | 試験番号: [redacted] |
| 投与開始週齢: 5 週齢（240～322 g） | 休薬期間: なし | CTD における記載場所: 4.2.3.2.1 |
| 初回投与年月日: 20[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日 | 投与方法: 中耳腔内（0.1 mL／回を 1 日 1 回） | GLP 適用: 非適 |
| 特記事項: なし | 媒体／投与形態: 基剤／溶液〔塩化ナトリウム、ポリソルベート 80、pH 調節剤〕 | |

| 投与量 | 0%〔溶媒〕 | 1.5%〔レボフロキサシン水和物溶液〕 | 3.0%〔レボフロキサシン水和物溶液〕 | 6.0%〔レボフロキサシン水和物溶液〕 | 陽性対照〔4.0%ゲンタマイシン溶液〕 |
|---|---|---|---|---|---|
| 動物数 | 10 例 | 10 例 | 10 例 | 10 例 | 10 例 |
| 特記すべき所見 | | | | | |
| 死亡及び瀕死動物数 | 0 例 | 0 例 | 死亡: 4 例<br>投与 3 日目及び投与 5 日目の投与後に各 2 例が死亡した。 | 死亡: 1 例<br>投与 7 日目に痙攣が投与後にみられ、強直性痙攣、流涙及び鼻出血がみられ、のちに死亡した。 | 0 例 |
| 一般状態 | - | - | - | 痙攣、自発運動低下（回復）: 1 例 | - |
| 体重 | - | - | - | - | - |

-: 特記すべき所見なし

## 2.6.7.7.1　モルモットにおける聴器毒性試験（2/3）

被験物質：レボフロキサシン水和物

報告書の題名: レボフロキサシン水和物のモルモットにおける聴器毒性試験

| 投与量 | 0%〔溶媒〕 | 1.5%〔レボフロキサシン水和物溶液〕 | 3.0%〔レボフロキサシン水和物溶液〕 | 6.0%〔レボフロキサシン水和物溶液〕 | 陽性対照〔4.0%ゲンタマイシン溶液〕 |
|---|---|---|---|---|---|
| 動物数 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| ABR 閾値（投与前） | 43.0 ± 10.1（n=10） | 43.5 ± 9.4（n=10） | 42.0 ± 9.8（n=10） | 43.0 ± 9.5（n=10） | 42.5 ± 10.3（n=10） |
| ABR 閾値（11 日目）[a] | 78.0 ± 21.0（n=10） | 72.0 ± 21.6（n=10） | 68.3 ± 14.7（n= 6） | 85.6 ± 15.1（n= 9） | 91.5 ± 5.8 （n=10） |
| | 〔4 例〕 | 〔2 例〕 | 〔1 例〕 | 〔5 例〕 | 〔7 例〕 |
| ABR 閾値（14 日目）[a] | 81.5 ± 15.3（n=10） | 70.0 ± 23.2（n=10） | 73.3 ± 20.4（n=6） | 82.2 ± 20.9（n= 9） | 92.5 ± 12.7（n=10） |
| | 〔1 例〕 | 〔1 例〕 | 〔1 例〕 | 〔3 例〕 | 〔4 例〕 |
| [redacted]差（投与前） | 1.8 ± 0.3（n=10） | 1.9 ± 0.2（n=10） | 1.7 ± 0.1（n=10） | 1.7 ± 0.2（n=10） | 1.8 ± 0.2（n=10） |
| [redacted]差（11 日目）[b] | 1.8 ± 0.1（n=10） | 1.7 ± 0.2（n=10） | 1.7 ± 0.1（n=6） | 2.2 ± 0.4（n=9） | 2.0 ± 0.2（n=10） |
| | 〔4 例〕 | 〔2 例〕 | 〔1 例〕 | 〔5 例〕 | 〔7 例〕 |
| [redacted]差（14 日目）[b] | 1.9 ± 0.3（n=10） | 1.9 ± 0.2（n=10） | 1.8 ± 0.2（n=6） | 1.9 ± 0.2（n=9） | 2.0 ± 0.3（n=10） |
| | 〔1 例〕 | 〔1 例〕 | 〔1 例〕 | 〔3 例〕 | 〔4 例〕 |

ABR: 聴性脳幹反応; ABR 閾値（dB）; 上段: 平均 ± 標準偏差（SD）（測定例数）、下段: 〔ABR 波形の未確認例数〕

[redacted]差（ms）、上段: 平均 ± SD（測定例数）、下段: 〔ABR 波形の未確認例数〕

有意差検定: a) 被験薬と陰性対照（溶媒）間に有意差なし（Steel test）、陽性対照と陰性対照（溶媒）間に有意差なし（Wilcoxon test）

b) 被験薬と陰性対照（溶媒）間に有意差なし（Dunnett's or Miller test）、陽性対照と陰性対照（溶媒）間に有意差なし（Student's t-test）

## 2.6.7.7.1　モルモットにおける聴器毒性試験（3/3）

被験物質：レボフロキサシン水和物

報告書の題名: レボフロキサシン水和物のモルモットにおける聴器毒性試験

| 投与量 | 0%〔溶媒〕 | 1.5%〔レボフロキサシン水和物溶液〕 | 3.0%〔レボフロキサシン水和物溶液〕 | 6.0%〔レボフロキサシン水和物溶液〕 | 陽性対照〔4.0%ゲンタマイシン溶液〕 |
|---|---|---|---|---|---|
| 動物数 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| 病理組織学的検査<br>（内耳、中耳及び外耳） | 検査例数: 5 例<br>内耳及び中耳において、投与手技に起因するアーチファクトの組織変化を以下のように認めた。<br>内耳: 蝸牛の鼓室階、前庭階あるいは蝸牛管の出血、線維化（3/5 例）<br>中耳及び外耳: 外耳道の痂皮（3/5 例）、鼓膜の線維化（5/5 例）など | 検査例数: 5 例<br>内耳及び中耳において、投与手技に起因するアーチファクトの組織変化を以下のように認めた。<br>内耳: 蝸牛の鼓室階、前庭階あるいは蝸牛管の出血、線維化（2/5 例）<br>中耳及び外耳: 外耳道の痂皮（3/5 例）、鼓膜の線維化（5/5 例）など | 検査例数: 3 例<br>内耳及び中耳において、投与手技に起因するアーチファクトの組織変化を以下のように認めた。<br>内耳: 蝸牛の鼓室階、前庭階あるいは蝸牛管の出血、線維化（1/3 例）<br>中耳及び外耳: 外耳道の痂皮（2/3 例）、鼓膜の線維化（3/3 例）など | 検査例数: 4 例<br>内耳及び中耳において、投与手技に起因するアーチファクトの組織変化を以下のように認めた。<br>内耳: 蝸牛の鼓室階、前庭階あるいは蝸牛管の出血、線維化（2/4 例）<br>中耳及び外耳: 外耳道の痂皮（1/4 例）など | 検査例数: 5 例<br>内耳及び中耳において、投与手技に起因するアーチファクトの組織変化を以下のように認めた。<br>内耳: 蝸牛の鼓室階、前庭階あるいは蝸牛管の出血、線維化（2/5 例）<br>中耳及び外耳: 外耳道の痂皮（4/5 例）、鼓膜の線維化（2/5 例）など |
| [redacted]顕微鏡検査<br>（左蝸牛） | 検査例数: 5 例<br>外有毛細胞不動毛消失:<br>3/5 例、ごく軽度～軽度<br>内有毛細胞不動毛消失:<br>1/5 例、ごく軽度<br>外有毛細胞脱落:<br>2/5 例、ごく軽度～軽度<br>内有毛細胞脱落:<br>0/5 例 | 検査例数: 5 例<br>外有毛細胞不動毛消失:<br>2/5 例、ごく軽度～軽度<br>内有毛細胞不動毛消失:<br>2/5 例、ごく軽度<br>外有毛細胞脱落:<br>1/5 例、軽度<br>内有毛細胞脱落:<br>0/5 例 | 検査例数: 3 例<br>外有毛細胞不動毛消失:<br>1/3 例、ごく軽度<br>内有毛細胞不動毛消失:<br>2/3 例、ごく軽度<br>外有毛細胞脱落:<br>0/3 例<br>内有毛細胞脱落:<br>0/3 例 | 検査例数: 4 例<br>外有毛細胞不動毛消失:<br>1/4 例、軽度<br>内有毛細胞不動毛消失:<br>3/4 例、ごく軽度<br>外有毛細胞脱落:<br>0/4 例<br>内有毛細胞脱落:<br>0/4 例 | 検査例数: 4 例<br>外有毛細胞不動毛消失:<br>4/4 例、中等度<br>内有毛細胞不動毛消失:<br>4/4 例、軽度<br>外有毛細胞脱落:<br>2/4 例、ごく軽度～軽度<br>内有毛細胞脱落:<br>0/4 例 |

### 2.6.7.8　*In vitro* 遺伝毒性試験

該当する試験は実施していない。

### 2.6.7.9　*In vivo* 遺伝毒性試験

該当する試験は実施していない。

### 2.6.7.10　がん原性試験

該当する試験は実施していない。

### 2.6.7.11　生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験

該当する試験は実施していない。

### 2.6.7.12　生殖発生毒性試験：受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

該当する試験は実施していない。

### 2.6.7.13　生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験

該当する試験は実施していない。

### 2.6.7.14　生殖発生毒性試験：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

該当する試験は実施していない。

### 2.6.7.15　新生児を用いた試験

該当する試験は実施していない。

### 2.6.7.16　局所刺激性試験

該当する試験は実施していない。