Altern. Animal Test. EXperiment. 10 (2), 68- 75 (2004)

第3章　*In vivo* 光毒性試験法について

担当：板垣宏

3-1）はじめに

In vivo で光毒性を評価する方法については、かなり古くから研究がなされてきたが、ガイドラインとして正式に認められたものは未だ存在していない。1995年にOECD毒性試験ガイドラインドラフトとして、白色ウサギまたは白色モルモットを用いる「Acute Dermal Photoirritation Screening Test」及び「Acute Dermal Photoirritation Dose-Response Test」が提案されているがまだ採用には至っていない。

本邦においては、昭和63年～平成元年度に「新化粧品等安全性評価指針」の検討班（黒川雄二班長）により「化粧品毒性試験法ガイドライン案」が作成され、動物を用いる光毒性試験の案が示されている（黒川，1990）。この「化粧品毒性試験法ガイドライン案」には、当時文献で報告されている光毒性試験法を記載したため、動物種や投与方法の違いを考慮し、3種の提案がなされていた。この研究班の成果は「化粧品・医薬部外品製造ガイドブック」に活用されている（日本公定書協会編，1994）。さらに2001年に出版された「化粧品の安全性評価に関する指針2001」（日本化粧品工業連合会編，2001）では、「化粧品・医薬部外品製造ガイドブック」に比較し、より具体的な記述として、白色ウサギまたは白色モルモットを用いる方法が記載されている。

これらの試験法のガイドライン化が進展しない理由の一つとして動物愛護運動が考えられるが、その他の理由としては、古くから各種の試験法の検討がなされてきたため、一つの試験法に集約することもしくは一つの試験法を選択することが困難なためと考えられる。このように数多くの試験法が検討されてきた背景には、光毒性を示す化合物が多岐にわたっていることがある。例えば、抗生物質やサルファ剤等では、全身適用後、光があたった皮膚に毒性が発現し、光毒性があるとされ、それを動物実験で再現する試験系として、経口投与や腹腔内投与が検討され、さらにその投与経路に適した動物種が選択されてきたものと考えられる。一方、植物から抽出された精油や香料等の外用により発現する光毒性も古くから知られており、これを再現する試験系として、経皮適用に適した動物種が検討されてきた。

ヒトにおいては、光アレルギー性を検討する光パッチテストは存在しているが、光毒性を評価する試験法はまだない。現在、EUでは光パッチテスト研究グループが、光毒性を評価するプロトコールを検討している。

以下に個々の試験法の内容を詳述する。

3-2）動物を用いる試験法における要因

これまで報告されている動物試験法を概観してみると、社会で問題となっている被験物質の光毒性を動物実験で検出することを目的に開発されたものであることがわかる。即ち、問題となった被験物質を問題となった投与経路で投与し、一定時間の後に光照射を行い、光毒性による生体反応を評価している。それらは以下の条件の異なる様々なものがある。

●動物
- 種（ウサギ、モルモット、マウス）・性、週令・体重

●被験物質の適用方法
- 適用経路（全身あるいは局所）、暴露時間、適用量、媒体、被験物質適用から光照射までのラグタイム

●光照射方法
- 光源の種類、照射強度、照射量、照射部位

Presented by Medical*Online

●評価方法

・観察の指標（皮膚反応、重量測定、膨潤測定）、観察期間

なお、光照射に関する要因については、*In vitro* 試験も含め光毒性を評価する試験法全般に係わり、種々の総説にも記載されているので詳細な議論は本報告では割愛する。

3-3）経皮投与による試験法

経皮投与は、化粧品や外用薬のように皮膚に塗布される製品に配合される原料の評価に重要であり、過去には種々の動物の使用が検討されてきた。Marzulli らは、Bergamot oil や Bergapten（5-methoxypsoralen；5-MOP）の光毒性について、ウサギやヘアレスマウスは、モルモット、ブタに比較し感度が良いこと及びハムスターやサルはそれらより感度が低いことを報告している（Marzulli *et al.*, 1970）。また Girard らは、Bergamot oil を用いてモルモットとヒトの光毒性反応を比較し、モルモットは若干反応が低いことを報告している（Girard *et al.*, 1979）。Morikawa らは、8-MOP を用いた検討から、感受性はウサギが最も高く、以下ラット、モルモット、ヘアレスマウス、マウス、ミニブタの順であったと報告している（Table 3-1）（Morikawa *et al.*, 1974）。さらに被験物質を増やした検討によりモルモットよりウサギの方が検出感度が高いことを報告している（Table 3-2）（Morikawa *et al.*, 1974）。

しかし、ウサギには、毛周期があるため休止期のものを選択しなければならないという欠点を有しており、検出感度はウサギより低いが取扱いの容易なモルモットを用いる試験が普及したものと考えられた。

モルモットを用いる経皮投与の試験としては、1975 年に出版された「新しい毒性試験と安全性の評価」に森川が記述したものがあり（森川，1975）、一部修正した試験法を含め化粧品および化粧品原料の光毒性評価に広く用いられている（中山ら，1985, 門馬ら，1993, Kim *et al.*, 1999, Kobayashi *et al.*, 1999）。この試験方法の概略を以下に記す。

・体重約 400g の正常な Hartley 系白色モルモットまたは体重 2.5kg ～ 3.0kg の白色ウサギ 10 匹を使用する。
・モルモットは背部を毛刈し、Tioglycolic acid を含む脱毛クリームにて脱毛後、24 時間に試験に供する。
・動物は固定器に腹位に固定し、背部脱毛部位 2 × 2cm^2 に、適切な溶媒に溶解した被験物質 50μL を左右 2 列に塗布し、片側をアルミフォイルで被覆し遮光する。
・塗布後 30 分に紫外線を照射する。光源は東芝製 UV ランプの FL-40BLB、FL-40SE、FL-40SW-SDL-AP・NU を単独、または組み合わせて使用し、ガラスフィルターにより 320nm 以下の紫外線を遮断する。照射エネルギー量は 14.1J/cm^2 である。
・判定は、光照射後 24、48、72 時間に皮膚反応の観察による（紅斑と痂皮、浮腫を別個に 0 ～ 4 のスコアで評価）。

なお、この試験手順は、幾つかの変更点はあるが、「化粧品の安全性評価に関する指針 2001」の光毒性試験に記述された内容の原点と考えられる。

この試験法における大きな要因としては、光照射までのラグタイムが挙げられる。中山らは、Bergapten の事例で、塗布直後に照射を開始すると試料自体の分解により反応強度が弱くなり、またラグタイムが長くなると皮膚内濃度の低下のため反応強度が低下することを報告している（中山ら，1985）。このラグタイムについては Lovell らも Acridine、Anthracene 及び 8-MOP を用いて詳細に検討しており、15 分と 30 分では媒体の影響は小さいが、60 分では媒体の影響が大きくなること、また、7.5 分では皮膚反応は弱い傾向にあることを報告している（Lovell *et al.*, 1992）。彼らは、さらに観察時間についても検討しており、Acridine と Anthracene は照射後 4 時間が反応

Presented by Medical*Online

最大、8-MOP は 72 時間後が最大となったことを報告している（Lovell *et al.*, 1992）。

その他の要因として、損傷皮膚への適用、媒体効果及び光源の波長等が挙げられる。Morikawa らは、損傷のない皮膚への適用では捉えられなかった Xanthene 系色素の光毒性が、被験物質の皮内注または損傷皮膚への適用により捉えることが可能になったこと、並びに経皮適用では用いる媒体により反応の強度が影響されることを報告している（Morikawa *et al.*, 1976）。さらに、彼らは可視部に吸収をもつ Xanthene 系色素の光毒性評価では、可視部に極大波長をもつ光源が有効であることも報告している（Morikawa *et al.*, 1976）。

現在、動物を用いる最新の光毒性評価法として OECD ガイドライン案がある。このガイドライン案は「Acute Dermal Photoirritation Screening Test」と「Acute Dermal Photoirritation Dose-Response Test」の 2 部から構成されている。ガイドライン案では、動物福祉の観点から無用な試験の実施を避け、また強刺激性物質の試験を最小限にすることに重点が置かれている。そのため、構造活性相関により皮膚腐食性が予測される物質、pH2 以下の強酸および pH11.5 以上の強アルカリ、経皮投与で高い毒性を示す物質、さらには 310 ～ 420nm の紫外部に吸収を持たない物質については試験の実施を要しないとの記載がある。また動物試験に先駆け *In vitro* 試験を実施し、結果が陰性の場合には「Acute Dermal Photoirritation Screening Test」、結果が陽性の場合には「Acute Dermal Photoirritation Dose-Response Test」を実施することが求められている（Fig. 3-1）。これらのガイドライン案は経皮投与における試験法であり、Morikawa 法と比較すると動物種としてウサギを推奨している点及び観察時間の相違はあるが、試験自体は良く類似している。また本邦における「化粧品の安全性評価に関する指針 2001」においても試験自体は類似していることから経皮投与の試験法についてはほぼ大枠のコンセンサスが得られているものと考えられる（Table 3-3）。

3-4）経口投与や腹腔内投与による試験法

経口投与や腹腔内投与は、抗生物質やサルファ剤等の全身適用を目的とする医薬品等における光毒性評価法として検討されてきた。腹腔内投与の系としては、Ison らは、hrs/J 系のヘアレスマウスに被験物質を投与して紫外線（300 ～ 400nm）を 320μW/cm^2 で 48 時間照射し、その後の皮膚反応（紅斑や浮腫）を肉眼観察することにより光毒性物質を検出できることを報告している（Ison *et al.*, 1967）。Sams らは、モルモットの腹腔内に被験物質を投与して 4 ～ 10 時間太陽を光照射し、その後耳介の傷害を肉眼観察することにより光毒性物質を検出できることを報告している（Sams *et al.*, 1967）。また、彼らは太陽光を各種人工光源に変えた系についても報告している（Sams, 1966）。

経口投与により医薬品等の光毒性を評価する試験法としては Wagai らの方法がある（Wagai *et al.*, 1990）。この方法は、被験物質を経口投与したマウスの全身に光照射し、耳介の皮膚反応と厚さを評価するものであり、医薬品の光毒性評価で汎用されている（Shimoda *et al.*, 1993, Mayne *et al.*, 1997）。試験法の概略を以下に記述する。

- 6 ～ 7 週令（17.1 ～ 18.8g）の雌性 BALB/c マウスを用いる（1 群 4 ～ 6 匹）。
- 被験物質としては、quinolone 系抗生物質等が用いられ、媒体（0.5 % carboxymethyl-cellulose）を陰性対照としている。
- 10mL/kg を単回経口投与。
- 照射は東芝製 UV ランプ（FL-0SBLB）を用いて経口投与直後から、全身に 4 時間照射（21.6 J/cm^2）。
- 判定は、光照射後 0, 24, 48 時間に耳介の紅斑・浮腫を肉眼観察するとともに耳介の厚さを測定する。また、48 時間の観察後に耳介を採取し、病理組織検査を実施する。
- 投与濃度と紅斑の発生頻度をプロットし、紅斑を 50％誘導する濃度（EID50）を算

Presented by Medical*Online

出することで、抗生物質の光毒性強度を比較することも可能である。

Wagai らの試験法は、マウスの耳介の厚さを測定する点では「3-5）その他の投与方法による試験法」に記述する Mouse Ear Swelling 法（MES 法）に類似しているが、被験物質の投与経路が経口である点で大きく異なる（Wagai *et al.*, 1990）。また、Horio らはモルモットに抗生物質を経口投与し、UVA 30J/cm² 照射後の皮膚反応を肉眼観察している（Horio *et al.*, 1994）。

その他、全身適用における光毒性評価系としては、Ljunggren らにより開発された方法がある（Ljunggren, 1977, Ljunggren *et al.*, 1984）。この方法は、マウスの腹腔内投与後に尾の部分のみ光照射し、終了後に尾を切断する。採取した尾を乾燥し、乾燥前後の尾の重量から評価するものである。試験法の概略を以下に記述する。

・雌性マウス（NMRI）で 1 群 5 匹以上を使用、週令等の記述はない。
・被験物質は腹腔内投与（溶けにくい物質は経口投与）。
・用量は 2.5mg/kg ～反応量（致死量）。
・投与後直ちに、尾の部分のみ光照射（5mW/cm²/sec）、5 時間で 90J/cm²。
・光源は Philips TL 40W/08（UVA, peak 355nm）。
・屠殺は被験物質で異なるが多くの場合、照射開始から 24 時間後。
・尾の先 0.5cm の部位から 2cm の長さを切断採取。
・110℃で 3 時間乾燥し、乾燥前後の重量変化から相対的水分量を算出。

なお、本論文には、光毒性の有無に関する基準の記載はなく、さらに反応のピークが chlorpromazine では 24 時間、8-MOP では 72 時間と異なっており、尾の採取時期が増える程動物数が必要であるという問題点を有している。

いずれにしても全身適用系の薬剤の評価では、薬剤の体内動態との関係で照射時間や照射までのラグタイムについて検討する必要があると思われる。

3-5）その他の投与方法による試験法

その他の試験法としては、被験物質を耳介に塗布して光照射後の腫脹の厚さを測定する Ear Swelling 法（Gerberick *et al.*, 1989, Stott *et al.*, 1970）、皮内投与後に光照射して皮膚の厚さを測定する方法（Selvaag *et al.*, 1997a, Selvaag *et al.*, 1997b）、光感作性試験の対照群の皮膚反応から光毒性を評価する方法（Buehler *et al.*, 1985）などが挙げられる。

Gerberick らは、マウスの耳介腫脹測定（Mouse Ear Swelling（MES））を提案している（Gerberick *et al.*, 1989）。試験法の概略を以下に記述する。

・BALB/c 系雌性マウス（20 ～ 25g）を用い 1 群 4 ～ 5 匹を使用する。
・被験物質または媒体（acetone, acetone-corn oil, MtOH）を両耳に 8μL ずつ塗布する。
・塗布後 30 ～ 60 分後に片耳のみ光照射（非照射の片耳は実験者の手で保護する）。
・光源は 150-W xenon short-arc UV solar simulator（Solar Light Company, USA）を使用し、照射量は最大 10J/cm²。
・観察時間は被験物質で異なり、8-MOP は反応が遅い時間（48 時間以降）に延びてくるが、anthracene は速い時間にピークがある（20 ～ 30 分）。

この Ear Swelling 法をモルモットで検討したのが Stott らの報告である（Stott et al., 1970）。Stott らは、Hartley 系モルモットの耳介に、DMSO に溶解した被験物質と媒体対照として DMSO を 1 日 2 回、3 日間継続塗布した。なお、動物は光照射下と非照射下で 3 日間飼育する 2 群を用いた。耳介の厚さの測定は、処置開始後 24、48、72 時間に行い、照射群及び非照射群とも被験物質による厚さから媒体（DMSO）による厚さを差し引き算出し、さらに照射群及び非照射群の差から既知の光毒性物質の検出が可能であることを報告している（Stott *et al.*, 1970）。

皮内投与後に光照射して皮膚の厚さを測定する方法は、Selvaag らにより報告されている（Selvaag *et al.*, 1997a, Selvaag *et al.*, 1997b）。試験法の概略を以下に記述する。

Presented by Medical*Online

・6 ～ 20 週令の雌性ヘアレスマウス（hr/hr-c3H/TifBom）を使用する（1 群 6 ～ 7 匹）。
・被験物質は経口糖尿病薬や利尿薬で、陰性対照は媒体の DMSO とする。
・動物を麻酔後、直径 6mm の穴（2 ヶ所）の空いた Duoderm で覆う。
・その穴を通して被験物質の DMSO 溶液を 50μL 皮内投与する。
・もう一つの穴には DMSO のみ皮内投与する。
・照射光源は Bluelight 2000（Honle 社製、Germany）で、照射量は 6 ～ 12J/cm² （UVA）と 45 ～ 89mJ/cm² （UVB）。
・判定は、照射 24，48 時間後に皮膚反応を観察し、さらに皮膚の厚さをゲージで測定し、陰性対照との差を求める。

また光毒性は、光感作性試験の対照群における光照射部位の反応からも評価可能と考えられる。一般に光感作性試験では免疫助剤として FCA を使用しているため、正常の動物と比較すると検出感度が変化していることが考えられる。しかし、FCA を用いない光感作性試験法では光毒性を評価可能と考えられる。Buehler らは、閉塞パッチ試験と光照射を組み合わせた光感作性試験法を開発した（Buehler *et al.*, 1985）。試験法の概略を以下に記述する。

・モルモットの詳細な記述はない（感作性試験の Buehler 法と同一と考えると、Hartley 系モルモットで体重は 250g）（Buehler, 1965）。
・誘導は 1 群 10 匹。
・適用面積や適用量の記述なし（感作性試験の Buehler 法と同一と考えると、7/8 × 1 or 1 inch のパッチに被験物質 0.5mL を適用）（Buehler, 1965）。
・被験物質は Musk ambrette, 6-MC, TCSA, 8-MOP, Triton X-15。
・パッチの 18 時間前に脱毛処理を実施。
・modified Hill Top Chamber を使用し、被験物質を閉塞パッチ。
・パッチは 1 日 4 時間閉塞で、1 週間に 3 回、3 週間連続実施。
・各パッチ除去後に、2 時間光照射。
・光源は 12 本の blacklight lamps（UVA）、ただし、6-MC の場合はその内 1 本を sunlamp（UVB）に交換して使用。
・誘発は最終誘導から 10 ～ 14 日後に実施し、4 時間閉塞パッチ後、2 時間光照射。
・判定は 24，48 時間後に皮膚反応を肉眼観察（0.5：パッチによる紅斑、1：弱い紅斑、2：中程度の紅斑、4：強度の紅斑）。

その他の試験法については、まだ検討段階にあり、被験物質の特性や評価の目的により選択して行くことが必要と考えられる。

3-6）ヒトを用いる試験法

ヒトにおいては、光アレルギー性を検討する光パッチテストは存在しているが、光毒性を評価する試験法はまだない。現在、EU では光パッチテスト研究グループが、光毒性を評価するプロトコールを検討している。彼らが共通のプロトコールとして提案した手順は以下の通りである（Spielmann *et al.*, 2000）。

・被験物質は Finn Chamber を用いて背中に 24 時間貼付。
・照射は 10J/cm² UVA（320 ～ 400nm）。
・判定は、直後、24，48，72 時間。
・対照は非照射の Patch test 群。

その他、抗生物質の光毒性をヒトを用いて検討している論文が幾つかある。Vousden らは、quinolone 系抗生物質（Gemifloxacin）を健常ボランティア（1 群 10 名）に、連続 7 日間内服させ、モノクロメーターを使用し投与前及び投与 5 日目に MED（最小紅斑量）を測定した。光毒性の評価は、PI ＝ MED（pre drug）/MED（on drug）により以下の区分で行っている（Vousden *et al.*, 1999）。

1.4 ＜ PI ＜ 3：mild phototoxicity、3 ＜ PI ＜ 6：moderate phototoxicity、

Presented by Medical*Online

PI ＞ 8：severe phototocity
この方法は、光毒性物質が MED を低下させることを指標としており、抗生物質の評価に使用されている（Man *et al.*, 1999）。

また抗生物質内服後、光照射し、その後の皮膚反応を観察する方法も報告されている。Bjellerup ら（1994）は、tetracycline 系抗生物質（Lymecycline）を健常ボランティア（1 群 5 名）に、連続 3 日間服用させ、服用 3 日目の服用 2 時間後に、UVA Sun 3000 apparatus を用いて UVA を 25, 50, 75, 100J/cm^2 の 4 段階で照射した。観察は照射 6 時間後に実施し、紅斑と浮腫の程度を、1. 紅斑、2. 著しい紅斑、3. 紅斑と浮腫で評価している（Bjellerup *et al.*, 1994）。

ヒトを用いる試験法については、世界的にもガイドライン化されたものはなくまだ検討段階にあると思われる。本邦においてもこれらの研究の進展を注目して行く必要があると思われる。

3-7）おわりに

これまで報告されてきた *In vivo* で光毒性を評価する方法について調査した。その結果、光毒性を評価する方法についてはかなり古くから検討がなされ、非常に多くの試験法のあることが明らかとなった。また、その一部である経皮投与による試験法については大枠のコンセンサスが得られガイドライン案が提案されている。

In vivo で光毒性を評価する方法については、ヒトでの傷害が明らかになった物質を見出すことを目的に、その投与経路や毒性発現機構を考慮して多くの試験法が開発されてきたものと考えられる。そのため、検討する物質により各施設が独自の試験法を選択し、長期間使用しているため、施設内の再現性は高いと考えられる。しかし、試験法の施設間 validation は実施されていないため、施設間の再現性については議論することはできない。また、false positive や false negative についてであるが、false positive は、*in vivo* 試験で陽性を示した物質がヒトでは陰性であるということである。通常、*in vivo* 試験で陽性を示した物質をヒトで確認するということは、特殊な場合を除いて考え難く、データの入手も困難と思われる。一方、false negative は、*in vivo* 試験で陰性と評価された物質がヒトでは毒性を示したということである。この点に関しては、市場でトラブルを起こした物質や臨床で問題となった物質が *in vivo* 試験で捉えられるかによって判断可能である。この作業は過去に *in vivo* の光毒性試験を開発してきた過程と全く同じである。問題はこの作業により開発された試験法がどこまで適用可能かを示すことである。この問題を解決するためには、ヒトでの光毒性データベースを確立し、*in vivo* 試験により評価することが必要である。つまり、現状では、*in vivo* で光毒性を評価する方法については、false positive や false negative の議論は不可能ということである。

ECVAM では Workshop に医師の参加を呼びかけ、過去に光毒性を示した化合物のとりまとめ、光パッチテスト法により光毒性を実証してきたようである（Spielmann *et al.*, 2000）。本邦においても、医師と研究者が連携し、ヒトでの光毒性データベースを作成し、さらには *in vivo* や *in vitro* で光毒性を評価する試験法やその結果について自由に討議できる場（Workshop）が必要と考える。このことが、試験法の精度向上、または新たな試験法の開発、さらには安全性評価の向上につながることを期待したい。

引用文献

黒川雄二（1990）新化粧品等安全性評価指針班報告書
日本公定書協会編（1994）医薬部外品・化粧品製造申請ガイドブック第 2 版、薬事

Presented by Medical*Online

日報社、pp. 143-144
日本化粧品工業連合会編（2001）化粧品の安全性評価に関する指針 2001、薬事日報社、pp. 9-11
Marzulli, F.N. and Naibach, H.I. (1970) Perfume phototoxicity, *J. Soc. Cosmet. Chem.*, 21, 695-715.
Girard, J., Unkovic, J., Delahayes, J., and Lafille, C. (1979) Phototoxicity of Bergamot oil. Comparison between humans and guinea pigs, *Dermatologica*, 158, 229-243.
Morikawa, F., Nakayama, Y., Fukuda, M., Hamano, M., Yokoyama, Y., Nagura, T., Ishihara, M. and Toda, K. (1974) Techniques for evaluation of phototoxicity and photoallergy in laboratory animals and man, in *Sunlight and Man*, pp. 529-557.
森川藤凰（1975）新しい毒性試験と安全性の評価、白須泰彦・松岡理編、ソフトサイエンス社、pp. 433-465.
中山靖久，長沼雅子（1985）光毒性試験法，香粧会誌，9, 47-54.
門馬純子，鹿庭正昭，関田裕巳，大野圭子，川崎　靖，津田充宥，中村晃忠，黒川雄一（1993）防炎加工剤 Hexabromocyclododecane のモルモットにおける皮膚一次刺激性、皮膚感作性、光毒性、および光感作性．衛生試験所報告，第 111 号，18-24.
Kim, Y.O., Chung, H.J., Chung, S.T., Kim, J.H., Park, J.H., Kil, K.S., and Cho, D.H. (1999) Phototoxicity of melatonin, *Arch. Pharm. Res.*, 22, 143-150.
Kobayashi, I., Hosaka, K., Maruo, H., Saeki, Y., Kamiyama, M., Konno, C., and Gemba, M. (1999) Skin toxicity of propranolol in guinea pigs, *J. Toxicol. Sci.* 24, 103-112.
Lovell, W.W. and Sanders, D.J. (1992) Phototoxicity testing in guinea-pigs, *Food Chem. Toxicol.*, 30, 155-160.
Morikawa, F., Fukuda, M., Naganuma, M., and Nakayama, Y. (1976) Phototoxic reaction to xanthene dyes induced by visible light, *J. Dermatol.*, 3, 59-67.
Ison, A. and Blank, H. (1967) Testing drug phototoxicity in mice, *J. Invest. Dermatol.*, 49, 508-511.
Sams, W.M. Jr. and Epstein, J.H. (1967) The experimental production of drug phototoxicity in guinea pigs. I. Using sunlight, *J. Invest. Dermatol.*, 48, 89-94.
Sams, W.M. Jr. (1966) The experimental production of drug phototoxicity in guinea pigs. II. Using artificial light sources, *Arch. Dermatol.*, 94, 773-777.
Wagai, N., Yamaguchi, F., Sekiguchi, M., and Tawara, K. (1990) Phototoxic potential of quinolone antibacterial agents in Balb/c mice, *Toxicol. Lett.*, 54, 299-308.
Shimoda, K., Yoshida, M., Wagai, N., Takayama, S., and Kato, M. (1993) Phototoxic lesions induced by quinolone antibacterial agents in auricular skin and retina of albino mice, *Toxicol. Pathol.*, 21, 554-561.
Mayne, J.T., Johnson, N.J., Kluwe, W.M., Lencoski, D.L., and Polzer, R.J. (1997) A study of the phototoxic potential of trovafloxacin in BALB/c mice, *J. Antimicrob. Chemother.*, 39 Suppl B：67-73.
Horio, T., Miyauchi, H., Asada, Y., Aoki, Y., and Harada, M. (1994) Phototoxicity and photoallergenicity of quinolones in guinea pigs, *J. Dermatol. Sci.*, 7, 130-135.
Ljunggren, B. (1984) The mouse tail phototoxicity test, *Photodermatol.*, 1, 96-100.
Ljunggren, B. and Moller, H. (1977) Phenothiazine phototoxicity：an experimental study on chlorpromazine and related tricyclic drugs, *Acta Derm. Venereol.*, 57, 325-329.
Gerberick, G.F. and Ryan, C.A. (1989) A predictive mouse ear-swelling model for investigating topical phototoxicity, *Food Chem. Toxicol.*, 27, 813-819.
Stott, C.W., Stasse, J., Bonomo, R., and Campbell, A.H. (1970) Evaluation of the phototoxic potential of topically applied agents using long-wave ultraviolet light, *J. Invest. Dermatol.*, 55, 335-338.

Presented by Medical*Online

Selvaag, E. and Thune, P. (1997a) Phototoxicity to sulphonamide-derived oral antidiabetics and diuretics : investigations in hairless mice, *Photodermatol .Photoimmunol. Photomed.* 13, 4-8.

Selvaag, E., Anholt, H., Moan, J., and Thune, P. (1997b) Phototoxicity to sulphonamide derived oral antidiabetics and diuretics. Comparative *in vitro* and *in vivo* investigations, *In Vivo*, 11, 103-107.

Buehler, E.V., Newmann, E.A., and Parker, R.D. (1985) Use of the occlusive patch to evaluate the photosensitive properties of chemicals in guinea-pigs, *Food Chem. Toxicol.*, 23, 689-694.

Buehler, E.V. (1965) Delayed contact hypersensitivity in the guinea pig, *Arch. Dermatol.*, 91, 171-177.

Spielmann, H., Meuller, L., Averbeck, D., Balls, M., Brendler-Schwaab, S., Castell, J.V., Lovell, W.W., Merk, H.F., Nash, J.F., Neumann, N.J., Pape, W.J.W., Ulrich, P., and Vohr, H.W. (2000) The second ECVAM workshop on phototoxicity testing, *ATLA*, 28, 777-814.

Vousden, M., Ferguson, J., Richards, J., Bird, N., and Allen, A. (1999) Evaluation of phototoxic potential of gemifloxacin in healthy volunteers compared with ciprofloxacin, *Chemotherapy*, 45, 512-520.

Man, I., Murphy, J., and Ferguson, J. (1999) Fluoroquinolone phototoxicity : a comparison of moxifloxacin and lomefloxacin in normal volunteers, *J. Antimicrob. Chemother.*, 43 Suppl B, 77-82.

Bjellerup, M. and Ljunggren, B. (1994) Differences in phototoxic potency should be considered when tetracyclines are prescribed during summer-time. A study on doxycycline and lymecycline in human volunteers, using an objective method for recording erythema, *Br. J. Dermatol.*, 130, 356-360.

Presented by Medical*Online