

ラットにおける経口投与光毒性試験

- 有色動物を用いた光毒性・光皮膚小核併合試験法の検討

森村智美¹, 関 剛幸¹, 豊泉友康², 高岡 裕¹, 斉藤義明³

Oral dose phototoxicity study in rats

- A study of combined phototoxicity and photochemical skin micronucleus test method

Tomomi MORIMURA¹, Takayuki SEKI¹, Tomoyasu TOYOIZUMI², Yutaka TAKAOKA¹, Yoshiaki SAITO³

光毒性を検出する試験法としては、培養細胞を用いた *in vitro* 光毒性試験と動物を用いた *in vivo* 光毒性試験がある。 *In vitro* 光毒性試験法ガイドラインは、欧州を中心に主として化粧品および外用薬の光毒性を評価するために整備され¹⁾、現在、FDA および EMEA により取りまとめられた光安全性試験のガイダンス^{2,3)} の中でも光毒性評価法として掲載されている。一方、*in vivo* 光毒性試験は、*in vitro* 光毒性試験にて陽性反応が認められた場合、あるいは、経口投与など光毒性物質の全身暴露による影響を考慮する場合に実施されることがあるが、試験法についてのガイドライン整備は進んでいない。

われわれは、これまで、マウス、ラットおよびモルモットを用いた経口投与による光毒性試験を行ってきた。さらに、動物を有効利用する観点から、経口投与光毒性試験と光皮膚小核試験との併合試験の有用性についても検討を加えてきた。併合試験では、これまでいくつかの既知光毒性物質についてアルビノ動物を用いて検討してきたが、メラニン親和性を有する化学物質の光毒性の評価においては、ヒトと同様に皮膚や眼にメラニン顆粒が分布する有色動物を用いた光毒性試験が有効であると考えられる。

今回、経口投与光毒性試験の検討の一環として、皮膚に有色部分とアルビノ部分の両方を有するロン

グエバンス系ラットを用いて光毒性試験法を検討したので報告する。今回の試験では、これまでと同様に光毒性試験後の皮膚を用いて光皮膚小核試験を行ったほか、光毒性物質による影響が懸念される眼^{2,3)} についても検査したので、併せて報告する。

材料および方法

1. 投与物質

投与物質として、秦野研究所で経口投与光毒性試験の陽性対照物質として使用している既知の光毒性物質である 8-メトキシソラレン (8-methoxypsoralen: 8-MOP, シグマアルドリッチ, 東京) およびロメフロキサシン塩酸塩 (lomefloxacin HCl: LMFx, シグマアルドリッチ, 東京) を選択した。8-MOP は、経皮および経口投与によって強い光毒性を示す。また、ヒトの PUVA 療法に用いられているほか、「医薬部外品の製造販売承認申請及び化粧品基準改正要請に添付する資料に関する質疑応答集 (Q&A) について」(平成 18 年 7 月 19 日, 厚生労働省医薬食品局審査監理課事務連絡) において、光毒性試験の陽性対照物質として記載されている。ロメフロキサシンはフルオロキノロン系抗菌剤の一種で、経口投与によって光毒性を示す。メラニン親和性が確認されている⁴⁾ ほか、マウスで光毒性が現れることが報告されており⁵⁻⁷⁾、マウスを用いた抗菌剤の経口投与光毒性試験における陽性対照物質として使われることもある⁷⁾。また、ヒトの紫外線による最小紅斑量を低下させること⁸⁾、疫学調査で 30 日以上服用した人々の光線過敏症発症率

1 毒性学第 2 研究室

2 遺伝学研究室

3 病理学研究室

が1.03%であったこと⁹⁾などが報告されている。

8-MOPはコーン油(ナカライテスク, 京都)を, LMFxは0.5 w/v% カルメロースナトリウム水溶液(carmellose sodium: CMC Na, 丸石製薬, 大阪)を, それぞれ媒体として用い懸濁液とした。8-MOP懸濁液は投与当日に調製した。冷蔵, 遮光条件下で8日間の安定性が確認されているLMFX懸濁液については調製後4日以内に使用した。

今回の実験では, これまでの試験で使用してきた用量である10 mg/kg (8-MOP) および80 mg/kg (LMFX) を選択し, 単回投与後, 紫外線を単回照射した。また, 投与物質のメラニン親和性による皮膚への蓄積性を考慮し, 5 mg/kg (8-MOP) および40 mg/kg (LMFX) の用量で7日間反復投与後, 紫外線を単回照射した。なお, 媒体は全て反復投与と同様, 7日間反復投与後, 紫外線を単回照射した。また, 投与容量は全て5 mL/kgとした。

2. 動物

動物は, 有色動物として眼科領域の実験や光安全性試験に広く用いられているロングエバンス系(Iar:Long-Evans, SPF, 財団法人動物繁殖研究所, 茨城)ラット(図1)を選択した。試験には, 1週間の検疫馴化期間を経た5週齢の雄ラット(体重122.7~147.4 g, 体重平均値137.2 g)を使用した。動物数は1群5匹とし, 検疫馴化期間

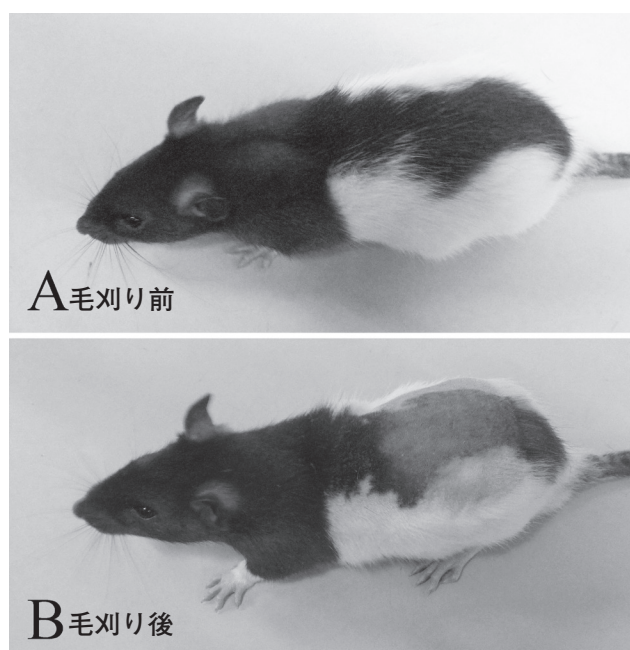


図1 ロングエバンス系ラット

最終日の体重を基に体重別層化無作為抽出法により群分けした。なお, 観察第2日の眼科学的検査時, 保定の過誤に起因すると考えられる呼吸停止により8-MOPの5 mg/kg反復投与群の1例が死亡したため, この群については死亡例を除く4例のデータを採用した。

3. 照射装置

光線はA領域紫外線(ultra violet A: UVA)を選択した。今回の投与物質は吸収波長にUVAを含む。また, UVAは可視光線と比較して光化学反応に必要な光エネルギーが高く, UVBと比較して皮膚の深部まで到達することから, 体内に吸収された化学物質が励起され, 光毒性反応が生じやすい波長とされている。実験には, 光源として14本のUVA灯(FL32S・BL/DMR, 352 nm)を装備した紫外線照射装置デルマレイ(M-DMR-100型, 東光電気, 東京)を用いた。紫外線照射時には, 光線単独でも紅斑を起こしやすいB領域紫外線(ultra violet B: UVB)を減弱させるため, ガラスフィルターを用いた。

4. 投与および紫外線照射

非絶食下で, ラット用胃管を用いて強制経口投与した。7日間反復投与群では第7日の投与に先立ち, 単回投与群では投与に先立って, 刈毛および剃毛した。なお, 各動物の投与液量(mL)は反復投与群では最新時, 単回投与群では投与日の体重を基に算出した。投与後, 各動物を照射用金網ケージに個別に収容した。均一に紫外線を照射するために動物を回転台に乗せ, 投与後約1.5時間(8-MOP)または投与後約1時間(LMFx)経過したのち, 約1時間かけて10 J/cm²のUVAを照射した。また, 照射に先立ち, 紫外線強度計(UVR-3036/S型, トプコン, 東京)を用いて, およその照射位置におけるUVAの照射強度(mW/cm²)を測定し, 10 J/cm²の照射線量が得られるよう照射時間を設定した。

5. 検査項目

1) 皮膚反応の評価および耳介厚の測定

投与前, 照射後2, 24, 48, 72および96時間に耳介厚を測定し, 皮膚反応を観察した。耳介厚は, シックネスゲージ(547シリーズ, ミットヨ, 神奈川)を用いて左右の耳介について計測し, 左右の平均値を各個体の耳介厚とした。耳介および

背部の皮膚反応については、Draize らの方法¹⁰⁾に準じて、アルビノ部分と有色部分に分けて、紅斑および浮腫を0(反応なし), 1(軽微), 2(軽度), 3(中等度) および 4(強度) の5段階に評点化した。

2) 一般状態の観察および体重測定

一般状態の観察は、投与期間中には投与前および投与後に1日2回、照射日(=観察第1日)には投与前、投与後および照射後の3回、照射日の翌日以降は1日1回行った。体重は、投与第1, 4および7日の投与前ならびに観察第4日に測定した。また、死亡動物については、死亡時に体重を測定した。

3) 眼科学的検査および病理組織学的検索

検疫期間中および照射前日、照射日(照射後)以降1日1回、肉眼的に観察した後、スリットランプ(興和, 愛知), 眼底カメラ(興和, 愛知)および双眼倒像鏡(キラー, Windsor)を用いて前眼部, 中間透光体および眼底を観察した。観察期間終了後, ペントバルビタールナトリウム(ソムノペンチル)麻酔下で放血により全例を安楽致死させ, 眼球を摘出した。右眼球はグルタルアルデヒド液に, 左眼球はダビッドソン液にて固定した。病態の把握に努めるため, 眼科学的検査において認められた変化(第一選択に水晶体皮質混濁, 第二選択に角膜混濁)の強い動物から各群2例を選抜し, その眼球について組織標本(HE染色)を作製し, 病理組織学的に検索した。

4) 小核観察

病理組織学的検査のための採材に引き続き, 背部(照射部位)および腹部(非照射部位)の皮膚の一部(有色部分とアルビノ部分を含む)を採材した。採取した皮膚のうち, 全ての動物の背部および腹部の有色部分から2~3cm角の皮膚片を, さらに, 8-MOPの媒体対照群および10mg/kg単回投与群ならびにLMFXの80mg/kg単回投与群の各2例については, 背部のアルビノ部分からも同様に皮膚片を採取した。採取した皮膚片は4℃で一晩トリプシン処理した後, 表皮細胞を単離した。次いで, 低張処理およびカルノア固定を行い, 表皮細胞懸濁液を調製した。表皮細胞懸濁液をスライド上に滴下してスライド標本作製し, このスライド標本をコード化した。アクリジンオレンジ染色したスライド標本を蛍光顕微鏡(B励起)下で観察して表皮細胞を計測し(2000

個/4人/匹), そのうち小核を有する表皮細胞数を小核出現頻度とした。

6. データ解析

皮膚反応は, 耳介および背部の部位別に, 観察期間中の紅斑または浮腫の評点を個体別に合計し, 各個体の評価点とした。また, 皮膚反応が認められた場合を陽性とし, 群ごとに陽性率を算出した。

耳介厚は, 投与前を基準に個体別に増加量を算出し, この増加量について各群の平均値および標準偏差を求めた。また, 媒体対照群と被験物質投与群との平均値の差について, Bartlettの方法による分散の一様性を検定した後, 一元配置型の分散分析およびDunnnett検定(パラメトリック), またはKruskal-Wallisの順位和検定およびDunnnettの検定(ノンパラメトリック)によって多重比較検定を行った。なお, いずれの検定も有意水準は5%とした。

小核出現頻度について, 有色部分の各媒体対照群と各被験物質投与群との間で, 条件付二項検定(Kastenbaum and Bowmanの表)を行った。検定の有意水準は5%とした。

結果

1. 皮膚反応の評価(表1)

1) 8-MOP

5mg/kg反復投与群では有色部分とアルビノ部分ともに背部皮膚の反応は照射後24時間から認められはじめ, 照射後72時間にかけて次第に顕著となった。有色部分のみから成る耳介では, 72時間に皮膚反応(紅斑)が1例で観察された。照射後24, 48および72時間の陽性率は, 有色部分で25, 50および75%, アルビノ部分で25, 75および75%となった。10mg/kg単回投与群でも背部皮膚の反応は有色部分とアルビノ部分ともに照射後24時間より時間経過とともに増強され, 耳介では, 照射後48および72時間に皮膚反応が観察された。陽性率は照射後24時間から全て100%となった。なお, 5および10mg/kg投与群ともに背部皮膚では有色部分と比較してアルビノ部分において評価点が高い傾向にあり, 個体別に紅斑および浮腫の評点を比較した場合, 5mg/kg投与群の1例を除き, 浮腫の評点に差はなく, 紅斑の評点がアルビノ部分で高値となった。

表 1 皮膚反応の評価

Pigmented area		Mean score of skin reactions (time after irradiation, hr)															Positive rate (%)					
Group	Number of animals	Ears					Dorsal skin					Total ^{b)}					(time after irradiation, hr)					
		Pre.	2	24	48	72	Pre.	2	24	48	72	Pre.	2	24	48	72	Pre.	2	24	48	72	
Corn oil	5	0 ^{a)}	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8-MOP																						
5 mg/kg ^{c)}	4	0	0	0	0	0*	0	0	0*	1	1	0	0	0*	1	1	0	0	25	50	75	
10 mg/kg ^{d)}	5	0	0	0	2	6	0	0	1	2	3	0	0	1	5	9	0	0	100	100	100	
0.5% CMC	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
LMFX																						
40 mg/kg ^{c)}	5	0	0*	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0*	0	0	0	0	40	0	0	0	0
80 mg/kg ^{d)}	5	0	1	0	0	0	0	0*	0	0	0	0	2	0	0	0	0	100	0	0	0	0

Albino area

Group	Number of animals	Mean score of skin reactions (time after irradiation, hr)					Positive rate (%)				
		Dorsal skin					(time after irradiation, hr)				
		Pre.	2	24	48	72	Pre.	2	24	48	72
Corn oil	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8-MOP											
5 mg/kg ^{c)}	4	0	0	0*	2	2	0	0	25	75	75
10 mg/kg ^{d)}	5	0	0	1	3	4	0	0	100	100	100
0.5% CMC	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
LMFX											
40 mg/kg ^{c)}	5	0	1	0	0	0	0	80	0	0	0
80 mg/kg ^{d)}	5	0	2	0	0	0	0	100	0	0	0

- a) 評価点（各動物の紅斑・痂皮の評点+浮腫の評点）の平均値
- b) 個体別に耳介の評点と背部皮膚の評点を合計し、その平均値を算出
- c) 7日間反復投与群
- d) 単回投与群
- * 一部陽性例を含む

表 2 耳介厚増加量

Group	Number of animals	Increase in ear thickness ^{a)} (mm)			
		Time after irradiation (hr)			
		2	24	48	72
Corn oil	5	-0.01	0.00	0.00	-0.02
8-MOP					
5 mg/kg ^{b)}	4	-0.01	0.00	0.01	0.00
10 mg/kg ^{c)}	5	0.00	0.03*	0.19*	0.39*
0.5% CMC	5	-0.01	0.00	0.00	-0.02
LMFX					
40 mg/kg ^{b)}	5	-0.01	0.01	0.00	-0.01
80 mg/kg ^{c)}	5	0.00	0.01	0.00	-0.01

- a) 照射前の耳介厚を基準として動物毎に照射後の耳介厚増加量を算出
- b) 7日間反復投与群
- c) 単回投与群
- * 媒体対照群と比較して有意差あり (p<0.01)

表3 眼科学的検査結果（水晶体の混濁）

Group	Number of animals	Opacity of cortex, lens ^{a)}																								
		----- Time after irradiation (hr) -----																								
		Pre.					2					24					48					72				
	-	±	+	2+	Pos.	-	±	+	2+	Pos.	-	±	+	2+	Pos.	-	±	+	2+	Pos.	-	±	+	2+	Pos.	
Corn oil	5	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0
8-MOP																										
5 mg/kg ^{b)}	4	4	0	0	0	0	4	0	0	0	0	4	0	0	0	0	4	0	0	0	0	2	2	0	0	2
10 mg/kg ^{c)}	5	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	3	2	1	0	3	0	1	3	1	5
0.5% CMC	5	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0
LMFX																										
40 mg/kg ^{b)}	5	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0
80 mg/kg ^{c)}	5	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0

a) 指標: 所見が認められた例数

b) 7日間反復投与群

c) 単回投与群

2) LMFx

40 mg/kg 反復投与群および 80 mg/kg 単回投与群ともにアルビノ部分の背部皮膚において照射後 2 時間に皮膚反応が観察され、背部の有色部分では皮膚反応は観察されなかった。有色部分のみから成る耳介では、40 および 80 mg/kg 投与群ともに照射後 2 時間に皮膚反応（80 mg/kg 投与群の 1 例を除き紅斑のみ）が観察された。

2. 耳介厚（表2）

1) 8-MOP

10 mg/kg 単回投与群では、照射後 24 時間から 72 時間にかけて時間の経過とともに耳介が肥厚し、各媒体対照群と比較して有意な増加となった。5 mg/kg 反復投与群では耳介厚の変化は観察されなかった。

2) LMFx

40 mg/kg 反復投与群および 80 mg/kg 単回投与群ともに耳介厚の変化は観察されなかった。

3. 一般状態および体重

実験期間中、一般状態の変化は観察されなかった。また、体重も媒体対照群を含めて各群順調な増加を示し、群間差は認められなかった。

4. 眼科学的検査（表3）

8-MOP の 5 mg/kg 反復投与群では照射後 72 時間に 4 例中 2 例、10 mg/kg 単回投与群では照射後 48 時間に 5 例中 3 例、照射後 72 時間には全例で水晶体皮質の混濁が観察された。LMFx 投与群

では水晶体皮質の変化は観察されなかった。また、それぞれの媒体対照群を含む各群で角膜混濁が観察され、いずれの群でも照射後、頻度および程度ともに増強されたが、群間に差はなかった。

5. 小核出現頻度（表4）

1) 8-MOP

有色部分の照射部位では、5 mg/kg 反復投与群および 10 mg/kg 単回投与群ともに媒体対照群と比較して小核出現頻度が有意に増加した。アルビノ部分でも照射部位では、観察を行った 10 mg/kg 単回投与群において小核出現頻度の増加が認められた。なお、非照射部位では、各媒体対照群と比較して各被験物質投与群で有意差は認められなかった。

2) LMFx

有色部分の照射部位では、80 mg/kg 単回投与群で媒体対照群と比較して小核出現頻度がわずかに増加したが、有意な変化とはならなかった。アルビノ部分の照射部位では、観察を行った 80 mg/kg 単回投与群において小核出現頻度の増加は認められなかった。なお、非照射部位では、媒体対照群と比較して各被験物質投与群で有意差は認められなかった。

考察

今回、光毒性試験法の検討の一環として、皮膚に有色部分のあるロングエバンス系ラットに

表 4 皮膚小核出現頻度

Pigmented area							
Group	Number of animals	Irradiated area			Non-irradiated area		
		Number of cells		Group Mean ^{c)} (%, Mean ± SD)	Number of cells		Group Mean ^{c)} (%, Mean ± SD)
		Scored ^{a)}	MN cells ^{b)}		Scored ^{a)}	MN cells ^{b)}	
Corn oil	5	10000	40	0.40 ± 0.22	10000	10	0.10 ± 0.07
8-MOP							
5 mg/kg ^{d)}	4	8000	84*	1.05 ± 0.62	8000	12	0.15 ± 0.07
10 mg/kg ^{e)}	5	10000	140*	1.40 ± 0.58	10000	16	0.16 ± 0.14
0.5% CMC	5	10000	44	0.44 ± 0.27	10000	12	0.12 ± 0.08
LMFX							
40 mg/kg ^{d)}	5	10000	38	0.38 ± 0.22	10000	16	0.16 ± 0.11
80 mg/kg ^{e)}	5	10000	60	0.60 ± 0.31	10000	12	0.12 ± 0.10

Albino area

Group	Number of animals	Irradiated area		
		Number of cells		Group Mean ^{c)} (%, Mean ± SD)
		Scored ^{a)}	MN cells ^{b)}	
Corn oil	2	4000	11	0.28 ± 0.25
8-MOP				
10 mg/kg ^{e)}	2	4000	58	1.45 ± 0.14
LMFX				
80 mg/kg ^{e)}	2	4000	12	0.30 ± 0.00

a) 観察した表皮細胞数

b) 観察した表皮細胞のうち、小核を有する表皮細胞数（小核出現頻度）

c) 小核を有する表皮細胞数の割合

d) 7日間反復投与群

e) 単回投与群

* 媒体対照群と比較して有意差あり ($p < 0.01$)

8-MOP および LMFX を単回または 7 日間反復投与し、以下の成績を得た。

背部の皮膚反応は、アルビノ部分および有色部分ともに 8-MOP 投与では時間経過とともに増強され、LMFX 投与では照射後 2 時間のみ発現した。これらの反応は SD 系ラットあるいはアルビノ系マウスを用いた光毒性試験と同様の結果であり、ロングエバンス系ラットでも他の系統と同様、光毒性の評価が可能であると考えられた。しかし、有色部分とアルビノ部分を比較した場合、有色部分の方が紅斑の評点が低い傾向にあった。浮腫の評点には差がないことから、有色部分の皮膚の反応性が低い可能性よりも皮膚色が紅斑の評価を妨げている可能性が考えられた。また、今回の結果からは、反復投与によるメラニンへの投与物質の蓄積を示唆する光毒性反応の増強は明らかではな

かったことから、今後、有色部分をより有効に活用する手法を検討する必要があると考えられた。耳介の皮膚反応は、8-MOP 投与群および LMFX 投与群で背部皮膚と同様の変化が観察されたが、耳介の皮膚は全て有色部分となることから、背部皮膚と同様、紅斑の評価には適さないと考えられ、今後、皮膚反応観察の実施の有無も含めて検討する必要があると考えられた。

耳介厚は、8-MOP 投与では時間経過とともに肥厚し、8-MOP の光毒性を良く反映していると考えられた。しかし、LMFX 投与により生じる照射後速やかに現れる一過性の皮膚反応は、耳介厚には反映されなかった。これは、通常用いているアルビノ系ラットおよびマウスでも同様の結果が得られており、今回用いた系統でも同程度の感度であることが示唆された。

眼科学的検査では、8-MOP 投与群で水晶体皮質の混濁が観察された。8-MOP 投与による水晶体への影響は、ヒトにおける PUVA 療法の副作用として知られているほか¹¹⁾、ラット摘出水晶体上皮を用いた *in vitro* 試験系によって、その標的が DNA であることが確認されている¹²⁾。今回認められた水晶体皮質の混濁も 8-MOP による光毒性の一つであると考えられた。また、各群で観察された角膜混濁の増強は、各媒体対照群でも観察されたことから、紫外線による影響であることが示唆された。今回、投与物質の光毒性評価に直接は反映しないが、紫外線の影響が眼球で観察された。この結果から、動物の頭部を固定するな

どして強制的に直接眼球へ紫外線を照射しなくても、毒性変化を及ぼす程度の紫外線が眼球に照射されていることが確認できた。

動物の有効利用の観点から実施した光皮膚小核試験では、8-MOPについて有色部分およびアルビノ部分ともに小核出現頻度の増加が認められたが、LMFXについてはどちらの部位においても明らかな変化は認められなかった。LMFXについては、Hos:HR-1ヘアレスマウスに擬似太陽光を照射した試験条件において、今回よりも低い投与用量で光照射による小核出現頻度の増加が報告されていること¹³⁾、ICR系マウスとSD系ラットを用いた皮膚小核試験において、SD系ラットのほうが媒体対照群の小核出現頻度がわずかに高いと報告されていること¹⁴⁾などから、光毒性の検出感度を向上させるために、剖検時期、動物種および照射回数などの試験条件を検討する必要があると思われた。

今回、有色動物であるロングエバンス系ラットを用いて光毒性試験を実施した結果、眼球を含む光毒性試験と光皮膚小核試験が同一個体を用いて評価可能であることがわかった。今後、有色動物を用いることの有用性を確認するため、有色部分とアルビノ部分との比較方法、有色部分の評価方法、有色部分の光皮膚小核試験結果の意義などについて検討していく必要があると考えられた。

謝辞

今回の試験に携わった太田亮、川上久美子、須井哉、田面喜之、千坂亜希子、野口聡および松本亜紀の各氏に謝意を表します。

参考文献

- 1) OECD guidelines for the testing of chemicals, Test No. 432: In Vitro 3T3 NRU Phototoxicity Test, 2004
- 2) Guidance for industry photosafety testing, Center for Drug Evaluation and Research Food and Drug Administration, 2003
- 3) Note for Guidance on Photosafety Testing, The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products, 2002
- 4) 寺井正, 池尻芳文, 松本隆弘ら: 有色動物における Lomefloxacinの眼内動態. あたらしい眼科, 1993; 10: 2067-2070
- 5) Mayne JT, Johnson NJ, Kluwe WM, et al.: A study of the phototoxic potential of trovafloxacin in BALB/c mice. *J. Antimicrob. Chemother.* 1997; 39: 67-73
- 6) Wagai N, Yamaguchi F, Sekiguchi M, et al.: Phototoxic potential of quinolone antibacterial agents in BALB/c mice. *Toxicol. Lett.* 1990 ; 54: 299-308
- 7) Owen K: Comparative grepafloxacin phototoxicity in mouse skin. *J. Antimicrob. Chemother.* 1998; 42: 261-264
- 8) Ferguson J, McEwen J, Al-Aimi H, et al.: A comparison of the photosensitizing potential of trovafloxacin with that of other quinolones in healthy subjects. *J. Antimicrob. Chemother.* 2000 ; 45 : 503-509
- 9) Arata J, Horio T, Soejiam R, et al.: Photosensitivity reactions caused by lomefloxacin hydrochloride: a multicenter survey. *Antimicrob. Agents. Chemother.* 1998 ; 42 : 3141-3145
- 10) Draize JH: Dermal Toxicity. In "Appraisal of the Safety of Chemicals in Foods, Drugs and Cosmetics" 3rd printing, The Association of Food and Drug Officials of the United States, Texas, 1975 ; 49-52
- 11) William B: Determination of 8-methoxypsoralen in serum, aqueous, and lens: relation to long-wave ultraviolet phototoxicity in experimental and clinical photochemotherapy. *Trans. Am. Ophthalmol. Soc.* 1979 ; 77: 464-514
- 12) Jose JG, Yielding KL: Photosensitive cataractogens, chlorpromazine and methoxypsoralen, cause DNA repair synthesis in lens epithelial cells. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 1978; 17: 687-691
- 13) Itoh S, Katoh M, Furuhashi K: In vivo photochemical micronucleus induction due to certain quinolone antimicrobial agents in the skin of hairless mice. *Mutat. Res.* 2002; 520: 133-139
- 14) Nishikawa T, Haresaku M, Fukushima A, et al.: Further evaluation of an in vivo micronucleus test on rat and mouse skin: results with five skin carcinogens. *Mutat. Res.* 2002; 513: 93-102