

## 二．急性毒性，亜急性毒性，慢性毒性，催奇形性その他の毒性

総括	172
1. 単回投与毒性	180
(1) マウス	180
1) マウス単回強制経口投与毒性試験	180
2) マウス単回腹腔内投与毒性試験	180
(2) ラット	180
1) ラット単回強制経口投与毒性試験	180
2) ラット単回腹腔内投与毒性試験	181
(3) モルモット	181
1) モルモット単回強制経口投与毒性試験	181
2) モルモット単回腹腔内投与毒性試験	182
(4) イヌ単回強制経口投与毒性試験	182
(5) 参考	184
1) ラット単回強制経口投与毒性試験	184
2) ラット単回静脈内投与毒性試験	184
3) ラット単回筋肉内投与毒性試験	184
(6) 単回投与毒性についての考察	185
1) 中枢神経系の障害を疑わせる症状	185
2) 胃腸管の変化	185
3) 胸腺の萎縮	185
4) イヌ単回経口投与毒性試験の最高用量の妥当性	186
2. 反復投与毒性	187
(1) ラット 28 日間強制経口投与毒性試験	187
(2) ラット 30 日間混餌経口投与毒性試験	189
(3) ラット 52 週間混餌経口投与毒性試験	195
(4) ラット 28 日間混餌経口投与 TK 試験	201
(5) イヌ 28 日間強制経口投与毒性試験	202
(6) イヌ 30 日間強制経口投与毒性試験	208
(7) イヌ 52 週間強制経口投与毒性試験	212
(8) イヌ 28 日間強制経口投与 TK 試験	216
(9) カニクイザル 1 ヶ月間併用（リバビリン+ IFN -2b）投与毒性試験	217
(10) カニクイザル 1 ヶ月間併用（リバビリン+ IFN -2b）投与 TK 試験	226
(11) 反復投与毒性についての考察	227
1) 貧血	227
2) 消化管への影響	229
3) 心筋症	229

4) 血圧, 体温及び心拍数への影響 .....	230
5) リンパ系組織への影響 .....	232
6) 網膜の変性 / 萎縮 .....	232
7) 回復性 .....	233
8) 強制経口投与と混餌経口投与の違い .....	233
9) ヒトと動物の暴露量の比較 .....	234
3. 生殖発生毒性 .....	237
(1) ラット妊娠前及び妊娠初期投与試験 .....	237
(2) ラット器官形成期投与試験 .....	241
(3) ウサギ器官形成期投与試験 .....	244
(4) ラット周産期及び授乳期投与試験 .....	247
(5) 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 .....	249
(6) マウス精巣及び精子への影響 .....	252
1) マウス精巣及び精子への影響及びその回復性の検討 .....	252
2) マウス3ヵ月間低用量投与による精子への影響 .....	256
(7) 参考: ウサギ器官形成期投与予備試験 .....	257
(8) 生殖発生毒性についての考察 .....	258
1) 催奇形性 .....	258
2) ラット周産期及び授乳期投与試験とラット出生前及び出生後の発生並びに母動物の 機能に関する試験における最高用量の妥当性 .....	259
3) 精巣及び精子への影響 .....	260
4. 遺伝毒性 .....	262
(1) 細菌を用いる復帰突然変異試験 .....	262
(2) ヒト末梢血リンパ球を用いる染色体異常試験 .....	264
(3) マウス小核試験 .....	265
(4) マウスリンパ腫細胞を用いる遺伝子突然変異試験 .....	266
(5) BALB/c 3T3 細胞を用いる細胞形質転換試験 .....	268
(6) ラット優性致死試験 .....	269
(7) 遺伝毒性についての考察 .....	271
5. がん原性 .....	273
(1) マウス 18 ヶ月間強制経口投与がん原性試験 .....	273
(2) ラット 2 年間強制経口投与がん原性試験 .....	278
(3) 参考: がん原性用量設定試験 .....	288
1) マウス 90 日間強制経口投与用量設定試験 .....	288
2) ラット 90 日間強制経口投与用量設定試験 .....	288
(4) がん原性試験についての追加情報 .....	289

6. その他の毒性 .....	290
(1) 依存性 .....	290
(2) 抗原性 .....	290

二．急性毒性，亜急性毒性，慢性毒性，催奇形性その他の毒性の項：略語一覧表

略 語	名 称
2-AA	2-aminoanthracene
A/G	アルブミン/グロブリン比
ALP	アルカリホスファターゼ (alkaline phosphatase)
ALT	アラニンアミノトランスフェラーゼ (L-alanine aminotransferase)
APTT	活性化部分トロンボプラスチン時間 (activated partial thromboplastin time)
ASA	能動的全身性アナフィラキシー (active systemic anaphylaxis)
AST	アスパラギンアミノトランスフェラーゼ (L-asparagine aminotransferase)
ATP	アデノシン三リン酸 (adenosine triphosphate)
AUC	濃度時間曲線下面積 (area under drug concentration-time curve)
BUN	尿素窒素 (blood urea nitrogen)
CHP	cumene hydroperoxide
C <sub>1h</sub>	投与後 1 時間値
C <sub>max</sub>	最高濃度 (maximum drug concentration)
C <sub>min</sub>	次回投与直前値 (minimum drug concentration)
CP	cyclophosphamide
CPE assay	細胞変性効果測定法 (cytopathic effect assay)
CPK	クレアチニンホスホキナーゼ (creatine phosphokinase)
DMN	dimethylnitrosamine
EIA	酵素免疫測定法 (enzyme immunoassay)
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay
EMS	ethylmethane sulfonate
ENNG	N-ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine
FCA	フロインド完全アジュバント (Freund's complete adjuvant)
FDA	米国食品医薬品局 (Food and Drug Administration)
FIA	フロインド不完全アジュバント (Freund's incomplete adjuvant)
FSH	卵胞刺激ホルモン (follicle stimulating hormone)
GLP	Good Laboratory Practice
GMP	グアノシン一リン酸 (guanosine monophosphate)
GTP	グアノシン三リン酸 (guanosine triphosphate)
Hb	ヘモグロビン量 (hemoglobin)
HPLC	高速液体クロマトグラフィー (high performance liquid chromatography)
Ht	ヘマトクリット値 (hematocrit)
ICH	日米 EU 医薬品規制調和国際会議 (International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use)
IFN -2b	インターフェロン -2b (interferon -2b)
IMP	イノシン一リン酸 (inosine monophosphate)

略 語	名 称
LC-MS/MS	高速液体クロマトグラフィー質量分析法
LH	黄体形成ホルモン ( luteinizing hormone )
MCA	3-methylcholanthrene
MCH	平均赤血球血色素量 ( mean corpuscular hemoglobin )
MCHC	平均赤血球血色素濃度 ( mean corpuscular hemoglobin concentration )
MCV	平均赤血球容積 ( mean corpuscular volume )
M/E	顆粒球 / 赤芽球比 ( myeloid erythroid [ratio] )
MMC	mitomycin C
MTD	最大耐量 ( maximum tolerated dose )
NOS	not otherwise specified
OVA	卵白アルブミン ( ovalbumin )
PCA	受身皮膚アナフィラキシー ( passive cutaneous anaphylaxis )
RIA	ラジオイムノアッセイ ( radioimmunoassay )
RTP	リバビリン三リン酸 ( ribavirin triphosphate )
TK	トキシコキネティクス ( toxicokinetics )
<i>tk</i> 遺伝子座	<i>thymidine kinase</i> 遺伝子座
Tmax	最高濃度到達時間 ( time of maximum concentration )
XMP	キサントシンリン酸 ( xanthosine monophosphate )

## 二. 急性毒性，亜急性毒性，慢性毒性，催奇形性その他の毒性

### 総 括

リバビリンの安全性について検討するため，マウス，ラット，モルモット，ウサギ，イヌ又はサルを用いて，単回投与毒性試験，反復投与毒性試験，生殖発生毒性試験，精巣及び精子の検討及び in vitro 及び in vivo 遺伝毒性試験，がん原性試験及び抗原性試験を実施した．

リバビルンとインターフェロン -2b（以下 IFN -2b）の併用投与時の安全性については，IFN -2b に生物学的活性を示す動物種であるサルを用いて反復投与毒性試験で検討した．なお，サルでは投与 1 ヶ月目までに，IFN -2b の中和抗体の産生が認められるため，1 ヶ月間併用投与試験で両薬剤の併用による毒性のプロファイルを明らかにした．

これらの試験結果は，表二 - 1 にまとめた．

表二 - 1 毒性試験一覧表（その 1）

試験項目	動物種等	投与（処置） 経路，期間	投与量(mg/kg) 又は処置濃度	試験結果(mg/kg)		実施施設	GLP 適合
				LD <sub>50</sub>			
単回投与 毒性	マウス	強制経口	1260, 3160, 6310, 10000	LD <sub>50</sub>	: >10000		適
		腹腔内	750, 1000, 1160, 1330, 1780	LD <sub>50</sub>	: 1268		
	ラット	強制経口	2150, 2930, 3980, 5410, 6310, 7300	LD <sub>50</sub>	: 4116 : 5827		適
		腹腔内	1000, 1470, 1780, 2150, 3160	LD <sub>50</sub>	: 1758 : 1554		
		強制経口	3300, 5200, 5780, 6200	LD <sub>50</sub>	: 6430 : 5630		
		静脈内	1500, 2000, 2500, 3000	LD <sub>50</sub>	: 1960 : 1720		
		筋肉内	1190, 1590, 1990, 2380	LD <sub>50</sub>	: 1780 : 1620		
	モルモット	強制経口	1470, 2150, 3160, 4640, 6810	LD <sub>50</sub>	: 2313		適
		腹腔内	631, 794, 1000, 1590, 2510, 3980	LD <sub>50</sub>	: 823		
		イヌ	強制経口	30 240, 60 480, 120	死亡なし		

表二 - 1 毒性試験一覧表 (その2)

試験項目	動物種等	投与(処置)経路, 期間	投与量(mg/kg)又は処置濃度	試験結果(mg/kg)		実施施設	GLP適合	
反復投与毒性	ラット	28日間強制経口	30, 60, 120	無毒性量	<30		適	
		30日間混餌経口	10, 40, 160, 320	無毒性量	<10		適	
		52週間混餌経口	1, 10, 30, 90	無毒性量	1		適	
		28日間混餌経口TK	1, 10, 30, 90	用量依存的な暴露がみられた			適	
	イヌ	28日間強制経口	15, 30, 60	無毒性量	<15		適	
		30日間強制経口	5, 10, 20, 40	無毒性量	5		適	
		52週間強制経口	5, 10, 20	無毒性量	5		適	
		28日間強制経口TK	5, 10, 20	用量依存的な暴露がみられた			適	
	リバビリン + IFN -2b 併用投与							
	サル	1ヵ月間併用投与 リバビリン: 50, 100 mg/kg (強制経口, 1日1回) IFN -2b: 3105 µg/m <sup>2</sup> (皮下, 2日に1回)		併用投与による新たな毒性はみられなかった				適
1ヵ月間併用投与TK リバビリン: 50, 100 mg/kg (強制経口, 1日1回) IFN -2b: 3105 µg/m <sup>2</sup> (皮下, 2日に1回)		IFN -2bはリバビリンの血中動態に影響しなかった				適		
生殖発生毒性	妊娠前及び妊娠初期投与試験	ラット	強制経口 交配9週前 ~ 交配終了 交配14日前 ~ 妊娠5日	10, 40, 160 0.3, 1, 10	無毒性量	親動物: 一般毒性 40 10 生殖毒性 160 10 胚 10 出生児 0.3		適
			強制経口 妊娠6~15日	0.3, 1, 10		無毒性量	母動物: 一般毒性 10 生殖毒性 10 胎児 0.3	
	器官形成期投与試験	ウサギ	強制経口, 用量設定 妊娠6~18日	0.3, 1, 3	無毒性量	母動物 1 胎児 1		非
			強制経口 妊娠6~18日	0.1, 0.3, 1	無毒性量	母動物: 一般毒性 0.3 生殖毒性 1 胎児 0.3		適
	周産期及び授乳期投与試験 <sup>a)</sup>	ラット	強制経口 妊娠15日~ 分娩後21日	0.1, 0.3, 1	無毒性量	母動物: 一般毒性 1 生殖毒性 1 出生児 1		適
	出生前及び出生後の発生並びに母動物の機能		強制経口 妊娠6日~ 分娩後20日	0.1, 0.3, 1	無毒性量	母動物: 一般毒性 1 生殖毒性 1 出生児 0.3		適
精巢・精子への影響	マウス	強制経口 3, 6ヵ月間	35, 75, 150	無毒性量	<35		適	
		強制経口3ヵ月間	1, 15, 35, 75	無毒性量	1		適	

a) : 出生児は生後21日まで観察

表二 - 1 毒性試験一覧表 (その3)

試験項目	動物種等	投与(処置)経路, 期間	投与量(mg/kg)又は処置濃度	試験結果(mg/kg)	実施施設	GLP適合
遺伝毒性	復帰突然変異	ヌミナ菌 大腸菌	代謝活性化系・無	50 ~ 5000 µg/plate	陰性	適
			代謝活性化系・有	50 ~ 5000 µg/plate		
	染色体異常	ヒト リンパ球	代謝活性化系・無	625 ~ 5000 µg/mL	陰性	適
			代謝活性化系・有	625 ~ 5000 µg/mL		
	小核試験	マウス	強制経口, 2日間	20, 63, 200, 630, 2000	陽性 (63, 630, 2000 mg/kg で 小核増加)	適
	遺伝子突然変異	マウスリン パ腫細胞	代謝活性化系・無	0.0313 ~ 5mg/mL	陽性	適
			代謝活性化系・有	0.0781 ~ 10mg/mL		
細胞形質転換試験	BALB/c 3T3細胞	代謝活性化系・無	0.75 ~ 60 µg/mL	陽性 (15 µg/mLのみ)	適	
優性致死	ラット	腹腔内, 5日間	50, 100, 200	陰性	適	
がん原性	マウス	強制経口90日間 用量設定	35, 75, 150, 300, 600	75: 赤血球・Ht・Hb 150: 体重増加量減少	適	
		18ヵ月間強制経口	20, 40, 75	発がん性なし	適	
		28日間強制経口 TK	20, 40, 75	用量依存的な暴露がみられた	適	
	ラット	強制経口90日間 用量設定	20, 40, 80, 150, 200	40: 赤血球・Ht・Hb 80: 体重増加量減少	適	
		24ヵ月間強制経口	10, 20, 40	発がん性なし	適	
		28日間強制経口 TK	10, 20, 40	用量依存的な暴露がみられた	適	
抗原性	モルモット	皮下(+FCA/FIA), 週1回, 計3回	ASA: 陰性, PCA: 陰性		適	

### 1. 単回投与毒性

マウス, ラット, モルモット及びイヌを用いてリバピリンの単回投与毒性試験を実施した。

経口投与での LD<sub>50</sub> は, マウスの雄で 10000 mg/kg 以上, ラットの雄で 4116 mg/kg, 雌で 5827 mg/kg, モルモットの雄で 2313 mg/kg であり, イヌでは雌雄に 480 mg/kg を経口投与しても死亡はみられなかった。経口投与では, 各動物種に共通して消化管への影響を示唆する変化がみられ, 主な変化としては軟便, 粘液便, 胃腸管の暗赤色物質貯留(出血を示唆), 十二指腸潰瘍又は嘔吐が観察された。腹腔内投与の LD<sub>50</sub> は, マウスの雄で 1268 mg/kg, ラットの雄で 1758 mg/kg, 雌で 1554 mg/kg, モルモットの雄で 823 mg/kg であり, 腹腔内投与でも消化管への影響を示唆する変化がみられた。

なお、リバビリンと IFN -2b の併用単回投与試験については、次の理由から実施しなかった。リバビリンの単回投与毒性が上述した様に弱く、IFN -2b の単回投与毒性は全く認められなかった [IFN -2b の臨床最高用量 ( $1 \times 10^7$  IU/ヒト/日) の 1650 倍をマウス及びラットに、1300 倍をサルに単回筋肉内投与しても特記すべき毒性はみられなかった] こと、またリバビリンの単回投与でみられた消化管への影響は IFN -2b の単回及び反復投与ではみられず、リバビリンと IFN -2b の毒性の発現は異なると考えられること、さらにサル併用反復投与 TK 試験でリバビリンと IFN -2b は互いの血中動態に影響しなかったことから、両薬物を併用投与しても毒性が増強することはないと考えられたため実施しなかった。

## 2. 反復投与毒性

反復投与試験では、ラット及びイヌを用いてリバビリンを 1~12 ヶ月間経口投与した。その結果、ラット及びイヌにみられた主な毒性の標的器官は、赤血球 (10 mg/kg 以上で減少) 及び骨髄 (20 mg/kg 以上で低形成) であり、その他、消化管 (15 mg/kg 以上で腸炎)、胸腺及びリンパ節 (20 mg/kg 以上でリンパ球減少) への影響がみられた。赤血球系パラメータの減少 (貧血) は、いずれの動物種でも推定臨床投与量 (ヒト体重が 60 kg 以下及び 60 kg 超でそれぞれ 600 及び 800 mg/日 : 10 又は 13 mg/kg に相当) と同用量で認められた。リバビリンの影響は、概してラットよりイヌで強く認められた。

リバビリンと IFN -2b の併用による反復投与試験については、IFN -2b の反応に種特異性があり、マウス、ラット及びイヌは IFN -2b に対して毒性学的に意味ある反応を示さず、霊長類がヒトに最も類似した生物学的活性を示すため、サルを用いて併用投与による毒性を検討した。なお、IFN -2b をサルに 1 ヶ月間以上投与した場合、中和抗体の産生により適切な毒性学的評価は得られないと考え、併用投与試験の投与期間は 1 ヶ月間とした。その結果、併用投与による貧血は各々の単独投与より強かったが相加的であり、休薬により回復した。また、併用投与群でみられたその他の毒性変化は、いずれもリバビリンあるいは IFN -2b の単独投与でも認められるものであり、併用投与による新たな毒性は認められなかった。

### 1) ラット反復投与試験

ラット 1 ヶ月間 (28 日間強制投与試験 : 30, 60, 120 mg/kg, 30 日間混餌投与試験 : 10, 40, 160, 320 mg/kg) 及び 12 ヶ月間 (混餌投与 : 1, 10, 30, 90 mg/kg) 経口投与試験では、いずれも 10 mg/kg 以上の投与群で投与 4 週目から貧血 (赤血球, Hb 又は Ht の減少) が認められた。12 ヶ月間投与試験では、90 mg/kg 群の貧血は明らかであったが、より低用量の 10 及び 30 mg/kg 群の貧血の程度は軽度で、投与継続にもかかわらず増強しなかった。骨髄への影響は 12 ヶ月間投与試験の 90 mg/kg 群でも認められなかった。1 ヶ月間投与試験の 160 mg/kg 以上の投与群、12 ヶ月間投与試験の

90 mg/kg 群では死亡がみられ、主たる毒性変化として貧血、腸管の壊死、リンパ系組織及び精細管の萎縮、皮膚の炎症及び潰瘍が認められた。12 ヶ月間投与試験の 90 mg/kg 群では、眼科学的検査で網膜反射の亢進が約 6 ヶ月目から観察され、24 ヶ月間投与ががん原性試験では網膜の変性及び白内障がみられた。しかし、イヌ 12 ヶ月間投与試験及びマウス 18 ヶ月間投与ががん原性試験では、眼への影響は認められなかったため、ラットに特異的で加齢に伴う変化と考えられた。以上の結果から、ラット 1 及び 12 ヶ月間投与試験の無毒性量は、各々 10 mg/kg 以下及び 1 mg/kg と判断した。

## 2) イヌ反復投与試験

イヌ 1 ヶ月間 (28 日間投与試験：15, 30, 60 mg/kg, 30 日間投与試験：5, 10, 20, 40 mg/kg) 及び 12 ヶ月間 (5, 10, 20 mg/kg) 強制経口投与試験では、10 mg/kg 以上の投与群で貧血がみられた。1 ヶ月間投与試験の 20 (軽度) 又は 30 mg/kg 以上の投与群では骨髄への影響 (骨髄低形成、赤芽球系細胞比率の低下) がみられたが、12 ヶ月間投与試験では 20 mg/kg で骨髄への影響は認められなかった。1 ヶ月間投与試験では、10 mg/kg 以上の投与群で軟便又は下痢、15 mg/kg 以上の投与群で腸炎、20 mg/kg 以上の投与群でリンパ系組織の萎縮、30 mg/kg では消化管出血を示唆する便の変化、食欲低下及び体重減少がみられ、40 mg/kg 以上の投与群ではほぼ全例が全身状態悪化のため死亡又は切迫屠殺された。軟便又は下痢等の消化管への明らかな影響は、12 ヶ月間投与試験の 10 mg/kg 以上の投与群でもみられたが、投与 6 ヶ月目以降には減弱した。以上の結果から、イヌ 1 及び 12 ヶ月間投与試験の無毒性量はいずれも 5 mg/kg と判断した。

## 3) サルを用いたリバビリン及び IFN -2b 併用投与試験

カニクイザルにリバビリンの 50 又は 100 mg/kg (1 日 1 回、経口投与) と IFN -2b の 3105  $\mu\text{g}/\text{m}^2$  ( $60 \times 10^6$  IU/kg に相当、2 日 1 回、皮下投与) を 1 ヶ月間併用投与又は単独投与した。その結果、高用量併用投与群 (リバビリン：100 mg/kg, IFN -2b：3105  $\mu\text{g}/\text{m}^2$ ) の数例は、貧血及び全身状態悪化を呈して死亡又は切迫屠殺された。併用及び各単独投与群で貧血がみられた。併用投与群の貧血は各単独投与群に比較して強かったが、各単独投与群の相加作用によるもので、休薬期間中に回復を示す可逆的な変化であった。なお、カニクイザルの脾臓及び肝臓で鉄色素の沈着、骨髄の低形成がみられたため、この貧血は血管外溶血に骨髄での赤血球生成の抑制が加わったものと考えられた。併用投与群でみられた赤血球、骨髄及びリンパ系組織への影響は、いずれもリバビリンあるいは IFN -2b の単独投与でもみられ、休薬により回復する可逆的な変化であった。

## 3. 生殖発生毒性

ラット又はウサギを用いてリバビリンの妊娠前及び妊娠初期投与試験、器官形成期投与試験、周産期及び授乳期投与試験を実施した。また、次世代の出生児の成長、発達、行動及び生殖能力を検討する目的で、ラットを用いて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を実施した。そ

の結果、親動物の生殖能力、出生児の成長、機能発達及び生殖能力への影響は認められなかったが、器官形成期投与では 1.0 mg/kg 以上で胎児発育抑制、着床後死亡（胚・胎児致死）率の増加又は催奇形性がみられた。リバビリンのこれらの作用に加え、IFN- $\gamma$  では、妊娠アカゲザルで流産の発生がみられており、併用投与による生殖発生毒性は明らかなため、併用試験は実施しなかった。

#### 1) ラット妊娠前及び妊娠初期投与試験

雄ラットには交配前及び交配期間に 10, 40 及び 160 mg/kg を、雌ラットには妊娠前及び妊娠初期に 0.3, 1.0 及び 10 mg/kg を経口投与した。なお、雌ラットの投与量については、胎児毒性により生殖能力の検討が困難にならない用量とした。その結果、雄では 160 mg/kg 群で死亡又は切迫屠殺例がみられたが、生存例の生殖能力に影響はなかった。雌では一般状態及び生殖能力に異常はみられず、妊娠 13 日に観察した胚及び自然分娩後離乳時まで観察した出生児の発育には、妊娠 5 日までの投与に関連する異常はみられなかった。出生児の離乳時の剖検で 1.0 及び 10 mg/kg 群に水頭、10 mg/kg 群に横隔膜ヘルニアがみられ、ラット器官形成期投与試験でも同様に認められた。以上の結果から、本試験の親動物の一般毒性に対する無毒性量は、雄で 40 mg/kg、雌で 10 mg/kg、生殖毒性に対する無毒性量は、雄で 160 mg/kg、雌で 10 mg/kg、胚に対する無毒性量は 10 mg/kg、出生児に対する無毒性量は 0.3 mg/kg と判断した。

#### 2) ラット及びウサギ器官形成期投与試験

ラット胎児の器官形成期に 0.3, 1.0 及び 10 mg/kg を経口投与した。その結果、10 mg/kg 群の母動物では体重増加抑制がみられたが、胎児体重減少による二次的な変化であり、母動物の一般毒性及び生殖毒性に対する無毒性量は 10 mg/kg と判断した。胎児の観察では、10 mg/kg 群に着床後死亡率の増加、生存胎児数の減少、胎児体重の低下及び催奇形性（心室中隔欠損を含む心血管異常、横隔膜ヘルニア、胸骨、胸椎及び腰椎等の異常等）が認められた。1.0 mg/kg 群でも低頻度であるが催奇形性がみられたため、胎児に対する無毒性量は 0.3 mg/kg と判断した。

ウサギ胎児の器官形成期に 0.1, 0.3 及び 1.0 mg/kg を経口投与した。その結果、1.0 mg/kg 群で母動物に一過性の体重増加抑制、胎児に骨格異常が認められたため、母動物の一般毒性に対する無毒性量は 0.3 mg/kg、母動物の生殖毒性に対する無毒性量は 1.0 mg/kg、胎児に対する無毒性量は 0.3 mg/kg と判断した。

#### 3) ラット周産期及び授乳期投与試験

ラットの周産期及び授乳期に 0.1, 0.3 及び 1.0 mg/kg を経口投与した。なお、投与量については、器官形成期投与試験で 1.0 mg/kg 以上の投与群で形態異常がみられたため、最高用量は 1.0 mg/kg とした。その結果、母動物及び出生児のいずれにも本薬投与による影響はみられなかったため、本試験の母動物の一般毒性及び生殖毒性並びに出生児に対する無毒性量は、いずれも 1.0 mg/kg と判断した。

#### 4) 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

先に実施したラット周産期及び授乳期投与試験では出生児の離乳後の諸検査を行っていないため、ICH ガイドラインに準拠して本試験を実施した。ラットの器官形成期、周産期及び授乳期に 0.1, 0.3 及び 1.0 mg/kg を経口投与した。その結果、いずれの投与群においても母動物の一般状態並びに出生児の成長、発達、行動及び生殖能力には本薬投与による影響は認められなかったが、1.0 mg/kg 群の出生児の少数例に奇形（短躯、無尾及び四肢の異常）がみられたことから、母動物の一般毒性及び生殖毒性に対する無毒性量は 1.0 mg/kg、出生児に対する無毒性量は 0.3 mg/kg と判断した。

#### 5) マウスを用いた精巣及び精子への影響

リバピリンの各種反復投与試験の結果のうち、マウスの 90 日間がん原性用量設定試験で精上皮の変性及び精子減少などが認められた。このため、感受性の高い種と考えられたマウスを用いて 1~150 mg/kg を 3~6 ヶ月間経口投与し、リバピリンの精巣及び精子への影響をより詳細に検討した。その結果、15 mg/kg 以上の投与群では正常精子比率の減少、35 mg/kg 以上の投与群では精子細胞数の減少、75 mg/kg 以上の投与群では精上皮の空胞化がみられたが、いずれも休薬により回復することが確認された。マウス精子に対する無毒性量は 1 mg/kg と判断した。

#### 4. 遺伝毒性

リバピリンについて 6 種類の遺伝毒性試験を実施した。その結果、下記の通り細菌を用いる復帰突然変異試験、ヒトリンパ球を用いる染色体異常試験及びラット優性致死試験は陰性であったが、マウスリンパ腫細胞を用いる遺伝子突然変異試験、BALB/c 3T3 細胞を用いる細胞形質転換試験及びマウス小核試験では陽性を示し、リバピリンは遺伝毒性を有すると判断された。その発生機序は、Inosine monophosphate (IMP) dehydrogenase の障害による細胞内 GTP の低下による核酸レベルの不均衡と考えられ、DNA の直接傷害によるものではないと推定された。なお、リバピリンに遺伝毒性がみられ、IFN- $\gamma$  2b については細菌を用いる復帰突然変異試験、細菌を用いる DNA 修復試験及びマウス小核試験でいずれも陰性を示し、DNA や染色体成分に直接作用するとは考えられ難いため、リバピリンと IFN- $\gamma$  2b の併用による遺伝毒性試験は実施しなかった。

##### 1) 遺伝子突然変異誘発性を指標とする試験

細菌を用いる復帰突然変異試験では陰性であった。マウスリンパ腫細胞を用いる遺伝子突然変異試験では突然変異頻度の増加を誘導した。

##### 2) 染色体異常誘発性を指標とする試験

ヒトリンパ球を用いる染色体異常試験では陰性であった。マウス小核試験では小核を有する多染色赤血球出現頻度の増加を誘導した。ラット優性致死試験では優性致死の誘発性は認められなかった。

### 3) 細胞形質転換誘発性を指標とする試験

BALB/c 3T3 細胞を用いる形質転換試験で頻度増加を誘導したが、用量依存性はみられなかった。

### 5. がん原性

マウス及びラットを用いてリバビリンのがん原性試験を実施した結果、発がん性は認められなかった。なお、IFN- $\gamma$  はげっ歯類に対して生物学的活性を有しておらず、また、ラットを用いた4週間反復投与試験では IFN- $\gamma$  中和抗体の産生が報告されているため、長期投与しても毒性学的評価は得られないものと考えられた。このため、リバビリンと IFN- $\gamma$  の併用によるがん原性試験は実施しなかった。

#### 1) マウスがん原性試験

マウスに 20, 40 及び 75 mg/kg を 18 ヶ月間強制経口投与したが、本薬投与による腫瘍発生の増加は認められなかった。

#### 2) ラットがん原性試験

ラットに 10, 20 及び 40 mg/kg を 24 ヶ月間強制経口投与したが、本薬投与による腫瘍発生の増加は認められなかった。

上記の結果から、リバビリンのヒトでの発癌の危険性は極めて低いと考えられた。EU における審査ではこの結論は受け入れられたが、FDA との合意のもとで承認後に追加試験として p53<sup>+/-</sup>マウスを用いたがん原性試験を実施することとなった。

### 6. 抗原性

リバビリンのモルモットにおける能動的全身性アナフィラキシー (ASA) 試験及び受身皮膚アナフィラキシー (PCA) 試験の結果はいずれも陰性であり、リバビリンが抗原性を示す可能性は低いと判断された。なお、IFN- $\gamma$  は、動物で免疫原性を示すため併用投与による抗原性試験は実施しなかった。

## 1. 単回投与毒性

マウス、ラット及びモルモットにリバピリンを単回強制経口及び腹腔内投与、ビーグルに漸増強制経口投与して急性毒性を検討した。

結果は表ニ - 2 に示した。

### (1) マウス

#### 1) マウス単回強制経口投与毒性試験

ICR系雄マウス(1群5匹)にリバピリンの1260～10000 mg/kgを単回強制経口投与した。

その結果、死亡は10000 mg/kg群の1例のみでみられ、LD<sub>50</sub>は10000 mg/kg以上であった。

一般状態では、1260及び10000 mg/kg群で異常はみられなかった。3160 mg/kg群では活動性低下及び円背位、3160及び6310 mg/kg群では粗毛がみられたが、いずれも投与後10日目までに消失した。10000 mg/kg群では体重増加抑制がみられた。

剖検では、10000 mg/kg群の死亡例の1例で肺の暗赤色化、肝臓の暗色化及び透明な腹水貯留がみられたが、他の生存例では異常は認められなかった。

#### 2) マウス単回腹腔内投与毒性試験

ICR系雄マウス(1群5匹)にリバピリンの750～1780 mg/kgを単回腹腔内投与した。

その結果、死亡は1000 mg/kg以上の投与群でみられ、LD<sub>50</sub>は1268 mg/kgであった。

一般状態では、750 mg/kg以上の投与群で活動性低下、粗毛、努力呼吸、振戦、円背位及び歩行失調、1000 mg/kg以上の投与群で腹臥位がみられた。また、750～1330 mg/kg群では体重増加抑制がみられ、少数例では投与後7日目に体重減少がみられた。

死亡例の剖検では、1000 mg/kg以上の投与群で肺の暗赤色化又は明赤色化、肝臓の暗色化及び胃腸管の拡張、1160 mg/kg群で肝臓の褪色、1例で腸管内の黄色液貯留、1330 mg/kg以上の投与群で胃腸管内の暗赤色物質貯留、1780 mg/kg群の1例で透明な腹水貯留が認められた。生存例の剖検では、1330 mg/kg群の1例で胃腸管内の黄色液貯留がみられたのみで、他の生存例には異常は認められなかった。

### (2) ラット

#### 1) ラット単回強制経口投与毒性試験

SD系ラット(1群雌雄各5匹)にリバピリンの2150～7300 mg/kgを単回強制経口投与した。

その結果、死亡は2150 mg/kg(雄)又は3980 mg/kg(雌)以上の投与群でみられ、LD<sub>50</sub>は雄4116 mg/kg、雌5827 mg/kgであった。

一般状態では、2150 mg/kg 群で粗毛、軟便、活動性低下及び尿による被毛の汚れがみられたが、いずれも投与後 5 日目までに消失した。2930 mg/kg 以上の投与群では、2150 mg/kg 群の変化に加えて、腹臥位（2930 mg/kg 群の 1 例）、円背位、眼及び鼻周囲の赤色物付着及び泌尿生殖器部の脱毛、5410 及び 7300 mg/kg 群では歩行失調、3980 及び 7300 mg/kg 群では振戦がみられた。また、2930 mg/kg 以上の各投与群の数例では投与後 7 日目に体重減少がみられた。

死亡例の剖検では、2150 mg/kg 以上の投与群で肺の暗赤色化又は明赤色化、肝臓の暗色化、胃腸管内の暗赤色又は暗褐色物質貯留、3980 mg/kg 群の 1 例で肝臓の褪色、3980 mg/kg 以上の投与群で胃腸管の拡張及び胃壁のひ薄化がみられた。生存例の剖検では、6310 mg/kg 群の 1 例で白色様薄膜を伴う脾臓の腫大及び粗造がみられたのみで、他の例には異常はみられなかった。

## 2) ラット単回腹腔内投与毒性試験

SD 系ラット（1 群雌雄各 5 匹）にリバピリンの 1000 ~ 3160 mg/kg を単回腹腔内投与した。

その結果、死亡は雌雄とも 1470 mg/kg 以上の投与群でみられ、LD<sub>50</sub> は雄 1758 mg/kg、雌 1554 mg/kg であった。

一般状態では、1000 mg/kg 以上の投与群で活動性低下、粗毛、振戦及び軟便、1470 mg/kg 以上の投与群で努力呼吸、歩行失調、円背位、眼及び鼻周囲の赤色物付着、尿による被毛の汚れ及び腹臥位がみられた。1470 及び 1780 mg/kg 群の少数例では投与 7 日目に体重減少がみられた。

死亡例の剖検では、1470 mg/kg 群で腸管内の黄色様液貯留、1 例で胃壁の肥厚、1470 mg/kg 以上の群で肺の暗赤色化又は明赤色化、肝臓の暗色化及び胃腸管内の暗赤色物質貯留、1780 mg/kg 群の 1 例で胃腸管の拡張、1780 mg/kg 以上の投与群で透明、赤色様又は褐色様の腹水貯留、2150 mg/kg 以上の投与群の各 1 例で腸管内の赤色様液貯留がみられた。生存例の剖検では異常は認められなかった。

## (3) モルモット

### 1) モルモット単回強制経口投与毒性試験

Hartley 系雄モルモット（1 群 5 匹）にリバピリンの 1470 ~ 6810 mg/kg を単回強制経口投与した。

その結果、死亡は 2150 mg/kg 以上の投与群でみられ、LD<sub>50</sub> は 2313 mg/kg であった。

一般状態では、1470 mg/kg 群に異常はみられなかった。2150 mg/kg 以上の投与群では、活動性低下、粗毛、歩行失調、軟便、振戦、尿による被毛の汚れ、腹臥位及びるい瘦（2150 mg/kg 群の 1 例）、6810 mg/kg 群で努力呼吸及びケージ受皿に赤色の着色（血液と推定）がみられた。また、2150 及び 3160 mg/kg 群では体重増加抑制がみられ、1470 ~ 3160 mg/kg 群の数例では投与後 7 日目に体重減少がみられた。

死亡例の剖検では，2150 mg/kg 以上の投与群で肺の明赤色化又は暗赤色化，肝臓の暗色化，胃腸管の拡張，胃腸管内の暗赤色物質，薬物様物質又は赤色様液貯留，3160 mg/kg 群で明緑色の液体を含む胆嚢腫大，胃の白色化，脂肪組織の消失（1例），3160 mg/kg 以上の投与群で肝臓の褪色及び薄黄色斑形成がみられた．生存例の剖検では，1470 mg/kg 群のみに肺の明赤色化又は暗赤色化，肝臓の褪色，薄黄色斑及び粗造化，胃の拡張がみられたが，2150 及び 3160 mg/kg 群の生存例には異常はみられなかった．

## 2) モルモット単回腹腔内投与毒性試験

Hartley 系雄モルモット（1群5匹）にリバピリンの 631 ~ 3980 mg/kg を単回腹腔内投与した．

その結果，死亡は 794 mg/kg 以上の投与群でみられ，LD<sub>50</sub> は 823 mg/kg であった．

一般状態では，631 mg/kg 以上の投与群で活動性低下，歩行失調，振戦，粗毛及び尿による被毛の汚れ，794 mg/kg 以上の投与群で腹臥位，努力呼吸，軟便及び流涎がみられた．また，1000 mg/kg 群では体重増加抑制がみられ，631 mg/kg 群の 1 例では投与後 7 日目に体重減少がみられた．

死亡例の剖検では，794 mg/kg 群で肝臓の暗色化，胃腸管の拡張，黄色液又は暗赤色物質貯留，794 mg/kg 以上の投与群で肺の明赤色化又は暗赤色化，膀胱の拡張及び暗色液貯留，1590 mg/kg 以上の投与群で肺の褪色，透明又は褐色の腹水貯留がみられた．生存例の剖検では，631 mg/kg 群のみに肺の暗赤色化，肝臓の褪色又は暗色化，胃の拡張がみられたが，794 及び 1000 mg/kg 群では異常はみられなかった．

## (4) イヌ単回強制経口投与毒性試験

ビーグル（1群雌雄各1匹）にリバピリンの 30 ~ 480 mg/kg を 1 日 1 回，1 ~ 2 日強制経口投与した．即ち，第 1 群には 30 mg/kg 投与後 9 日目に 240 mg/kg，第 2 群には 60 mg/kg 投与後 16 日目に 480 mg/kg を再投与した．第 3 群には 120 mg/kg を 1 回のみ投与した．

その結果，いずれの投与群においても，死亡は認められなかった．

一般状態では，30 mg/kg 以上の投与群で軟便，粘液便又は下痢（60 mg/kg 以上）が投与後 1 時間 ~ 16 日目に認められ，60 mg/kg 以上の投与群では時に便が血色，赤色又は黄色を呈することもあった．これらの発生頻度には明らかな用量依存性はみられず，30 及び 120 mg/kg 群では比較的少なく，60，240 及び 480 mg/kg 群ではより多く認められた．便の異常は，120，240 mg/kg 群の雌雄及び 480 mg/kg 群の雌では，それぞれ投与後 15，14 及び 13 日目に消失した．120 及び 240 mg/kg 群の各雄 1 例には嘔吐が散発的にみられたが，480 mg/kg では嘔吐は認められなかった．また，240 mg/kg 群の雌 1 例及び 480 mg/kg 群の雄 1 例では体重減少が投与後 6 日目に認められた．

剖検では、60 mg/kg の投与後で 480 mg/kg を投与した群の雌雄の十二指腸上部にクレーター様又は潰瘍様の病変（雄：4, 5 箇所，雌：多数の箇所）が認められたが、他の群では異常はみられなかった。

表二 - 2 単回投与毒性試験

動物種、系統	投与経路	投与量 (mg/kg)	性、例数 / 群	結果	
				LD <sub>50</sub> (mg/kg)	特記すべき所見
ICR 系マウス	経口	1260, 3160, 6310, 10000	5	>10000	死亡：10000 1 一般状態：活動性低下，円背位，粗毛，体重増加抑制 剖検：肺暗赤色化，肝臓暗色化，透明な腹水貯留
	腹腔内	750, 1000, 1160, 1330, 1780	5	1268	死亡：1000 1, 1160 3, 1330 3, 1780 4 一般状態：活動性低下，粗毛，努力呼吸，振戦，円背位，歩行失調，腹臥位，体重増加抑制/減少 剖検：肺の暗赤色化・明赤色化，肝臓の暗色化・褪色，腸管内黄色液貯留，胃腸管の拡張・黄色液/赤色物質の貯留，透明な腹水貯留
SD 系ラット	経口	2150, 2930, 3980, 5410, 6310 <sup>a)</sup> , 7300	5 5	4116 5827	死亡：2150 1, 2930 2, 3980 3 1, 5410 2 1, 6310 3(投与せず), 7300 5 5 一般状態：粗毛，軟便，活動性低下，尿による被毛の汚れ，腹臥位，円背位，眼・鼻周囲の赤色物附着，泌尿生殖器部の脱毛，歩行失調，振戦，体重減少 剖検：肺の暗赤色化・明赤色化，肝臓の暗色化・褪色，胃腸管の拡張・暗赤色/暗褐色物質の貯留，胃壁ひ薄化，白色様薄膜を伴う脾臓の腫大・粗造化
	腹腔内	1000, 1470, 1780, 2150, 3160	5 5	1758 1554	死亡：1470 1 2, 1780 2 4, 2150 5 5, 3160 5 5 一般状態：活動性低下，粗毛，振戦，軟便，努力呼吸，歩行失調，円背位，眼・鼻周囲の赤色物附着，尿による被毛の汚れ，腹臥位，体重減少 剖検：肺の暗赤色化・明赤色化，肝臓の暗色化，胃腸管の拡張・暗赤色物質貯留，腸管内の黄色・赤色様液貯留，透明・赤色様・褐色様の腹水貯留
Hartley 系モルモット	経口	1470, 2150, 3160, 4640, 6810	5	2313	死亡：2150 3, 3160 4, 4640 5, 6810 5 一般状態：活動性低下，粗毛，歩行失調，軟便，振戦，尿による被毛の汚れ，腹臥位，るい瘦，努力呼吸，ケージ受皿の赤色着色，体重増加抑制/減少 剖検：肺の明赤色化・暗赤色化，肝臓の暗色化・褪色・薄黄色斑・粗造化，胃腸管の拡張・暗赤色物質/薬物様物質/赤色様液の貯留，胆嚢の腫大・明緑色液体貯留，胃白色化，脂肪組織消失
	腹腔内	631, 794, 1000, 1590, 2510, 3980	5	823	死亡：794 3, 1000 4, 1590 5, 2510 5, 3980 5 一般状態：活動性低下，歩行失調，振戦，粗毛，尿による被毛の汚れ，腹臥位，努力呼吸，軟便，流涎，体重増加抑制/減少 剖検：肺の暗赤色化・明赤色化・褪色，肝臓の暗色化・褪色，胃腸管の拡張・黄色液/暗赤色物質の貯留，膀胱の拡張・暗色液貯留，透明・褐色の腹水貯留
ビーグル	経口	30 240 <sup>b)</sup> , 60 480 <sup>b)</sup> , 120	1 1	>480 >480	死亡：なし 一般状態：軟便，粘液便，下痢，嘔吐，体重減少 剖検：十二指腸にクレーター様/潰瘍様の病変

観察期間：マウス，ラット，モルモットは 14 日間，イヌは 9 ~ 19 日間  
溶媒：いずれの試験でも 0.4% Tween 80 と 0.2% メチルセルロース水溶液を用いた。

LD<sub>50</sub> : logit regression method

a) : 雌のみ投与した。

b) : 30 mg/kg 投与後 9 日目に 240 mg/kg，60 mg/kg 投与後 16 日目に 480 mg/kg を投与した。

## (5) 参考

### 1) ラット単回強制経口投与毒性試験

SD系ラット（1群雌雄各5匹）にリバピリンの3300～6200 mg/kgを単回強制経口投与した結果、死亡は5780 mg/kg（雄）又は5200 mg/kg（雌）以上の投与群でみられ、LD<sub>50</sub>は雄6430 mg/kg、雌5630 mg/kgであった。一般状態では、3300 mg/kg群で軟便及び尿による被毛の汚れがみられたが、投与後5日目には消失した。5200 mg/kg以上の投与群では、3300 mg/kg群の変化に加えて、粗毛（5200 mg/kg群の1例のみ）、眼脂、鼻汁及び嗜眠、5780 mg/kg以上の投与群で立毛、肛門周囲の黄色の汚れ及び排便減少、6200 mg/kg群の1例では顔面に乾燥した血液の付着がみられた。死亡例の剖検では、5200 mg/kg以上の投与群で胃腸管の充血及び管内にガス又は液体貯留がみられた。肝臓の暗色化及び白色点、胸腺の萎縮及び赤色点がみられ、1例で脾臓の暗色化、他の1例で膵臓の白色塊がみられた。生存例では、6200 mg/kg群で胸腺の萎縮及び赤色点、1例に肝臓の白色塊及び他組織との癒着がみられたのみであった。

### 2) ラット単回静脈内投与毒性試験

SD系ラット（1群雌雄各5匹）にリバピリンの1500～3000 mg/kgを単回静脈内投与した結果、死亡は2000 mg/kg（雄）又は1500 mg/kg（雌）以上の投与群でみられ、LD<sub>50</sub>は雄1960 mg/kg、雌1720 mg/kgであった。一般状態では、1500 mg/kg群の1例で口周囲の赤色の汚れ、1500 mg/kg以上の投与群で口からの分泌物、振戦、歩行失調、眼脂、嗜眠、鼻汁及び軟便、2500 mg/kg群の1例で立毛、2500 mg/kg以上の投与群で側臥位及び努力呼吸がみられた。死亡例の剖検では、胃腸管の拡張、充血及び管内のガス又は液体の貯留、胸腺の萎縮、肝臓の褐色斑、1例で心尖部に円形の白色部がみられ、3000 mg/kg群では胸腺に赤色点が認められた。生存例の剖検では、心尖部に円形の白色部がみられた。

### 3) ラット単回筋肉内投与毒性試験

SD系ラット（1群雌雄各5匹）にリバピリンの1190～2380 mg/kgを単回筋肉内投与した結果、死亡は雌雄とも1590 mg/kg以上の投与群でみられ、LD<sub>50</sub>は雄1780 mg/kg、雌1620 mg/kgであった。一般状態では、1190 mg/kg以上の投与群で歩行失調、眼脂、嗜眠、鼻汁又は軟便、1590 mg/kg群で振戦、側臥位、粗毛及び便秘、1590 mg/kg以上の投与群で口からの分泌物及び努力呼吸、1990 mg/kg群の1例で尿による被毛の汚れ、2380 mg/kg群で半眼がみられた。死亡例の剖検では、胃腸管の充血及び管内の液体貯留等がみられ、1例では回腸に潰瘍が認められた。また、胸腺萎縮、肝臓の変色、膵臓の白色小塊、膀胱内の暗褐色又は赤色液貯留がみられ、1例では腎周囲の脂肪に白色点がみられた。生存例の剖検では、心尖部に円形の白色部がみられた。

## (6) 単回投与毒性についての考察

### 1) 中枢神経系の障害を疑わせる症状

単回投与試験において、中枢神経系の障害を疑わせる振戦、歩行失調又は流涎等がみられたため、本薬との関連性について以下に考察した。

リバピリンを臨床投与経路である経口で単回投与した際に、振戦又は歩行失調がラットの 3980 mg/kg [推定臨床投与量 13 mg/kg (ヒト体重を 60 kg 超とした場合 800 mg/日) の 306 倍] 以上の投与群及びモルモットの 2150 mg/kg (同 165 倍) 以上の投与群でみられた。上記の変化はいずれも LD<sub>50</sub> 付近かそれ以上の極めて高い投与量群の死亡例にみられ、生存例にはほとんど観察されなかった。また、これら死亡例では消化管への強い炎症 [下記の 2) 胃腸管の変化についての項参照] が認められた。この消化管への障害が全身状態悪化の主たる原因と考えられたが、致死する程の大量投与では、呼吸循環器や中枢を含む生命維持にかかわる生理機能が破綻しているため、観察された振戦又は歩行失調は、死亡前の二次的变化によるものと考えられた。また、流涎はモルモット腹腔内単回投与で死亡した少数例 (794 ~ 1590 mg/kg 群の 1 ~ 3 例, 同 61 ~ 122 倍) でみられたのみで、他の動物種では全く観察されなかった。このため、振戦、歩行失調又は流涎は、本薬投与による直接的な中枢作用による可能性は低いと推察された。

### 2) 胃腸管の変化

単回投与試験において、胃腸管内に暗赤色又は暗褐色物質の貯留がみられたため、本薬の刺激性との関連性について以下に考察した。

臨床投与経路である経口投与では、ラット及びモルモットで 2150 mg/kg (推定臨床投与量の 165 倍) 以上の投与群の死亡例で胃腸管の暗赤色又は暗褐色物質の貯留がみられ、腸管管腔内に炎症性の浸出物 (一部出血を含む) の蓄積が示唆された。また、イヌでは 480 mg/kg (同 37 倍) 群の生存例で十二指腸上部にクレーター様又は潰瘍様の病変がみられた。ラット及びイヌの反復投与試験でも腸管粘膜の細胞傷害に関連した萎縮、炎症あるいは壊死が病理組織学的に観察されていることから、本薬の胃腸管への影響は明らかであり、類薬のヌクレオシドアナログ同様、細胞分裂の活発な消化管粘膜に影響を及ぼした結果と推察された。しかし、反復投与試験でみられた腸管の変化は 1 ヶ月目以降には回復を示し、本薬の暴露に対し腸管粘膜は適応性を示すと考えられた。

### 3) 胸腺の萎縮

参考資料のラット単回投与試験において、胸腺の萎縮が認められているが、その他の試験ではみられていないことから、この違いについて以下に考察した。

単回投与試験では、胸腺の萎縮がラット経口投与試験の 5200 mg/kg 群の 2 例、5780 及び 6200 mg/kg 群の全例、静脈内投与試験の 1500 及び 2000 mg/kg 群の各 1 例及び 2500 mg/kg 群の 2 例、筋肉内投与試験の 1590 mg/kg 群の 1 例及び 1990 mg/kg 群の 3 例に認められた（いずれも  
で実施）。しかし、他のマウス、ラット、モルモット及び  
びイヌを用いた単回投与試験では胸腺の萎縮は認められなかった（いずれも  
で実施）。その主な原因としては、試験の実施施設及び観察者が異なるためと推察される。しかし、ラット反復投与試験では、全身状態が悪化し、切迫屠殺あるいは死亡が認められる様な高用量（90 mg/kg 以上）で同様な胸腺の萎縮がみられており（本資料概要 196 頁）、単回投与でも全身状態の悪化に関連した変化と推察された。

#### 4) イヌ単回経口投与毒性試験の最高用量の妥当性

リパピリンのイヌ単回強制経口投与毒性試験（本資料概要 182 頁）では、30 ~ 480 mg/kg を単回強制経口投与した結果、30 mg/kg 以上の投与群で軟便、粘液便又は下痢、60 mg/kg 以上の投与群では時に血便様の変化が観察された。剖検では 240 mg/kg までの投与群に異常はみられなかったが、最高用量群の 480 mg/kg 群では十二指腸にクレーター様又は潰瘍様の病変が、雄で 4、5 箇所、また雌では多数の箇所に観察された。これらの結果から、主たる標的器官は消化管と判断した。特に、480 mg/kg 群では消化管への影響が強く、剖検で潰瘍様の病変が多数認められたため、これ以上の用量を投与しても消化管障害のため全身の状態が悪化し死亡する可能性があるかと推定された。なお、消化管への影響については、イヌ反復投与毒性試験でも、より低い用量の 10 mg/kg 以上で影響がみられており（本資料概要 202、208 及び 212 頁）、反復投与時の主要な標的器官の一つであることが確認されている。

この様に、イヌ単回経口投与毒性試験の高用量群の結果から、反復投与試験で予想される毒性の標的器官が同定されたこと、及びその毒性変化が強いものであったことから、イヌ単回投与毒性試験の最高用量である 480 mg/kg は、医薬品毒性試験ガイドライン<sup>1)</sup>を満足する妥当な用量であると判断された。

#### 引用文献

- 1) 医薬品 非臨床試験ガイドライン解説，薬事日報社 (1997)

## 2. 反復投与毒性

### (1) ラット 28 日間強制経口投与毒性試験

SD系ラット（1群雌雄各10匹）にリバピリンの30, 60及び120 mg/kgを28日間強制経口投与し、亜急性毒性を検討した。

#### 1) 投与量設定根拠

120 mg/kg [推定臨床投与量（体重60 kg超の場合800 mg/日：13 mg/kg）の約9倍に相当]を最高用量とし、以下公比2で60及び30 mg/kgを設定した。

#### 2) 試験成績

結果は表二 - 3 に示した。

##### ① 一般状態，摂餌量及び体重

一般状態に異常はみられなかった。なお，120 mg/kg 群の雌雄各1例が投与29日目の採血後に死亡したが，採血手技によるものであり，本薬投与に関連したものではないと判断した。

60 mg/kg 以上の投与群では体重増加抑制及び摂餌量の減少がみられた。

##### ② 血液学的検査及び血液化学的検査

血液学的検査では，30 mg/kg 以上の投与群の雌及び120 mg/kg 群の雄で赤血球数，Hb 又は Ht が対照群に比べて減少（5%以上）した。60 mg/kg 及び120 mg/kg の投与群の雌雄では血小板数が対照群に比べて増加（各7及び20%以上）した。

血液化学的検査では，異常はみられなかった。

##### ③ 臓器重量，剖検及び病理組織学的検査

臓器重量では，120 mg/kg 群で副腎の相対重量の増加がみられたが，体重増加抑制によるものと考えられた。

剖検では120 mg/kg 群で胸腺萎縮がみられ，同群の病理組織学的検査では胸腺のリンパ球減少がみられた。

#### 3) 試験成績のまとめ

ラットにリバピリンの30, 60及び120 mg/kgを28日間強制経口投与した。その結果，30 mg/kg 以上の投与群で赤血球数，Hb 又は Ht の減少がみられ，60 mg/kg 以上の投与群で体重増加抑制，摂餌量減少及び血小板の増加がみられ，120 mg/kg 群では胸腺のリンパ球減少がみられた。

30 mg/kg 群の貧血は軽度であるが，60及び120 mg/kg 群の結果から本薬投与との関連性を否定し得ないため，本試験の無毒性量は30 mg/kg 未満と判断した。

表二 - 3 ラット 28 日間強制経口投与毒性試験

動物種,系統,週齡,体重	SD系ラット, 7 週齡, 189.9~274.8 g, 141.6~185.3 g								
投与方法	本薬を媒体 (0.4% Tween 80と0.2% メチルセルロース水溶液) に溶解し, 28日間強制経口投与した.								
投与量 (mg/kg)	0 (媒体)		30		60		120		
性									
動物数	10	10	10	10	10	10	10	10	
死亡数	0	0	0	0	0	0	1 <sup>a)</sup> (29日)	1 <sup>a)</sup> (29日)	
一般状態									
体重									
摂餌量									
血液学的検査									
赤血球	14日	7.55	7.60	7.91	7.31	7.73	7.16	7.13	7.05
(10 <sup>6</sup> /μL)	29日	8.24	8.12	8.19	7.98	8.34	7.88	6.90*	6.88*
Hb	14日	16.4	16.1	16.5	15.1	16.1	15.0*	15.3	15.3
(g/dL)	29日	17.4	17.5	16.3	16.1	16.8	16.0	14.8*	15.0*
Ht	14日	44.7	43.9	45.4	41.5	44.4	40.8*	41.5	41.3
(%)	29日	46.6	45.8	44.5	43.5	45.9	43.2	40.3*	40.2
血小板	14日	912	1032	1087	972	976	1019	1110	1242
(10 <sup>3</sup> /μL)	29日	962	1050	1049	1066	1106	1127	1356*	1311*
血液化学的検査									
臓器重量									
副腎 (g)	0.0481	0.0584	0.0527	0.0574	0.0519	0.0544	0.0505	0.0667	
(体重比 %)	0.0157	0.0300	0.0170	0.0309	0.0181	0.0298	0.0185*	0.0369*	
剖検									
胸腺: 萎縮	0	0	0	0	0	0	3	1	
病理組織学的検査									
胸腺: リンパ球減少	(10) <sup>b)</sup> 0	(10) 0	(10) 0	(10) 0	(10) 0	(10) 0	(10) 8	(10) 7	
無毒性量	< 30 mg/kg								

: 特記すべき異常なし. : 減少  
 \* : p<0.05 (Scheffe's test又はTukey's WSD test).  
 a): 採血手技による死亡  
 b): 検査動物数

## (2) ラット 30 日間混餌経口投与毒性試験

SD 系ラット（1 群雌雄各 10 匹）にリバピリンの 10, 40, 160 及び 320 mg/kg を 30 日間混餌経口投与し、亜急性毒性を検討した。

### 1) 投与量設定根拠

先に実施した 28 日間強制経口投与毒性試験（30, 60, 120 mg/kg, 本資料概要 187 頁）では、最高用量の 120 mg/kg 群でも体重増加抑制、貧血及び胸腺のリンパ球減少しかみられなかったことから、混餌投与による本試験では最高用量を 320 mg/kg とし、その半量の 160 mg/kg を設定して、以下公比 4 で 40 及び 10 mg/kg とした。

### 2) 試験成績

結果は表二 - 4 に示した。

#### ① 一般状態、摂餌量及び体重

40 mg/kg 群では体重増加抑制が認められた。160 mg/kg 群では円背位、歩行失調、るい瘦、体温低下、四肢の蒼白化、体重増加抑制及び摂餌量減少がみられ、さらに異常呼吸、立毛又は運動抑制を示した雄 3 例及び雌 4 例が投与 12 ~ 30 日目に死亡又は全身状態悪化のために切迫屠殺された。320 mg/kg 群では立毛、運動抑制又はるい瘦がみられ、体重及び摂餌量の減少が著しいために、全例が投与 10 日目に切迫屠殺された。

#### ② 摂水量及び眼科学的検査

異常はみられなかった。

#### ③ 血液学的検査及び骨髄検査

40 及び 160 mg/kg 群の雌雄に Hb 及び Ht の減少、160 mg/kg 群の雌雄に赤血球数の減少がみられた。10 及び 40 mg/kg 群の雌雄では MCV 及び MCH の減少もみられた。10 mg/kg 群の Hb 及び Ht の変化は僅かであり、雌では異常はみられなかった。160 mg/kg 群の雌雄では白血球数の減少（雄ではリンパ球数及び好酸球数の減少、雌ではさらに好中球数及び好塩基球数の減少による）がみられた。同群の雌雄各 2 例に骨髄細胞充実性の低下がみられたが、ごく軽度であり造血作用への影響はないと考えられた。

#### ④ 血液化学的検査

160 mg/kg 群の雄で ALT の減少及び Cl の増加、雌で AST 及び Pi の増加、総蛋白、アルブミン、クレアチニン及び Ca の減少がみられた。

#### ⑤ 臓器重量

160 mg/kg 群の雌雄で胸腺重量の減少、心臓及び肺重量の増加がみられた。

## ⑥ 剖検

160 mg/kg 群で肺の暗色化，160 及び 320 mg/kg 群で肝臓の小葉明瞭，褪色，顆粒状又は硬化，心弛緩，胸腺の萎縮及びゼラチン状化，リンパ節の肥大及び褪色，胸腔内浸出液貯留が認められた。

## ⑦ 病理組織学的検査

対照群を含む全群で限局性の肺肺炎がみられたが，40 mg/kg 群（雄 2 例）では対照群に比べて若干広い範囲に，160 及び 320 mg/kg 群ではび慢性に肺肺炎が認められた。40 mg/kg 群では他に雌 1 例で十二指腸のごく軽度の多発性巣状壊死，雄 2 例で脾臓の髓外造血減少又は消失がみられた。160 及び 320 mg/kg 群では，さらに腸管（十二指腸，空腸，回腸，盲腸又は結腸）の多発性巣状壊死，杯細胞の過形成，粘膜の嚢胞形成，粘膜萎縮又は絨毛萎縮（320 mg/kg 群のみ），肝臓の小葉中心性壊死，門脈線維化（160 mg/kg 群の雄のみ）又はび慢性の好塩基球増加（320 mg/kg のみ），心筋症，心臓の拡張（160 mg/kg 群の雄 2 例のみ）及び心房血栓（160 mg/kg の雌 1 例のみ），唾液腺の萎縮，精細管萎縮，精巢上体内に巨細胞，精囊の分泌物減少又は消失，胸腺萎縮，リンパ節のうっ血，胚中心消失，マクロファージ及び炎症細胞の浸潤，傍皮質減少がみられた。

## 3) 試験成績のまとめ

ラットにリバピリンの 10，40，160 及び 320 mg/kg を 30 日間混餌経口投与した。その結果，10 mg/kg 群では雄に Hb 及び Ht の軽度な減少がみられた。40 mg/kg 群では雌雄に体重増加抑制，Hb 及び Ht の減少がみられ，雄又は雌にごく軽度の肺肺炎，腸管の多発性巣状壊死及び脾臓の髓外造血減少又は消失がみられた。160 mg/kg 以上の投与群では雌雄に体重増加抑制及び摂餌量減少がみられ，160 mg/kg 群の 20 例中 7 例及び 320 mg/kg 群の全例が死亡又は全身状態悪化のため切迫屠殺された。160 mg/kg 群では赤血球数，Hb，Ht 及び白血球数の減少がみられた。主に 160 mg/kg 以上の投与群では，腸管，肝臓，肺，心臓，唾液腺，脾臓，雄生殖器，胸腺及びリンパ節に病理組織学的変化が認められた。

以上，10 mg/kg 群の雄では軽度であるが Hb 及び Ht の変化がみられたため，本試験の無毒性量は 10 mg/kg 未満と判断した。

## 4) 病理組織学的変化についての考察

本試験で認められた腸管（多発性壊死等），肝臓（小葉中心性壊死），肺（び慢性肺肺炎），リンパ系器官（萎縮等）及び心臓（心筋症，拡張及び心房血栓）の所見とヒトでの安全性について以下に考察した。

本試験では，死亡又は切迫屠殺例がみられた 160 mg/kg 以上の投与群で，腸管（多発性壊死等），リンパ系器官（萎縮等），肝臓（小葉中心性壊死），肺（び慢性肺肺炎）及び心臓（心筋

症，拡張及び心房血栓）への変化が病理組織学的検査で観察された．40 mg/kg 群の 1 例で軽度な十二指腸の多発性巣状壊死が認められたが，その他の変化は動物が死亡しない 10 及び 40 mg/kg 群（非致死量）ではみられなかった．

これらの所見のなかで，広範囲の壊死を含む腸管の変化は 160 mg/kg 以上の投与群の全例で認められた．このため，腸管の粘膜傷害部位から毒素や細菌等が入り，高度な貧血に加え，ストレス及び全身状態の悪化が生じ，肝臓の小葉中心性壊死，肺炎及びリンパ節の炎症性細胞浸潤等の全身性の炎症及びリンパ系器官の萎縮を誘発したものと考えられた．心筋症も同様に腸管の壊死に関連していると考えられるが，心臓の拡張及び心房血栓は少数例（2 及び 1 例）の変化であり，心筋症による二次的变化か全身状態悪化による非特異的な変化と考えられた．以上，肝臓，肺，リンパ系器官及び心臓の変化は，腸管の傷害及び貧血による二次的な影響と考えられるが，いずれの変化も動物が死亡する程の高用量の 160 mg/kg（推定臨床投与量 13 mg/kg の 12 倍）以上の投与群でみられ，他の動物種では同様な所見が認められていないことから，推定臨床投与量ではこれらの組織及び器官に重篤な副作用が生じる可能性は低いと推察された．

表二 - 4 ラット 30 日間混餌経口投与毒性試験 (その 1)

動物種,系統,週齡,体重	SD系ラット,約6週齡, 181~236g, 128~162g									
投与方法	本薬を餌に混合し,30日間混餌経口投与した.									
投与量(mg/kg)	0(餌のみ)		10		40		160		320	
性										
動物数	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
平均リバリリン摂取量 <sup>a)</sup> (mg/kg)	(実施せず)		10.1-	9.7-	38.6-	38.0-	112.8-	145.6-	274.0	269.7
			11.8	11.6	46.0	45.8	243.6	234.5		
死亡・切迫屠殺数	0	0	0	0	0	0	3 (16~ 19日)	4 (12~ 30日)	10 <sup>b)</sup> (10日)	10 <sup>b)</sup> (10日)
一般状態							円背位,歩行失調, るい瘦,体温低下, 四肢の蒼白化, 異常呼吸,立毛,運 動抑制		立毛, 運動 抑制, るい瘦	
体重					増加抑 制	増加抑 制	増加抑制	増加抑制		
摂餌量										
摂水量										
眼科学的検査										
血液学的検査 <sup>c)</sup>										
赤血球 (10 <sup>12</sup> /L)	7.56	7.68	7.52	7.64	7.48	7.55	4.46***	4.14***	(実施せず)	
Hb (g/dL)	15.0	14.8	14.0*	14.2	13.6**	13.5**	8.9***	8.2***		
Ht (L/L)	0.445	0.427	0.419*	0.412	0.411**	0.397**	0.268***	0.236***		
MCH (pg)	19.8	19.2	18.6***	18.5*	18.2***	17.9***	20.0	19.8		
MCV (fL)	59.0	55.6	55.8***	54.0*	54.9***	52.6***	59.9	57.0		
白血球 (10 <sup>9</sup> /L)	12.52	10.48	15.30	11.11	12.54	9.11	7.39**	4.72***		
リンパ球 (10 <sup>9</sup> /L)	10.35	8.60	11.97	9.33	10.53	7.57	5.78**	3.78***		
好中球 (10 <sup>9</sup> /L)	1.70	1.45	2.72*	1.37	1.50	1.14	1.13	0.51***		
好酸球 (10 <sup>9</sup> /L)	0.10	0.12	0.15*	0.11	0.14	0.12	0.03**	0.01***		
好塩基球 (10 <sup>9</sup> /L)	0.03	0.02	0.04	0.02	0.03	0.02	0.02	0.01***		
血液化学的検査 <sup>c)</sup>										
ALT (IU/L)	71	58	69	66	67	59	38***	54	(実施せず)	
AST (IU/L)	98	86	100	90	94	83	92	122*		
総蛋白 (g/L)	63	64	62	65	61	63	63	55***		
アルブミン (g/L)	33	36	33	36	33	35	32	28***		
クレアチニン (μmol/L)	46	47	46	47	46	47	47	43***		
Cl (mmol/L)	100	100	99	100	100	101	102**	100		
Pi (mmol/L)	2.30	2.14	2.30	2.21	2.37	2.15	2.49	2.66***		
Ca (mmol/L)	2.84	2.78	2.83	2.81	2.79	2.75	2.86	2.68*		
臓器重量										
胸腺	0.561	0.536	0.592	0.455	0.579	0.427	0.187***	0.207**	(実施せず)	
心臓	1.35	0.89	1.40	0.86	1.38	0.93	2.09***	1.40***		
肺	1.62	1.31	1.84	1.20	1.68	1.36	2.92***	2.05**		

- : 特記すべき異常なし . : 減少 .

\* : p<0.05, \*\* : p<0.01, \*\*\* : p<0.001 (臨床検査 : Student's t-test using Fisher's F-protected LSD又はKruskal-Wallis test . 臓器重量 : 最終体重を共変数とした共分散分析) .

a) : 10~160mg/kg群は投与1~5週の最大及び最小値, 320mg/kg群は投与1週目の値を示した .

b) : 体重及び摂餌量の減少が著明であったため, 投与10日目に切迫屠殺した .

c) : 雄は投与29日, 雌は投与31日に測定した .

表二 - 4 ラット 30 日間混餌経口投与毒性試験 (その 2)

投与量(mg/kg)	0 ( 餌のみ )		10		40		160		320	
性										
剖検	(10) <sup>a)</sup>	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)
肝臓：褪色	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
小葉明瞭	0	0	0	0	0	0	1	3	0	2
顆粒状	0	0	0	0	0	0	2	1	0	0
硬化	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
心臓：弛緩	0	0	0	0	0	0	5	4	1	3
胸腺：萎縮	0	0	0	0	0	0	3	3	1	1
ゼラチン状化	0	0	0	0	0	0	0	1	0	2
リンパ節：肥大	0	0	0	0	0	0	5	3	5	3
褪色	0	0	0	0	0	0	3	3	1	1
肺：暗色化	0	0	0	0	0	0	2	3	0	0
胸腔内：浸出液貯留	0	0	0	0	0	0	3	6	0	2
病理組織学的検査										
肺：	(10) <sup>a)</sup>	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(9)	(9)	(10)	(10)
肺炎(び漫性)	0	0	0	0	0	0	7	4	4	3
(局所性)	0	0	0	0	2	0	1	2	6	4
(限局性)	1	1	2	4	3	0	1	3	0	2
限局性血栓	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
十二指腸：	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(9)	(8)	(10)	(10)
多発性巣状壊死	0	0	0	0	0	1	7	7	10	10
絨毛萎縮	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
粘膜萎縮	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0
空腸：	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(8)	(8)	(10)	(10)
多発性巣状壊死	0	0	0	0	0	0	8	6	10	9
粘膜萎縮	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0
回腸：	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(7)	(7)	(10)	(10)
多発性巣状壊死	0	0	0	0	0	0	3	5	8	10
粘膜萎縮	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
盲腸：	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(8)	(7)	(10)	(10)
多発性巣状壊死	0	0	0	0	0	0	3	2	6	7
杯細胞過形成	0	0	0	0	0	0	2	0	7	3
粘膜囊胞形成	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
結腸：	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(8)	(9)	(10)	(10)
多発性巣状壊死	0	0	0	0	0	0	3	2	4	8
杯細胞過形成	0	0	0	0	0	0	2	0	6	9
粘膜囊胞形成	0	0	0	0	0	0	0	1	1	4
粘膜萎縮	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
肝臓：	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)
小葉中心性壊死	0	0	0	0	0	0	0	7	1	3
門脈域線維化	0	0	0	0	0	0	4	0	0	0
び漫性の好塩基球増加	0	0	0	0	0	0	0	0	5	7
心臓：	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)
心筋症	0	0	0	0	0	0	7	6	9	10
拡張	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
心房拡張	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
心房血栓	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
唾液腺：	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)
萎縮	0	0	0	0	0	0	4	5	7	9
脾臓：	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(9)	(10)	(10)
髓外造血減少/消失	0	0	0	0	2	0	6	2	10	9

a) : 検査動物数

表二 - 4 ラット 30 日間混餌経口投与毒性試験 (その 3)

投与量(mg/kg)	0 (餌のみ)		10		40		160		320	
性										
精巣： 精細管萎縮	(10) <sup>b)</sup> 0		(10) 0		(10) 0		(10) 1		(10) 5	
精巣上体： 巨細胞	(10) 0		(10) 0		(10) 0		(10) 3		(10) 6	
精囊： 分泌物減少/消失	(10) 0		(10) 0		(10) 0		(9) 2		(10) 4	
胸腺： 萎縮	(10) (10) 0 0		(10) (10) 0 0		(10) (10) 0 0		(10) (10) 10 10		(10) (9) 10 9	
腸間膜リンパ節： 胚中心消失 マクロファージ浸潤 傍皮質減少	(10) (10) 0 0 0 0 0 0		(10) (10) 0 0 0 0 0 0		(10) (10) 0 0 0 0 0 0		(10) (9) 0 0 0 0 0 0		(10) (10) 0 1 0 2 0 1	
下顎リンパ節： 胚中心消失 うっ血	(10) (10) 0 0 0 0		(10) (10) 0 0 0 1		(10) (10) 0 0 1 0		(10) (10) 0 1 0 0		(10) (10) 3 2 0 0	
リンパ節 <sup>a)</sup> ： 胚中心消失 うっ血 マクロファージ浸潤 炎症細胞浸潤 傍皮質減少	(0) (0)     		(0) (0)     		(0) (0)     		(5) (3) 4 2 4 3 4 2 1 1 1 1		(4) (4) 3 2 2 1 2 3 0 1 1 0	
骨髓検査 細胞充実性	(10) <sup>b)</sup> (9) 0 0		(9) (9) 0 0		(10) (10) 0 0		(7) (6) 2 2		(0) (0)	
無毒性量	< 10 mg/kg									

: 減少  
a) : 剖検時に異常がみられたリンパ節  
b) : 検査動物数

### (3) ラット 52 週間混餌経口投与毒性試験

SD系ラットにリバビリンの1, 10, 30 及び 90 mg/kg を 52 週間混餌経口投与し, 慢性毒性を検討した。動物数は1群雌雄各 50 匹とし, 中間検査のため 26 週間投与後に1群雌雄各 15 匹を屠殺した(26 週間投与群)。残りの1群雌雄各 35 匹(52 週間投与群)は 52 週間投与した。

#### 1) 投与量設定根拠

30 日間混餌経口投与試験(10, 40, 160, 320 mg/kg, 本資料概要 189 頁)では, 40 mg/kg 以上の投与群で体重増加抑制及び貧血, 160 mg/kg 以上の投与群で死亡又は切迫屠殺例がみられたため, 最高用量を 90 mg/kg とし, 以下公比 3 で 30 及び 10 mg/kg を設定し, さらに低用量の 1 mg/kg を設けた。

#### 2) 試験成績

結果は表二 - 5 に示した。

##### ① 一般状態, 体重, 摂餌量及び摂水量

90 mg/kg 群では, 主として口周囲及び尾部の痂皮又は皮膚の病変, 口部, 精巣及び膈周囲の腫脹, 体重の増加抑制及び摂餌量の減少がみられた。加えて, るい瘦, 円背位, 背骨明瞭及び体重減少等を示した雄 27 例及び雌 8 例が死亡又は全身状態悪化のため切迫屠殺された。他の投与群でみられた死亡又は切迫屠殺例数は対照群と同様であった。なお, 90 mg/kg 群の雄では生存動物数の減少がみられたため, 投与 50 週目に全例(10 例)を屠殺して試験を終了した。

摂水量には, いずれの投与群でも異常はみられなかった。

##### ② 眼科学的検査

投与 29 週目から 90 mg/kg 群で網膜の反射亢進を示す動物数の増加がみられ, 雌では網膜の血管径及び数の減少を伴う例も認められた。

##### ③ 血液学的検査

10 mg/kg 以上の投与群の雌雄で投与 4 週目から Hb, Ht, MCV, MCHC 又は MCH の減少がみられ, 90 mg/kg 群ではさらに赤血球数の減少がみられた。これらの変化は試験期間を通じてみられた。90 mg/kg 群の赤血球系パラメータの減少は明らかであったが, 低用量の 10 及び 30 mg/kg 群の変化は軽度で, 投与継続にもかかわらず増強することはなかった。90 mg/kg 群の雄では白血球数(リンパ球数, 好酸球数, 好塩基球数)の減少も認められた。また, 同群の雌雄では, プロトロンビン時間が投与 39 週目に一過性に延長した。

#### ④ 血液化学的検査

90 mg/kg 群で ALT の減少（雄：投与 4, 13 及び 26 週，雌：投与 13 週）がみられたが，ALT の減少は 30 mg/kg 群の雌雄では投与 13 週目に一過性に認められた．また，90 mg/kg 群の雌では試験期間を通じてアルブミン及び A/G 比の減少及び Pi の増加がみられ，雄では投与 13 週にアルブミンが増加したが，投与 26 週目以降は減少した．また，90 mg/kg 群の雄では投与 50 週目に総ビリルビンの減少がみられた．

#### ⑤ 臓器重量及び剖検

26 週間投与群及び 52 週間投与群の 90 mg/kg 群で胸腺重量の減少，心臓，肺，前立腺又は脾臓の重量の増加，剖検で胸腺萎縮又は痂皮がみられた．

#### ⑥ 病理組織学的検査及び骨髄検査

26 週間投与群及び 52 週間投与群の 90 mg/kg 群では，胸腺の細胞充実性減少及びその二次的变化と考えられる肺炎，皮膚の潰瘍及び炎症（慢性皮膚炎及び化膿性皮膚炎），顎下リンパ節の形質細胞増加が認められた．26 週間投与群の 30 mg/kg 群でもほぼ同様な変化がみられたが，52 週間投与群の 30 mg/kg 群では胸腺の変化のみがみられた．また，オイルレッド O 染色により心臓，肝臓及び骨格筋の脂肪沈着の程度を観察したが，対照群と本薬投与群との間に差は認められなかった．

骨髄検査では，いずれの投与群にも異常はみられなかった．

#### ⑦ 血漿中リバビリン濃度

血漿中リバビリン濃度の結果から，用量依存的な暴露が確認された．

### 3) 試験成績のまとめ

ラットにリバビリンの 1, 10, 30 及び 90 mg/kg を 52 週間混餌経口投与した．その結果，10 mg/kg 以上の投与群の雌雄に Hb 及び Ht の減少がみられた．90 mg/kg 群では体重増加抑制，摂餌量減少がみられ，死亡又は切迫屠殺例が増加した．同投与群では網膜反射亢進，赤血球数及び白血球数（雄）の減少，ALT（投与 4 ~ 26 週），アルブミン及び A/G 比の減少，胸腺重量の減少，心臓及び肺重量の増加がみられた．90 mg/kg 群では胸腺の細胞充実性減少及びその二次的变化と考えられる肺及び皮膚の炎症，顎下リンパ節の形質細胞増加が認められたが，同様な変化は 30 mg/kg 群でも低頻度でみられた．骨髄への影響は認められなかった．

以上，10 mg/kg 以上の投与群で貧血がみられたため，本試験の無毒性量は 1 mg/kg と判断した．

### 4) 胸腺の変化及びその二次的变化についての考察

本試験における胸腺の変化及びその二次的变化（肺の炎症，皮膚の潰瘍及び炎症，リンパ節の形質細胞の増加）の機序及びそれら病変のヒトでの安全性について以下に考察した．

52 週間投与後の検査では，最高投与量の 90 mg/kg 群で胸腺の重量減少及び細胞充実性の減少，肺の炎症，皮膚の潰瘍及び炎症，リンパ節の形質細胞の増加が認められた．同群は，高度の貧血に加えて，るい瘦及び摂餌量減少等の全身状態の悪化がみられており，雄で 50 例中 27 例，雌で 50 例中 8 例が死亡又は切迫屠殺される程の高用量である．胸腺の変化は，他の反復投与試験でも，動物の一般状態が悪化したり，死亡あるいは切迫屠殺されるような高用量で認められているため，リバピリン投与による直接的な影響ではなく，ストレスや体重増加抑制などの全身状態に関連した変化と考えられた．さらに 90 mg/kg 群の皮膚や肺の病理組織学的検査で化膿性皮膚炎及び肺炎が観察されたため，皮膚や肺の変化あるいはリンパ節の形質細胞の増加は，感染による二次的な影響を示唆するものと考えられた．以上，同試験の高用量であり致死量である 90 mg/kg（推定臨床投与量 13 mg/kg の 7 倍）でみられた上記の変化は，高度の貧血と全身状態の悪化及び感染症による二次的な影響が加わったものと考えられ，推定臨床投与量ではこれらの組織及び器官に重篤な副作用が生じる可能性は低いと推察された．

表二 - 5 ラット 52 週間混餌経口投与毒性試験 (その 1)

動物種,系統,週齢,体重	SD系ラット, 約 7 週齢, 208~293 g, 143~194 g										
投与方法	本薬を餌に混合して, 26 週間 (26週間投与群) 又は 52 週間 (52週間投与群) 混餌経口投与した.										
投与量 (mg/kg)	0 (餌のみ)		1		10		30		90		
性											
動物数	15+35 <sup>a)</sup>	15+35 <sup>a)</sup>	15+35 <sup>a)</sup>	15+35 <sup>a)</sup>	15+35 <sup>a)</sup>	15+35 <sup>a)</sup>	15+35 <sup>a)</sup>	15+35 <sup>a)</sup>	15+35 <sup>a)</sup>	15+35 <sup>a)</sup>	
平均リバピリン摂取量 (mg/kg)	0	0	1.0	1.0	10	10	30	30	91	90	
死亡・切迫屠殺数	0	3 (27~52週)	1 (36週)	1 (52週)	3 (7~39週)	0	0	2 (18~53週)	27 (5~50週)	8 (2~51週)	
一般状態									痂皮, 皮膚病変, 口部・精巢・膈周囲の腫脹, 円背位, 背骨明瞭, るい瘦		
体重									増加抑制 増加抑制		
摂餌量											
摂水量											
眼科学的検査 網膜反射 血管径・数									亢進	亢進減少	
血液学的検査 <sup>b)</sup>											
赤血球 (10 <sup>12</sup> /L)	投与前	6.20	6.02	6.26	6.16	6.21	6.25	6.35	6.37	6.25	6.23
	4週	7.72	7.64	8.06	7.58	7.81	7.65	7.71	7.71	7.06**	6.91**
	13週	8.57	8.01	8.68	7.88	8.49	8.13	8.58	8.14	6.93***	6.64**
	26週	8.88	8.28	9.11	8.42	9.22	8.43	8.92	8.28	5.88**	4.95***
	39週	8.63	7.95	9.10	7.91	9.03	7.94	8.60	7.58	4.94**	4.53***
50/52週 <sup>c)</sup>	8.53	7.64	9.05	7.75	9.00	7.62	8.50	7.40	5.01**	5.05***	
Hb (g/dL)	投与前	12.9	12.2	13.0	12.5	12.9	12.7	12.9	12.7	12.8	12.6
	4週	14.9	14.9	15.1	14.8	14.4	14.5	13.9**	14.3*	13.5***	13.2***
	13週	15.5	15.1	15.4	14.8	14.3**	14.3	14.1**	13.7**	13.2***	12.3***
	26週	15.4	15.0	15.4	14.9	14.5	13.8*	13.9***	13.1***	11.5***	10.0**
	39週	15.1	14.9	15.2	14.5	14.1*	13.4*	13.5**	12.7***	10.3***	9.7***
50/52週	15.1	14.5	15.2	14.4	14.0	13.4**	13.3**	12.4***	10.4***	10.4***	
Ht (L/L)	投与前	0.405	0.378	0.405	0.389	0.404	0.397	0.400	0.393	0.400	0.391
	4週	0.453	0.423	0.461	0.427	0.446	0.419	0.427*	0.410	0.419**	0.391***
	13週	0.458	0.428	0.454	0.418	0.424**	0.412	0.416**	0.400**	0.408***	0.364***
	26週	0.468	0.448	0.466	0.445	0.442	0.420*	0.420***	0.403***	0.365***	0.313***
	39週	0.440	0.414	0.444	0.404	0.415	0.383*	0.399**	0.362***	0.319***	0.291***
50/52週	0.439	0.402	0.443	0.400	0.414	0.365**	0.396**	0.353***	0.315***	0.309***	
MCV (fL)	26週	52.8	54.3	51.2	52.9	48.0**	49.8**	47.1***	48.6***	63.5	64.7*
	50/52週	51.6	52.7	49.0	51.7	46.2***	47.9**	46.7**	47.7***	65.5	62.1
MCH (pg)	26週	17.4	18.2	16.9	17.8	15.7***	16.3**	15.6***	15.9***	19.9	20.7
	50/52週	17.7	19.0	16.8	18.6	15.6***	17.7**	15.7***	16.8***	21.5	21.0
MCHC (g/dL)	26週	33.0	33.6	33.0	33.5	32.8	32.8***	33.2	32.6***	31.3***	32.0***
	50/52週	34.3	36.2	34.3	36.0	33.8	37.0	33.6*	35.3*	32.9***	33.8***

: 特記すべき異常なし. : 減少.

\*: p<0.05, \*\*: p<0.01, \*\*\*: p<0.001 (血液学的検査: Student's t-test using Fisher's F-protected LSD 又は Kruskal-Wallis test).

a): 26週間投与後に中間検査のため1群雌雄各15匹(但し, 雄の10及び90 mg/kg群は各々14及び13匹)を屠殺し(26週間投与群), 残りは52週間投与した(52週間投与群). なお, 90mg/kg群の雄は投与50週目に全生存例(10例)を屠殺して試験を終了した.

b): 赤血球, Hb, Ht 以外は投与26週(中間屠殺前)及び50/52週(最終屠殺前)のみ記載した.

c): 雄50週, 雌52週

表二 - 5 ラット 52 週間混餌経口投与毒性試験 (その 2)

投与量 (mg/kg)	0 (餌のみ)		1		10		30		90	
性										
血液学的検査(続き) <sup>a)</sup>										
白血球 26週 (10 <sup>9</sup> /L) 50/52週 <sup>b)</sup>	15.42 12.65	8.02 7.89	14.17 12.16	8.35 7.79	14.64 13.61	9.45 9.07	13.27 12.24	8.96 7.92	8.90*** 8.57**	6.78 7.03
リンパ球 26週 (10 <sup>9</sup> /L) 50/52週	12.22 9.18	6.32 5.01	11.07 9.36	6.53 5.67	11.77 10.37	7.38 6.56	10.66 8.94	7.35 5.68	6.06*** 5.15***	4.90 4.52
好酸球 26週 (10 <sup>9</sup> /L) 50/52週	0.24 0.19	0.13 0.15	0.21 0.25	0.12 0.13	0.16* 0.16	0.13 0.13	0.26 0.19	0.14 0.15	0.09*** 0.09*	0.09 0.10
好塩基球 26週 (10 <sup>9</sup> /L) 50/52週	0.08 0.06	0.02 0.04	0.07 0.05	0.03 0.02	0.07 0.06	0.03 0.05	0.06 0.05	0.03 0.03	0.03*** 0.02**	0.02 0.02
プロトロン時間 26週 (sec) 39週 50/52週	21 19 17	16 17 18	17* 18 20	16 17 20	17 18 17	16 17 17	17 19 18	16 17 19	19 22** 18	17 18*** 21
血液化学的検査 <sup>a)</sup>										
ALT 13週 (IU/L) 26週 50/52週 <sup>b)</sup>	62 64 79	63 81 100	55 53 75	62 93 95	53 77 90	59 74 99	48* 53 80	49* 63 98	42*** 39*** 67	45** 70 72
アルブミン 13週 (g/L) 26週 50/52週	32 31 32	40 41 42	32 31 33	38* 39 43	33 32 33	37** 37* 43	34*** 32 34*	38* 37* 44	33* 28* 29*	35*** 35*** 40
A/G 26週 50/52週	0.8 0.8	1.1 1.2	0.9 0.9**	1.1 1.2	0.9 0.8	1.0* 1.1	0.9 0.8	1.1 1.2	0.7 0.7*	0.9*** 0.9***
Pi 26週 (mmol/L) 50/52週	1.75 1.92	1.44 1.82	1.49* 1.72	1.40 1.61*	1.58 1.94	1.61 1.62	1.67 2.01	1.65 1.83	2.00 2.25	1.83** 2.06*
総ビリルビン 26週 (μmol/L) 50/52週	1.5 2.4	1.3 1.5	1.2 1.9	1.4 1.1	1.8 2.7	1.5 1.6	1.8 2.3	1.4 1.5	1.3 1.6*	1.3 1.6
臓器重量										
26 週間投与群										
胸腺	0.277	0.245	0.266	0.223	0.239	0.214	0.258	0.223	0.136***	0.124***
心臓	1.95	1.21	1.85	1.21	1.97	1.29	2.06	1.24	2.41***	1.54***
肺	2.22	1.69	2.14	1.62	2.29	1.58	2.20	1.67	2.87***	2.17***
52 週間投与群										
胸腺	0.188	0.166	0.184	0.160	0.192	0.161	0.152	0.139	0.219	0.103***
心臓	2.03	1.32	2.05	1.36	2.16**	1.39*	2.13*	1.37	2.55***	1.77***
肺	2.25	1.64	2.29	1.75	2.28	1.68	2.28	1.71	2.97***	2.16***
前立腺	0.71		0.70		0.76		0.75		1.01**	
脾臓	1.17	0.68	1.15	0.67	1.32**	0.71	1.24	0.73	1.35*	0.96***

\* : p<0.05, \*\* : p<0.01, \*\*\* : p<0.001 (血液学的検査, 血液化学的検査: Student's t-test using Fisher's F-protected LSD 又は Kruskal-Wallis test, 臓器重量: 最終体重を共変数とした共分散分析)

a) : 赤血球, Hb, Ht 以外は主として投与 26 週 (中間屠殺前) 及び 50/52 週 (最終屠殺前) のみ記載した.

b) : 雄 50 週, 雌 52 週

表二 - 5 ラット 52 週間混餌経口投与毒性試験 (その 3)

投与量 (mg/kg)	0 (餌のみ)		1		10		30		90	
性										
剖検										
26 週間投与群										
皮膚：痂皮	0	2	1	2	0	0	1	0	5	7
胸腺：萎縮	0	1	0	0	0	0	0	0	2	4
52 週間投与群										
皮膚：痂皮	2	3	1	1	0	2	0	5	19	19
病理組織学的検査										
26 週間投与群										
肺：	(15) <sup>a)</sup>	(15)	(15)	(15)	(15)	(15)	(15)	(15)	(15)	(15)
肺炎	0	0	0	0	1	1	2	1	4	5
泡沫状マクロファージ 集簇	0	1	0	0	3	0	3	2	4	2
細動脈壁増生	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0
胸腺：	(15)	(14)	(15)	(15)	(14)	(15)	(15)	(15)	(14)	(15)
細胞充実性減少	0	0	0	0	2	0	9	8	14	15
顎下リンパ節：	(15)	(15)	(15)	(15)	(15)	(15)	(15)	(15)	(15)	(15)
形質細胞増加	0	2	1	2	2	3	6	5	6	7
皮膚：	(15)	(15)	(1)	(0)	(1)	(0)	(0)	(0)	(15)	(15)
潰瘍	0	0	0	0	0	0	0	0	4	5
皮膚炎	0	0	0	0	0	0	0	0	5	5
52 週間投与群										
肺：	(35)	(35)	(35)	(35)	(35)	(35)	(35)	(35)	(35)	(35)
肺炎	3	0	4	3	1	2	1	1	8	8
泡沫状マクロファージ 集簇	5	4	2	2	3	0	2	1	9	3
細動脈壁増生	0	0	0	0	0	0	0	3	4	3
胸腺：	(34)	(34)	(35)	(35)	(35)	(34)	(34)	(32)	(31)	(31)
細胞充実性減少	1	10	6	8	6	4	25	10	29	26
顎下リンパ節：	(30)	(34)	(35)	(35)	(34)	(35)	(34)	(35)	(33)	(35)
形質細胞増加	11	8	16	14	8	14	2	9	17	12
皮膚：	(35)	(35)	(1)	(1)	(2)	(0)	(0)	(2)	(35)	(35)
潰瘍	1	1	0	0	0	0	0	0	22	20
慢性皮膚炎	0	1	0	0	0	0	0	0	0	12
化膿性皮膚炎	1	1	0	0	0	0	0	0	22	18
骨髓検査 26 週間投与群										
52 週間投与群										
血漿中リバピリン濃度 <sup>b)</sup> ( $\mu$ mol)	c)	c)	0.10	0.05	0.97	0.86	4.38	3.56	13.32	16.65
無 毒 性 量	1 mg/kg									

：特記すべき異常なし

a)：検査動物数

b)：RIA法：開発初期に実施され、バリデーションが十分でないため、最終採血時（雄 50 週，雌 52 週）のみを参考値として表示した。

c)：測定せず

(4) ラット 28 日間混餌経口投与 TK 試験

先のラット 52 週間混餌経口投与試験と同じ用量 (1, 10, 30 及び 90 mg/kg) を 28 日間混餌経口投与した場合の TK 試験の成績を表二 - 6 に示した。

1 及び 10 mg/kg 群では, 10 mg/kg 群の1例を除く全例が定量下限 (100 ng/mL) 未満であった。30 及び 90 mg/kg 群では全例で定量下限以上の値が得られ, リバピリンによる暴露が確認された。同群では用量の変化に伴って AUC が増加し, 雌に比べて雄で高値を示した。

表二 - 6 ラット 28 日間混餌経口投与における血漿中薬物濃度

動物種, 系統, 週齢, 体重	SD 系ラット, 約 6 週齢, 153 ~ 202 g, 124 ~ 168 g												
投与方法	本薬を餌に混合して, 28 日間混餌経口投与した。												
投与量 (mg/kg)	1		10		30			90			90 <sup>a)</sup>		
性					+			+			+		
血漿中リバピリン濃度 (LC-MS/MS法)													
C <sub>max</sub> (ng/mL) 28日	ND	ND	ND	ND	278	258	268	2643	2245	2250	2963	2060	2461
T <sub>max</sub> <sup>b)</sup> (hr) 28日	ND	ND	ND	ND	8	8	8	4	8	0	8	8	8
AUC <sub>0-24hr</sub> (ng·hr/mL) 28日	ND	ND	ND	ND	5863	5201	5532	47864	37751	42753	56854	39991	47619

採血時間: 午後 7 時から 0, 4, 8, 12, 16, 20 及び 24 時間目 平均値 (n = 3 ~ 5 匹/性/群)  
 ND: 10mg/kgの1例を除く1及び10mg/kgの全例が定量下限 (100 ng/mL) 未満のため算出できなかった。  
 a): 5 匹/ケージで群飼育 (他の投与群はいずれも個別飼育)  
 b): 採血開始 (午後7時) を0 時とした場合に, C<sub>max</sub>を示した時間。

## (5) イヌ 28 日間強制経口投与毒性試験

ビーグル（1 群雌雄各 3 匹）にリバピリンの 15, 30 及び 60 mg/kg を 28 日間強制経口投与し，亜急性毒性を検討した．

### 1) 投与量設定根拠

60 mg/kg [ 推定臨床投与量（体重 60 kg 超の場合 800 mg/日：13 mg/kg）の約 5 倍に相当 ] を最高用量とし，以下公比 2 で 30 及び 15 mg/kg を設定した．

### 2) 試験成績

結果は表二 - 7 に示した．

#### ① 一般状態

15 mg/kg 以上の投与群で軟便，粘液便及び下痢，30 mg/kg 以上の投与群で血様及びタール様便がみられ，消化管への影響が認められた．加えて，30 mg/kg 以上の投与群では歯肉潰瘍，るい瘦，悪臭，鼻部痂皮，食欲低下による排便消失，60 mg/kg 群ではさらに嘔吐，自発運動低下，嗜眠，脱力，元気消失，衰弱，運動失調，脱水，振戦，円背位，尿による被毛の汚れ及びびらんがみられ，60 mg/kg 群の雄 3 例及び雌 2 例が投与 13 ~ 22 日目に死亡又は全身状態悪化のため切迫屠殺された．

#### ② 体重，摂餌量及び眼科学的検査

15 mg/kg 群の雌では摂餌量の減少，30 mg/kg 以上の投与群の雌雄では体重及び摂餌量の減少がみられた．

眼科学的検査では，いずれの投与群においても異常はみられなかった．

#### ③ 血液学的検査

30 mg/kg 以上の投与群では赤血球数，Hb，Ht，MCV，網赤血球比，白血球数及びプロトロンビン時間の減少がみられた．60 mg/kg 群では雌に MCH の減少，投与初期には雌雄に MCHC の増加がみられた．なお，60 mg/kg 群では投与初期に赤血球系パラメータが上昇したが，脱水によるものと推定された．

#### ④ 血液化学的検査

15 mg/kg 以上の投与群で総蛋白及びグロブリンの減少，30 mg/kg 以上の投与群でアルブミンの減少（30 mg/kg のみ），ハプトグロビン及び 2-グロブリンの増加，60 mg/kg 群で AST，ALP，総ビリルビン，総コレステロール，トリグリセリド，グルコース及び BUN の増加，CPK，Na 及び Cl の減少がみられた．

#### ⑤ 尿検査

30 mg/kg 以上の投与群で潜血及び黄金色の色素（尿沈渣）が観察された．

#### ⑥ 臓器重量

30 mg/kg 以上の投与群で副腎の絶対及び相対重量の増加がみられた。また、30 mg/kg 群では甲状腺及び心臓の絶対重量の減少、脳の相対重量の増加、心臓及び脾臓の相対重量の増加が雄又は雌にみられた。しかし、いずれも食欲低下、ストレス又は体重減少によるもので、本薬による直接的な影響ではないと考えられた。

#### ⑦ 剖検

15 mg/kg 以上の投与群で小腸のクレーター様陥没又は褪色、30 mg/kg 以上の投与群で胸腺萎縮、口腔粘膜の潰瘍又は変色、胃粘膜の黄色化、赤色化又は胃内に胆汁がみられ、60 mg/kg 群では胆嚢に暗色又は濃厚な胆汁がみられた。また、30 又は 60 mg/kg 群の 1～2 例で盲腸の赤色巣、食道の胆汁による着色、陰嚢部分の壊死、胸部又は前肢の潰瘍がみられた。

#### ⑧ 病理組織学的検査

15 mg/kg 以上の投与群で腸炎、30 mg/kg 以上の投与群で胃底部壁細胞の空胞化、骨髄細胞低形成及び胸腺の高度なリンパ球減少がみられた。また、30 mg/kg 以上の投与群では肝クッパー細胞及び脾臓の顆粒状褐色色素、60 mg/kg 群で副腎束状帯の空胞減少及び扁桃のリンパ球減少がみられたが、これらは本薬投与による二次的な変化と考えられた。また、主として 60 mg/kg 群の少数例に脾臓の炎症及び壊死がみられたが、これらは同群でみられた高度の腸炎に関連した変化と考えられた。その他、30 又は 60 mg/kg 群の 1～2 例で扁桃の陰窩の化膿性浸出物、歯肉、陰嚢、胸部及び脚部皮膚に潰瘍がみられた。

### 3) 試験成績のまとめ

ビーグルにリバビリンの 15、30 及び 60 mg/kg を 28 日間強制経口投与した。その結果、15 mg/kg 以上の投与群で腸炎がみられ、30 mg/kg 以上の投与群では腸炎による全身状態悪化に関連した臨床検査値異常も認められた。さらに、30 mg/kg 以上の投与群では体重減少、赤血球数、Hb 及び Ht の減少、白血球数の減少、骨髄低形成、胸腺のリンパ球減少、胃壁細胞空胞化、脾臓の顆粒状褐色色素増加がみられた。60 mg/kg 群では死亡又は全身状態悪化による切迫屠殺例がみられた。

以上、低用量から本薬投与による影響がみられたため、本試験の無毒性量は 15 mg/kg 未満と判断した。

表二 - 7 イヌ 28 日間強制経口投与毒性試験 (その 1)

動物種, 週齢, 体重	ビーグル, 33~37週齢, 7.2~9.7 kg, 6.0~9.7 kg								
投与方法	本薬を媒体 (0.4% Tween 80 と 0.2% メチルセルロース水溶液) に溶解し, 28日間強制経口投与した.								
投与量 (mg/kg)	0 (媒体)		15		30		60		
性									
動物数	3	3	3	3	3	3	3	3	
死亡・切迫屠殺数	0	0	0	0	0	0	3 (13~16日)	2 (13~22日)	
一般状態			軟便, 粘液便, 下痢		軟便, 粘液便, 下痢, 血様便, タール様便, 排便消失, 歯肉潰瘍, るい瘦, 悪臭, 鼻部痂皮		軟便, 粘液便, 下痢, 血様便, タール様便, 排便消失, 歯肉潰瘍, るい瘦, 悪臭, 鼻部痂皮, 嘔吐, 脱力, 自発運動低下, 嗜眠, 元氣消失, 衰弱, 運動失調, 脱水, 振戦, 円背位, 尿による被毛の汚れ, びらん		
体重									
摂餌量									
眼科学的検査									
血液学的検査 <sup>a)</sup>									
赤血球 ( $10^6/\mu\text{L}$ )	投与前	6.30	6.47	7.19	6.98	6.83	7.26	6.65	7.64*
	1週	6.99	7.27	7.49	7.62	7.16	7.67	8.46*	8.08
	2週	6.53	7.04	7.18	7.29	6.61	6.56	7.86	7.52
	3週	6.84	6.89	7.18	7.02	5.97	5.99	b)	6.15
	4週	6.69	6.81	6.97	6.95	5.55	6.49	b)	5.67 <sup>c)</sup>
Hb (g/dL)	投与前	14.7	15.5	16.7	16.5	16.2	16.6	15.6	17.3
	1週	16.0	17.2	17.2	17.9	16.8	17.5	20.1*	18.4
	2週	15.0	16.5	16.5	16.9	15.4	14.8	17.9	16.3
	3週	15.5	16.2	16.2	16.0	13.8	13.3	b)	13.0
	4週	15.1	15.8	15.5	15.8	12.6	14.7	b)	11.5 <sup>c)</sup>
Ht (%)	投与前	42.6	44.7	48.8	48.1	47.4	48.1	45.2	50.8*
	1週	47.3	50.9	50.6	52.8	49.1	50.9	56.7*	52.5
	2週	44.0	48.7	48.1	49.9	45.1	43.3	50.7	46.5
	3週	46.3	47.7	48.0	47.7	40.1	39.8	b)	38.0
	4週	45.2	47.0	46.1	46.7	36.7	42.2	b)	33.9 <sup>c)</sup>
MCV (fL)	2週	67.3	69.2	67.1	68.4	68.2	65.9	64.5	62.0*
	4週	67.4	69.0	66.1	67.2	66.1	65.0*	b)	59.8 <sup>c)</sup>
MCH (pg)	2週	23.0	23.5	23.0	23.2	23.3	22.5	22.8	21.6
	4週	22.6	23.2	22.3	22.7	22.9	22.6	b)	20.3 <sup>c)</sup>
MCHC (%)	2週	34.2	33.9	34.3	33.8	34.2	34.2	35.3*	34.9
	4週	33.6	33.6	33.8	33.8	34.6	34.8	b)	34.0 <sup>c)</sup>
網赤血球 (%赤血球)	2週	0.3	0.5	0.3	0.8	0.0	0.2	0.0	0.0
	4週	0.7	0.5	0.6	0.6	0.4	0.5	b)	0.2 <sup>c)</sup>
白血球 ( $10^3/\mu\text{L}$ )	2週	11.0	12.2	9.5	7.8	8.0	9.8	3.3*	6.9
	3週	11.7	10.2	9.1	8.4	7.4*	11.6	b)	4.4
	4週	10.4	9.3	9.1	8.0	9.1	10.7	b)	7.9 <sup>c)</sup>
平均赤血球時間 (sec)	2週	7.3	7.3	7.2	9.0	6.6	7.1	7.3	6.6
	4週	7.6	7.6	7.6	9.2	6.8*	7.3	b)	6.7 <sup>c)</sup>

- : 特記すべき異常なし . : 減少 .

\*:  $p < 0.05$  (血液学的検査 : Scheffe's multiple pairwise comparison 又は Modification of Tukey's WSD test)

a) : 赤血球, Hb, Ht 及び白血球以外は投与 2 及び 4 週目のみ記載した .

b) : 全例死亡したため測定できなかった .

c) :  $n=1$

表二 - 7 イヌ 28 日間強制経口投与毒性試験 (その 2)

投与量 (mg/kg)		0 (媒体)		15		30		60	
性									
血液化学的検査 <sup>a)</sup>									
総蛋白	2週	5.9	6.0	5.7	5.5	5.4	5.2	6.3	5.1
(g/dL)	4週	5.8	6.1	5.4	5.7	4.9*	5.5	b)	5.0 <sup>c)</sup>
アルブミン	2週	3.1	3.1	3.1	3.2	2.8	2.9	3.3	2.9
(g/dL)	4週	3.1	3.2	3.0	3.2	2.4*	3.0	b)	2.7 <sup>c)</sup>
グロブリン	2週	2.8	2.9	2.6	2.4	2.6	2.3	3.0	2.1
(g/dL)	4週	2.7	2.8	2.4	2.5	2.5	2.5	b)	2.3 <sup>c)</sup>
CPK	2週	70	53	71	57	51	51	32	26
(IU/L)	4週	74	57	66	74	58	48	b)	91 <sup>c)</sup>
BUN	2週	15.3	11.7	13.7	13.0	16.0	14.0	59.0*	14.5
(mg/dL)	4週	12.3	14.3	10.3	11.0	15.7	15.7	b)	22.0 <sup>c)</sup>
総コレステロール	2週	151	144	164	150	157	162	223	231
(mg/dL)	4週	149	165	173	171	188	184	b)	247 <sup>c)</sup>
トリグリセリド	2週	45.3	36.3	50.0	43.3	41.3	44.3	55.0	55.0
(mg/dL)	4週	35.7	35.7	43.0	38.0	48.7	43.0	b)	86.0 <sup>c)</sup>
グルコース	2週	103	99	102	108	90	100	129	113
(mg/dL)	4週	103	108	111	95	99	103	b)	112 <sup>c)</sup>
ハプトグロビン	2週	255	239	243	218	392	240	882*	488*
(mg/dL)	4週	208	217	216	252	573*	396	b)	896 <sup>c)</sup>
2-グロブリン	2週	9.93	9.83	10.37	8.63	12.33	8.97	19.80*	14.00*
(%)	4週	8.63	10.10	8.27	10.00	15.47*	11.17	b)	21.00 <sup>c)</sup>
ALP	2週	33	32	40	38	31	33	46	37
(IU/L)	4週	32	35	37	38	25	33	b)	71 <sup>c)</sup>
AST	2週	24	22	23	16	18	18	21	21
(IU/L)	4週	25	20	22	18	17	22	b)	35 <sup>c)</sup>
総ビリルビン	2週	0.21	0.21	0.26	0.22	0.23	0.23	0.53*	0.35
(mg/dL)	4週	0.24	0.28	0.24	0.27	0.23	0.31	b)	0.47 <sup>c)</sup>
Na	2週	148	147	148	147	149	148	131*	139
(mmol/L)	4週	144	150	146	147	145	146	b)	153 <sup>c)</sup>
Cl	2週	109	108	109	110	113	113	83*	100
(mEq/L)	4週	109	111	110	106	110	106	b)	109 <sup>c)</sup>
尿検査									
						潜血, 黄色色素	潜血, 黄色色素	潜血, 黄色色素	潜血, 黄色色素
臓器重量									
副腎	(g)	0.7560	0.9433	0.8940	0.9933	1.0210	1.0433	b)	1.2700 <sup>c)</sup>
(体重比%)		0.0088	0.0128	0.0107	0.0144	0.0170*	0.0169		0.0282 <sup>c)</sup>
甲状腺	(g)	0.9710	0.7233	0.7700	0.7167	0.6227*	0.6233	b)	0.5300 <sup>c)</sup>
(体重比%)		0.0113	0.0098	0.0092	0.0104	0.0106	0.0100		0.0118 <sup>c)</sup>
心臓	(g)	76.400	62.333	73.000	59.133	57.633*	60.800	b)	46.400 <sup>c)</sup>
(体重比%)		0.890	0.838	0.876	0.859	0.973	0.976*		1.031 <sup>c)</sup>
脳	(g)	72.9667	71.0000	80.0333	68.4000	74.2333	69.9333	b)	62.3000 <sup>c)</sup>
(体重比%)		0.8518	0.9659	0.9645	0.9941	1.2564*	1.1269		1.3844 <sup>c)</sup>
脾臓	(g)	20.413	17.667	21.880	17.333	15.677	19.867	b)	10.200 <sup>c)</sup>
(体重比%)		0.237	0.239	0.259	0.253	0.265	0.317*		0.227 <sup>c)</sup>

- : 特記すべき異常なし .

\*: p<0.05 (血液化学的検査, 臓器重量: Scheffe's multiple pairwise comparison又はModification of Tukey's WSD test)

a): 投与 2 及び 4 週目のみ記載した .

b): 全例死亡したため測定できなかった .

c): n=1

表二 - 7 イヌ 28 日間強制経口投与毒性試験 (その 3)

投与量 (mg/kg)	0 (媒体)		15		30		60	
性								
剖検	(3) <sup>a)</sup>	(3)	(3)	(3)	(3)	(3)	(3)	(3)
口腔：粘膜潰瘍/変色	0	0	0	0	2	2	1	2
食道：胆汁による着色	0	0	0	0	1	0	0	0
胃：粘膜の黄色化，赤色化/胆汁	0	0	0	0	1	1	3	1
小腸：ルーター様陥没/褪色	0	1	1	2	1	3	3	2
盲腸：赤色巣	0	0	0	0	0	0	2	0
胆嚢：暗色 / 濃厚な胆汁	0	0	0	0	0	0	1	3
胸腺：萎縮	0	0	0	0	2	2	1	1
胸部・前肢：潰瘍	0	0	0	0	0	0	0	1
陰嚢部皮膚：壊死	0		0		2		0	
病理組織学的検査	(3) <sup>a)</sup>	(3)	(3)	(3)	(3)	(3)	(3)	(3)
胃：								
胃低部壁細胞空胞化	0	0	0	0	2	1	0	2
粘液分泌増加	0	0	0	0	0	0	2	0
十二指腸：								
腸炎	0	0	3	3	3	3	3	3
空腸：								
腸炎	0	0	2	3	2	2	3	3
回腸：								
腸炎	0	0	1	3	2	2	3	3
盲腸：								
腸炎	0	0	0	0	2	1	3	3
結腸：								
腸炎	0	0	0	0	3	1	3	3
肝臓：								
クッパー細胞顆粒状褐色色素	0	0	0	1	1	1	2	2
脾臓：								
顆粒状褐色色素	0	0	0	0	3	1	1	3
リンパ組織壊死	0	0	0	0	0	0	1	0
副腎：								
束状帯空胞減少	0	0	0	0	0	0	3	2
骨髓：								
低形成	0	0	0	0	2	1	3	3
胸腺：								
リンパ球減少	0	0	0	0	3	2	3	3
扁桃：								
リンパ球減少	0	0	0	0	0	0	2	1
限局性壊死	1	1	1	1	0	1	2	2
陰窩の化膿性浸出物	0	1	1	1	0	1	1	2
前肩甲骨リンパ節：								
リンパ球減少	0	0	0	0	0	0	3	0
脾臓：								
限局性化膿性肺炎	0	0	0	0	0	1	0	0
限局性慢性肺炎	0	0	0	0	0	0	0	1
限局性壊死	0	0	0	0	0	0	1	0
脂肪壊死	0	0	0	0	0	0	0	1
精巣：								
多核融合細胞	0		0		1		1	
舌：								
小肉芽腫	2	2	0	0	2	1	1	0
舌炎	0	0	0	0	1	0	0	1

a) : 検査動物数

表二 - 7 イヌ 28 日間強制経口投与毒性試験 (その 4)

投与量 (mg/kg)	0 (媒体)		15		30		60	
性								
病理組織学的検査 (続き)	(3) <sup>a)</sup>	(3)	(3)	(3)	(3)	(3)	(3)	(3)
歯肉： 潰瘍	0	0	0	0	2	2	1	1
陰囊： 潰瘍	0		0		2		0	
皮膚： 胸部及び脚部に潰瘍	0	0	0	0	0	0	0	1
無毒性量	<15 mg/kg							

a) : 検査動物数

## (6) イヌ 30 日間強制経口投与毒性試験

ビーグル（1 群雌雄各 3 匹）にリバビリンの 5, 10, 20 及び 40 mg/kg を 30 日間強制経口投与し、亜急性毒性を検討した。

### 1) 投与量設定根拠

イヌ 28 日間強制経口投与試験（15, 30, 60 mg/kg, 本資料概要 202 頁）では、15 mg/kg 以上の投与群で消化管への影響、30 mg/kg 以上の投与群で体重減少、赤血球系パラメータの減少等の変化がみられ、60 mg/kg 群では 6 例中 5 例が死亡又は切迫屠殺されたため、本試験の最高用量は 40 mg/kg とし、以下、公比 2 で 20, 10 及び 5 mg/kg を設定した。

### 2) 試験成績

結果は表二 - 8 に示した。

#### ① 一般状態、体重及び摂餌量

5 mg/kg 以上の投与群の雌では、対照群に比べて軟便の発生頻度がわずかに増加し、10 mg/kg 群の雌雄では嘔吐（1 ~ 4 回）が観察された。20 mg/kg 群では雌雄で軟便発生頻度の増加がみられ、雌雄各 2 例では体重増加抑制又は体重減少、摂餌量の減少がみられた。40 mg/kg 群では著しい食欲不振とそれに伴う体重減少が認められたため、投与 10 日目に雌雄全例が切迫屠殺された。同群では暗色便、軟便又は液状便もみられ、多くは血液及び粘液を含んでいた。また、嘔吐は雄 2 例では散発的、雌 1 例では高頻度に観察された。なお、雄では、屠殺前 2 ~ 4 日間に運動抑制、2 日前（投与 8 日目）に 1 例で腹臥位が認められた。

#### ② 心電図検査

40 mg/kg 群の雄 2 例で切迫屠殺前に心拍数の増加がみられた。

#### ③ 血液学的検査

投与 14 及び 29 日目に 20 mg/kg 群で赤血球数、Hb 及び Ht の減少がみられ、投与 29 日目には 10 mg/kg 群の雌でも同様な変化が認められた。40 mg/kg 群の雄 2 例及び雌 1 例では、投与 9 日目に投与前値に比べて赤血球数、Hb 及び Ht の増加が認められた。

#### ④ 血液化学的検査

40 mg/kg 群に BUN 及び総ビリルビンの増加がみられた。同群では、多数例（主として雄）で電解質のわずかな減少もみられたが、本薬の直接的な影響か又は屠殺前の状態悪化による影響なのかは明らかではなかった。他に 20 mg/kg 群の雄及び 5 mg/kg 以上の投与群の雌に総蛋白の減少、5 mg/kg 以上の投与群の雌にアルブミンの減少がみられたが、わずかな程度であり、他に関連した変化がみられないため毒性的な意味は不明であった。

⑤臓器重量及び剖検

10 mg/kg 以上の投与群に副腎重量の増加及び胸腺重量の減少がみられた。  
剖検では、いずれの投与群でも異常はみられなかった。

⑥病理組織学的検査

20 mg/kg 群の雌 1 例及び 40 mg/kg 群の全例で極軽度ないし軽度の骨髄細胞の低形成、40 mg/kg 群では明らかな赤芽球系細胞の減少が認められた。また、20 mg/kg 群の雄 1 例及び 40 mg/kg 群の全例で脾リンパ組織の萎縮、40 mg/kg 群の雄 3 例及び雌 2 例でパイエル板のリンパ組織の萎縮がみられた。

⑦骨髄検査

20 mg/kg 群で赤芽球系細胞比率の上昇がみられたが、40 mg/kg 群では赤芽球系細胞比率の低下及び M/E 比の増加が認められた。

3) 試験成績のまとめ

ビーグルにリバピリンの 5, 10, 20 及び 40 mg/kg を 30 日間強制経口投与した。その結果、5 mg/kg 群では雌で軟便発生頻度がわずかに増加した。10 mg/kg 以上の投与群では、雌雄で嘔吐、雌で軟便及び貧血がみられた。20 mg/kg 群では、雌雄で軟便、体重減少、摂餌量減少及び貧血がみられ、骨髄細胞の低形成及び脾リンパ組織の萎縮がみられる例もあった。40 mg/kg 群では、著しい摂餌量減少及び体重減少がみられたため、投与 10 日目に全例が切迫屠殺された。

以上、血液学的検査及び病理学的検査の結果に基づいた無毒性量は 5 mg/kg と判断した。

表二 - 8 イヌ 30 日間強制経口投与毒性試験 ( その 1 )

動物種,月齢,体重	ビーグル, 5ヵ月齢, 7.4~11.2 kg, 6.3~9.2 kg										
投与方法	本薬を注射用水に溶解して, 30~31日間強制経口投与した.										
投与量 (mg/kg)	0 (注射用水)		5		10		20		40		
性											
動物数	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	
切迫屠殺数	0	0	0	0	0	0	0	0	3 <sup>a)</sup> (10日)	3 <sup>a)</sup> (10日)	
一般状態			軟便		嘔吐		軟便, 嘔吐		暗色便, 軟便, 液状便, 嘔吐, 運動抑制, 腹臥位		
体重											
摂餌量											
心電図検査 心拍数											
血液学的検査 <sup>b)</sup>											
赤血球 (10 <sup>6</sup> /mm <sup>3</sup> )	1日	5.27	5.61	5.37	5.38	5.43	5.95	5.34	5.78	5.75	5.56
	14日	5.60	6.09	5.58	5.76	5.64	6.02	5.37	5.51	6.89 <sup>c)</sup>	6.10 <sup>c)</sup>
	29日	5.30	6.10	5.39	5.77	5.66	5.60	4.93	5.31*	d)	d)
Hb (g/dL)	1日	11.6	12.5	11.8	12.3	12.4	13.3	11.2	12.8	12.7	12.8
	14日	12.4	13.8	12.3	13.2	12.7	13.7	11.3	12.5	15.6 <sup>c)</sup>	14.1 <sup>c)</sup>
	29日	11.6	13.6	12.0	13.2	12.7	12.7	10.5	12.0*	d)	d)
Ht (%)	1日	34.6	37.3	35.1	36.6	36.3	39.5	33.8	38.4	37.9	37.5
	14日	37.0	40.9	36.7	39.5	37.7	40.0	33.9	36.5**	45.2 <sup>c)</sup>	41.1 <sup>c)</sup>
	29日	35.4	41.7	36.1	40.2	38.0	37.3*	31.6	35.7**	d)	d)
血液化学的検査 <sup>b)</sup>											
総蛋白 (g/L)	14日	55	56	53	55	55	51	53	50	48 <sup>c)</sup>	49 <sup>c)</sup>
	29日	53	55	52	51*	55	50**	50	49**	d)	d)
アルブミン (g/L)	14日	31	34	33	32	31	32	31	31	29 <sup>c)</sup>	30 <sup>c)</sup>
	29日	31	35	34	33	32	32	31	32	d)	d)
BUN (g/L)	14日	0.24	0.22	0.24	0.22	0.17	0.22	0.23	0.22	0.43 <sup>c)</sup>	0.29 <sup>c)</sup>
	29日	0.24	0.25	0.24	0.21	0.19	0.22	0.23	0.21	d)	d)
総ビリルビン (mg/L)	14日	1.0	0.8	0.6	0.6	1.4	0.6	1.0	1.0	1.8 <sup>c)</sup>	1.4 <sup>c)</sup>
	29日	0.7	0.6	0.5	0.8	0.9	0.7	0.6	0.9	d)	d)
Pi (mg/L)	14日	73	67	71	69	68	66	63	65	71 <sup>c)</sup>	72 <sup>c)</sup>
	29日	72	67	70	66	66	66	64	65	d)	d)
Na (mEq/L)	14日	145	147	146	146	145	146	145	144	135 <sup>c)</sup>	142 <sup>c)</sup>
	29日	148	149	148	148	148	148	147	148	d)	d)
K (mEq/L)	14日	5.0	4.8	5.1	4.8	4.8	4.4	4.7	4.8	5.3 <sup>c)</sup>	5.0 <sup>c)</sup>
	29日	5.3	4.7	5.2	4.8	4.9	4.6	5.0	4.7	d)	d)
Cl (mEq/L)	14日	112	112	111	113	113	113	113	113	98 <sup>c)</sup>	108 <sup>c)</sup>
	29日	113	113	113	113	114	114	115	115	d)	d)
Ca (mg/L)	14日	111	114	110	109	109	111	108	106	98 <sup>c)</sup>	104 <sup>c)</sup>
	29日	112	114	112	110	112	110	110	110	d)	d)

- : 特記すべき異常なし. : 増加, : 減少.

\*:p<0.05, \*\*:p<0.01 (Dunnett's t test)

a): 著しい体重減少及び食欲不振が認められたため, 投与 10 日目に 40 mg/kg 群の全例を切迫屠殺した.

b): 赤血球, Hb, Ht 以外は投与 14 及び 29 日のみ記載した.

c): 投与 9 日目の値.

d): 全例が切迫屠殺されたため測定できなかった.

表二 - 8 イヌ 30 日間強制経口投与毒性試験 (その 2)

投与量 (mg/kg)	0 (注射用水)		5		10		20		40	
性										
臓器重量										
副腎 (g) (体重比%)	1.063 0.0109	0.991 0.0114	1.083 0.0104	1.015 0.0124	1.227 0.0121	1.083 0.0131	1.242 0.0132	1.178 0.0143	1.217 <sup>a)</sup> 0.0165 <sup>a)</sup>	1.026 <sup>a)</sup> 0.0167 <sup>a)</sup>
胸腺 (g) (体重比%)	19.018 0.1954	15.974 0.1819	20.820 0.2046	19.379 0.2291	15.401 0.1514	14.093 0.1704	9.442* 0.0984	13.633 0.1636	4.282 <sup>a)</sup> 0.0556 <sup>a)</sup>	4.257 <sup>a)</sup> 0.0635 <sup>a)</sup>
剖検										
病理組織学的検査	(3) <sup>b)</sup>	(3)	(3)	(3)	(3)	(3)	(3)	(3)	(3)	(3)
骨髄: 低形成 赤芽球系細胞減少	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	1 0	3 3	3 3
脾臓: リンパ組織萎縮	0	0	0	0	0	0	1	0	3	3
パイエル板: リンパ組織萎縮	0	0	0	0	0	0	0	0	3	2
骨髄検査 赤芽球系細胞比率 M/E比										
無毒性量	5 mg/kg									

- : 特記すべき異常なし . : 増加 , : 減少 .

\*: p<0.05 (Dunnett's t test)

a) : 屠殺時の値のため統計学的検討は実施しなかった .

b) : 検査動物数

## (7) イヌ 52 週間強制経口投与毒性試験

ビーグルにリバビリンの 5, 10 及び 20 mg/kg を 52 週間強制経口投与し, 慢性毒性を検討した。動物数は 1 群雌雄 8 匹とし, 中間検査のため 26 週間投与後に 1 群雌雄各 4 匹を屠殺した (26 週間投与群)。残りの各群雌雄各 4 匹は 52 週間投与した (52 週間投与群)。

### 1) 投与量設定根拠

イヌ 30 日間強制経口投与試験 (5, 10, 20, 40 mg/kg, 本資料概要 208 頁) では, 40 mg/kg 投与群で全身状態悪化のため投与 10 日目に全例が切迫屠殺された。20 mg/kg 群で明らかな毒性 (消化管への影響, 摂餌量及び体重減少, 赤血球系パラメータの減少, 骨髄細胞低形成等) がみられたことから, 最高用量を 20 mg/kg とし, 以下公比 2 で 10 及び 5 mg/kg を設定した。

### 2) 試験成績

結果は表二 - 9 に示した。

#### ① 一般状態, 体重及び摂餌量

10 及び 20 mg/kg 群の雄各 1 例が投与 49 週目及び投与 10 週目に死亡した。いずれの例でも病理組織学的検査で気管支肺炎, 肺泡出血, 胸膜炎又は食道炎がみられ, 20 mg/kg 群の雄は誤投与, 10 mg/kg 群の雄は胸膜炎によるもので, 本薬投与によるものではないと判断された。

生存例では, 10 mg/kg 以上の投与群で水様下痢の発生頻度が対照群に比べてわずかに増加し, 20 mg/kg 群の雄では暗色又は血液の混入した下痢もみられたが, これらの変化は投与 26 週目以降に減弱した。20 mg/kg 群では体重増加抑制及び摂餌量の減少がみられた。

#### ② 眼科学的検査及び心電図検査

異常はみられなかった。

#### ③ 血液学的検査

投与 2 週目から 10 及び 20 mg/kg 群の雄で対照群に比べて赤血球数, Hb 及び Ht の減少がみられ, その後対照群との差は大きくなる傾向を示した。投与 5 週目からは 20 mg/kg 群の雌, 投与 18 週目からは 10 mg/kg 群の雌でも同様な変化がみられた。雌では一定した変化が投与 52 週目まで継続して認められたのに対し, 雄では最後の 2 ヶ月間に減弱する傾向を示した。10 mg/kg 以上の投与群の雌雄では, MCH 及び MCHC の減少も認められた。5 mg/kg 群では雌のみに投与 52 週目の赤血球系パラメータの変化がみられたが, 個体値はいずれも背景データの範囲内であり, 異常を示すものではないと判断された。その他, 20 mg/kg 群では投与初期にわずかな APTT の延長がみられたが, その後は認められなかった。

#### ④ 血液化学的検査

20 mg/kg 群のみに Ca 及びグルコースの減少がみられ，雄ではコレステロールの減少を伴う場合もあった．グルコースの変化は，特に雌では投与期間の延長に伴って減弱した．同群の雌では，他に AST の増加（投与 26 ~ 45 週）及びアルブミンの減少も認められた．

#### ⑤ 臓器重量，剖検，病理組織学的検査及び骨髄検査

臓器重量，剖検，病理組織学的検査及び骨髄検査では，26 週間投与群及び 52 週間投与群とも本薬投与に関連した変化はみられなかった．

#### ⑥ 血漿中リバビリン濃度

血漿中リバビリン濃度から，用量依存的に暴露されていることが確認された．

### 3) 試験成績のまとめ

ビーグルにリバビリンの 5，10 及び 20 mg/kg を 52 週間強制経口投与した．その結果，10 mg/kg 以上の投与群で本薬投与に関連した下痢及び貧血がみられ，20 mg/kg 群では摂餌量減少及び体重増加抑制がみられた．貧血は，雌では投与期間を通じて認められたが，雄では最後の 2 ヶ月間に減弱する傾向がみられた．病理組織学的検査ではいずれの投与群にも異常はみられなかった．

以上，5 mg/kg 群では本薬投与に関連した変化がみられなかったこと及び他に病理組織学的変化を含め異常はみられなかったことから，本試験の無毒性量は 5 mg/kg と判断した．

表二 - 9 イヌ 52 週間強制経口投与毒性試験 (その 1)

動物種, 月齢, 体重		ビーグル, 4ヵ月齢, 6.1~8.9 kg, 5.0~8.2 kg							
投与方法		本薬を注射用水に溶解して, 26 週間 (26週間投与群) 又は 52 週間 (52週間投与群) 強制経口投与した.							
投与量 (mg/kg)		0 (注射用水)		5		10		20	
性									
動物数		4 + 4 <sup>a)</sup> 4 + 4 <sup>a)</sup>		4 + 4 <sup>a)</sup> 4 + 4 <sup>a)</sup>		4 + 4 <sup>a)</sup> 4 + 4 <sup>a)</sup>		4 + 4 <sup>a)</sup> 4 + 4 <sup>a)</sup>	
死亡・切迫屠殺数		0 0		0 0		1 <sup>b)</sup> 0 (49週)		1 <sup>b)</sup> 0 (10週)	
一般状態						水様下痢 水様下痢		水様下痢 水様下痢 (時に暗色/ 血液混入)	
体重 (kg)		183日 13.0 12.2 365日 14.3 15.0		12.0 11.4 12.2* 12.6		11.7 10.9 12.7 12.0		10.9** 8.7*** 12.4* 10.0*	
摂餌量									
眼科学的検査									
心電図検査									
血液学的検査									
赤血球 (10 <sup>6</sup> /mm <sup>3</sup> )		投与前 5.90 5.95		6.09 6.08		5.58 5.87		5.71 5.96	
		1週 5.84 5.85		5.87 5.92		5.42 5.76		5.52 5.78	
		2週 5.87 5.90		5.84 5.76		5.43* 5.62		5.52* 5.65	
		3週 5.84 5.84		5.96 5.80		5.43 5.62		5.61 5.46	
		4週 5.85 5.82		5.84 5.56		5.35** 5.63		5.37** 5.43	
		5週 5.86 6.01		5.86 5.86		5.40* 5.65		5.39* 5.39*	
		6週 5.94 5.91		6.02 5.85		5.43* 5.76		5.34* 5.32*	
		8週 6.04 6.02		6.11 6.22		5.61 6.14		5.51* 5.55	
		13週 6.54 6.54		6.64 6.57		6.19 6.60		5.84* 5.96	
		18週 6.85 6.89		6.97 6.99		6.50 6.82		6.36 6.15*	
		22週 6.76 6.91		6.80 6.95		6.32 6.71		6.15 6.01*	
		26週 6.68 6.84		7.05 6.93		6.46 6.69		6.02 6.24	
		30週 6.69 6.42		7.13 6.59		6.59 6.64		6.32 6.06	
		34週 6.76 6.21		6.96 6.45		6.62 6.75		6.21 5.78	
		39週 6.72 6.28		6.99 6.52		6.59 6.79		6.27 5.66	
		45週 6.78 6.53		6.74 6.64		6.44 7.10		6.11 5.77	
		48週 6.49 6.66		6.70 6.47		6.09 7.13		6.15 5.84	
		52週 6.64 6.62		6.83 6.01*		6.24 6.94		6.28 5.38***	
Hb (g/dL)		投与前 13.4 13.4		13.7 14.2		12.9 13.4		13.0 13.5	
		1週 13.1 13.3		13.3 13.7		12.6 13.2		12.7 13.2	
		2週 13.3 13.5		13.3 13.3		12.4* 12.8		12.6 12.8	
		3週 13.4 13.4		13.5 13.5		12.5* 12.8		12.8 12.5	
		4週 13.4 13.3		13.3 13.1		12.3*** 12.8		12.3*** 12.2	
		5週 13.3 13.8		13.2 13.5		12.2** 12.7*		12.1** 12.0***	
		6週 13.5 13.7		13.6 13.6		12.2** 12.8		12.1** 11.8***	
		8週 14.1 14.1		14.0 14.6		12.8** 13.9		12.4** 12.5**	
		13週 15.0 15.2		14.9 15.1		13.6** 14.3		12.8*** 13.0***	
		18週 15.9 16.3		15.7 16.0		14.3** 14.9*		13.9*** 13.3***	
		22週 15.6 16.3		15.2 16.0		14.0** 14.8*		13.6*** 13.0***	
		26週 15.6 16.1		16.0 15.9		14.3* 14.6		13.0*** 13.6**	
		30週 15.7 15.1		16.2 15.2		14.6 14.4		13.8 13.5	
		34週 16.1 14.7		16.0 14.8		14.6 14.8		13.6* 12.9*	
		39週 16.1 15.3		16.3 15.3		14.6 15.2		13.9* 12.8*	
		45週 16.2 15.8		15.5 15.3		14.1 15.7		13.4** 12.7**	
		48週 15.4 16.0		15.4 14.8		13.5 15.6		13.6 13.0**	
		52週 15.9 15.9		15.8 13.8**		14.0 15.1		13.8 11.9***	

- : 特記すべき異常なし . : 減少 .

\*: p<0.05, \*\*: p<0.01, \*\*\*: p<0.001 (臨床検査値: Dunnett's t test又はWilcoxon rank sum test)

a): 26週投与後に1群雌雄各4例を屠殺し, 残りの1群雌雄各4例は52週間投与した.

b): 20 mg/kg 群の雄は誤投与, 10 mg/kg 群の雄は胸膜炎によるもので, 本薬投与によるものではないと判断された.

表二 - 9 イヌ 52 週間強制経口投与毒性試験 (その 2)

投与量 (mg/kg)	0 (注射用水)		5		10		20		
性									
血液学的検査 <sup>a)</sup> (続き)									
Ht (%)	投与前	37.9	38.6	39.2	39.9	36.9	38.1	37.4	38.9
	1週	37.7	38.0	37.9	39.0	35.9	37.4	36.1	37.6
	2週	37.8	38.2	37.4	37.8	35.5*	36.1	35.8	36.5
	3週	37.9	37.8	38.5	38.3	35.4	36.1	36.3	35.2
	4週	38.0	37.9	37.6	36.5	34.8***	36.0	34.6***	34.9
	5週	38.1	39.1	37.6	38.5	34.9**	35.9*	34.6**	34.6**
	6週	38.7	38.6	38.7	38.3	35.0**	36.5	34.4**	34.0**
	8週	39.3	39.2	39.0	40.6	35.9**	38.5	35.1**	35.4**
	13週	42.5	42.3	41.7	42.3	38.8**	40.6	36.6***	37.4**
	18週	44.4	44.7	43.6	44.5	40.3**	41.7	39.5***	38.3***
	22週	44.3	45.4	42.9	44.7	39.6**	41.5	38.6***	37.5***
	26週	44.3	45.3	45.1	45.2	41.1	41.9	38.0***	39.6**
	30週	44.7	42.7	46.2	43.0	41.6	41.4	40.4	39.5
	34週	45.9	42.2	45.5	42.8	42.5	42.8	40.1*	38.1
	39週	45.3	42.6	45.5	43.1	41.8	43.0	40.1*	37.0
	45週	45.8	44.5	44.1	43.5	40.9	44.6	39.1*	37.7*
	48週	43.7	44.9	43.7	42.0	38.4	44.6	39.4	38.0*
	52週	44.5	44.7	44.3	38.7**	39.5	43.5	40.0	34.7***
MCH (pg)	26週	23.4	23.6	22.7	23.0	22.1**	21.8***	21.6***	21.9**
	52週	23.8	24.0	23.1	23.0	22.5	21.7**	21.9*	22.2*
MCHC (g/dL)	26週	35.3	35.4	35.4	35.2	34.7	34.8	34.2**	34.4**
	52週	35.6	35.5	35.6	35.8	35.5	34.7	34.4	34.3
APTT (sec)	4週	11.8	12.5	11.9	12.2	12.1	12.2	12.8*	13.5*
	26週	11.4	12.3	11.7	12.0	11.8	12.1	12.5**	13.0
	52週	11.6	12.4	11.8	11.8	11.5	11.1	12.0	11.9
血液化学的検査 <sup>a)</sup>									
AST (IU/L)	26週	45	40	49	44	57	41	57	53**
	52週	42	36	45	29	58	35	59	42
グルコース (g/L)	26週	1.11	1.10	1.06	1.14	1.02	1.04	1.01	0.96***
	52週	1.11	1.10	1.08	1.12	1.07	1.12	1.01	1.07
アルブミン (g/L)	26週	34	35	35	37	35	34	33	32*
	52週	35	36	35	36	34	34	33	31*
コレステロール (g/L)	26週	1.47	1.44	1.46	1.36	1.28	1.49	1.02**	1.30
	52週	1.45	1.67	1.24	1.88	1.21	1.36	1.04	1.54
Ca (mg/L)	26週	115	115	116	115	113	112	109*	108**
	52週	108	110	106	109	106	109	105	102**
臓器重量	26週間投与群								
	52週間投与群								
剖検	26週間投与群								
	52週間投与群								
病理組織学的検査	26週間投与群								
	52週間投与群								
骨髓検査	26週間投与群								
	52週間投与群								
血漿中リバビリン濃度 <sup>b)</sup> (μmol)	52週 C <sub>1h</sub>	0	0	6.93	5.88	11.03	10.18	25.23	24.40
無毒性量	5 mg/kg								

- : 特記すべき異常なし.

\*: p<0.05, \*\*: p<0.01, \*\*\*: p<0.001 (Dunnett's t test又はWilcoxon rank sum test)

a): 赤血球, Hb 及び Ht 以外のパラメータは, 主に投与 26 週及び 52 週のみ記載した.

b): RIA法. 開発初期に実施され, バリデーションが十分でないため, 最終投与時のみを参考値として表示した.

(8) イヌ 28 日間強制経口投与 TK 試験

先のイヌ 52 週間強制経口投与試験と同用量 (5, 10 及び 20 mg/kg) を 28 日間強制経口投与した場合の TK 試験の成績を表二 - 10 に示した。

いずれの群でもリバビリンによる暴露が確認された。Cmax 及び AUC は用量依存的に増加し、10 及び 20 mg/kg 群では雌に比べて雄でわずかに高値を示した。血漿中リバビリン濃度は投与 1 日目に比べて投与 28 日目で高値を示したが、Cmin から投与 7 日目までに定常状態に達していると考えられた。

表二 - 10 イヌ 28 日間強制経口投与における血漿中薬物濃度

動物種, 月齢, 体重	ビーグル, 約 4 ヶ月齢, 6.1 ~ 7.9 kg, 5.5 ~ 6.5 kg									
投与方法	本薬を滅菌水に溶解し, 28 日間強制経口投与した。									
投与量 (mg/kg)	5			10			20			
性	+			+			+			
血漿中リバビリン濃度 (LC-MS/MS法)										
Cmax (ng/mL)	1日	1190	1061	1126	2903	2110	2506	5213	4427	4820
	28日	1385	1110	1247	3238	2574	2858	6054	5612	5833
Cmin (ng/mL)	7日	70.5	101	85.5	162	157	159	476	567	521
	14日	72.7	97.5	85.1	161	126	144	476	480	478
	21日	72.0	95.1	83.5	163	134	149	485	517	501
Tmax (hr)	1日	0.500	0.750	0.625	0.500	0.625	0.563	0.500	0.625	0.563
	28日	0.500	0.500	0.500	0.500	0.750	0.643	0.500	0.750	0.625
AUC <sub>0-24hr</sub> (ng·hr/mL)	1日	5641	6176	5908	14186	11089	12637	25033	24585	24809
	28日	6848	7064	6956	17032	13307	14903	36870	33182	35026
累積係数		1.21	1.14	1.18	1.21	1.20	1.20	1.50	1.35	1.43

定量下限: 50 ng/mL

平均値 (n=3~4 匹/性/群)

採血時間: 投与 1 及び 28 日目の投与 0, 0.5, 1, 1.5, 2, 4, 6, 8, 12, 24時間及び投与 7, 14, 21 日目の投与 0 時間

## (9) カニクイザル 1 ヶ月間併用（リバビリン+ IFN -2b）投与毒性試験

カニクイザル（1 群雌雄各 3 又は 5 匹）にリバビリンを強制経口で、インターフェロン -2b（以下、IFN -2b）を皮下で 1 ヶ月間併用投与し、各薬物の単独投与の毒性と比較検討した。また、最終投与終了後 1 ヶ月間休薬し、回復性について検討した。

### 1) 動物種の選択

本試験はカニクイザルを用いて検討した。動物種の選択にあたり、IFN -2b の種特異性、即ち、IFN -2b はサルで生物活性を示すが、げっ歯類やイヌ等では認められないこと、及びリバビリンのカニクイザル 2 週間強制経口投与予備試験<sup>1)</sup>で毒性が確認されていることを考慮し、カニクイザルが本試験に最も適した動物種であると判断した。

### 2) 投与量設定根拠

本試験では、リバビリンと IFN -2b の毒性の相互作用を明らかにする目的で、いずれの投与群でも毒性が発現する投与量を選択した。

リバビリンの投与量は、カニクイザル 2 週間強制経口投与予備試験<sup>1)</sup>（1 群雌 6 匹、100 mg/kg を 1 日 1 回強制経口投与）の結果を参考にした。即ち、同試験では、赤血球数、Ht 及び Hb の減少（約 25 % 減少）、網赤血球比、MCV 及び MCH 及び血小板数の増加に加えて、散発的な摂餌量の減少、尿量の増加及び浸透圧の減少、クレアチンクリアランス、電解質（Na, K, Cl）及び Ca 排泄量の増加がみられたが、理学的検査、心電図、眼科学的検査、血液化学的検査、剖検、臓器重量及び病理組織学的検査では異常はみられなかった。従って、本試験ではリバビリンの高用量を 100 mg/kg、低用量をその半量の 50 mg/kg（いずれも 1 日 1 回、強制経口投与）とし、それぞれ IFN -2b の 3105  $\mu\text{g}/\text{m}^2$  と併用投与すると共に、比較対照群としてリバビリン 50 mg/kg の単独投与群を設定した。

一方、IFN -2b の投与量は、別途実施した、IFN -2b を比較対照としたカニクイザル 1 ヶ月間投与試験<sup>2)</sup>の結果を参考にした。即ち、同試験の IFN -2b 比較対照群（1 群雌雄各 3 匹、3105  $\mu\text{g}/\text{m}^2$  を 2 日に 1 回皮下投与）では、主として投与 2 週目から赤血球数、Hb 及び Ht の減少に加えて、網赤血球数増加、好中球数、リンパ球数及び血小板数の減少、総蛋白、アルブミン、グロブリン、トリグリセリド、K 及び Ca の減少、体重及び摂餌量の減少及び血圧低下がみられ、投与期間終了後の病理組織学的検査では投与部位の血管周囲炎及び骨髄増生がみられた。眼科学的検査、尿検査、臓器重量及び剖検では異常はみられなかった。従って、本試験の IFN -2b の投与量は、上記試験と同じ 3105  $\mu\text{g}/\text{m}^2$ （2 日に 1 回皮下投与）とし、リバビリンの高及び低用量と併用投与すると共に、比較対照群として IFN -2b の単独投与群を設定した。

### 3) 試験成績

群構成及び結果は表二 - 11 に示した。

#### ① 一般状態，体重及び摂餌量

高用量併用投与群（リバビリン：100 mg/kg + IFN -2b：3105  $\mu$ g/m<sup>2</sup>）では，投与5週目の剖検予定日の前日に雄1例（No. 24）及び雌1例（No. 30）が全身状態悪化のため切迫屠殺された。さらに同群では，休薬2週目に雌1例（No. 31）が死亡した。これらの動物では，投与1～2週目から死亡又は切迫屠殺されるまで摂餌量の減少がみられた他，投与期間中又は休薬期間中に下痢，軟便，脱水，自発運動低下，体温低下及び食欲不振による無便が認められた。さらに，貧血に加えて胃炎（No. 24），結腸炎（No. 30）及び急性化膿性肺炎（No. 31）等がみられており，全身状態悪化又は死亡に起因した変化と考えられた。

生存例では，低用量併用投与群（リバビリン：50 mg/kg + IFN -2b：3105  $\mu$ g/m<sup>2</sup>）及び高用量併用投与群で，投与2週目から下痢，食欲不振による排便減少又は無便，脱水及び体温低下が用量依存的にみられ，投与5週目には粘膜褪色，るい瘦及び自発運動低下もみられたが，休薬2週目までに回復した。また，併用投与群の多数例では体重減少（投与前値と比べて0.3 kg以上）がみられたが，休薬期間中には体重増加（0.2～0.4 kg）がみられ，回復性が認められた。体重減少は，リバビリン単独投与群の雌2例及びIFN -2b単独投与群の雌1例でも認められた。併用投与群の多数例及びリバビリン単独投与群の雌1例では，投与3日目から投与17日目まで摂餌量の減少が継続してみられたが，その後散発的となり，休薬期間中には異常はみられなかった。

#### ② 眼科学的検査及び理学的検査

投与4週目にIFN -2b単独投与群で収縮期血圧の低下及び体温低下，併用投与群で収縮期，拡張期及び平均血圧の低下，体温低下及び心拍数減少がみられた。併用投与群の変化は，休薬により回復性が認められた。

眼科学的検査，心電図及び呼吸数には異常はみられなかった。

#### ③ 血液学的検査

リバビリン及びIFN -2bの各単独投与群で軽度，併用投与群で中等度から高度の用量依存的な赤血球数，Ht及びHbの減少がみられた。併用投与群ではこれらの変化は投与1～2週目に明らかとなり，投与5週目には最も強く認められた。高用量併用投与群では，投与期間中の赤血球の再生反応は十分ではなかったが，休薬直後には網赤血球数の著しい増加がみられ，休薬4週目までに赤血球系パラメータの回復がみられた。いずれの投与群でもMCH及びMCHCに変化は認められなかった。併用投与群では投与5週目にMCVの増加がみられ，投与期間中に赤血球形態異常が認められた。高用量併用投与群では休薬2週目に多染性赤血球がみ

られ、網赤血球数の増加を反映したものと考えられた。その他、併用投与群では投与3週目からリンパ球数の減少がみられたが、その後さらに減少することなく、休薬4週目までに回復した。また、併用投与群及びIFN-2b単独投与群では投与1週目から好中球数の軽度な減少がみられ、IFN-2bの作用と考えられたが、休薬期間中に回復した。

#### ④ 骨髄検査

死亡又は切迫屠殺された例では、貧血に対する骨髄の反応はみられなかった。生存例では、併用投与群の雄で赤芽球系細胞の低形成及びM/E比の増加がみられたが、雌では各骨髄細胞が維持されていた。休薬により十分な赤芽球系前駆細胞が認められ、回復性を示した。併用投与群でみられた貧血は、脾臓及び肝臓で鉄沈着の増加がみられていることから、血管外の赤血球破壊によると考えられるが、高用量併用投与群の雄では貧血に対する骨髄の十分な反応がみられないことから赤芽球系の造血抑制が示唆された。

#### ⑤ 血液化学的検査

IFN-2b単独投与群及び併用投与群では総蛋白、アルブミン及びCaの減少がみられた。これらの変化は併用投与群では投与3～4週目により強くみられたが、休薬4週目にはほぼ又は完全に回復した。これらの群ではPiのわずかな減少もみられたが、休薬後には回復傾向（雄）を示すか回復（雌）した。併用投与群では投与2週目からグロブリンの減少がみられたが、休薬により回復した。

#### ⑥ 尿検査

投与2週目に併用投与群で一過性の尿pHの低下及びケトン体の増加がみられたが、投与4週目には回復又は回復傾向を示した。尿pHの低下はケトン体の増加に関連し、ケトン体の増加は摂餌量の減少に起因する炭水化物の不足及び糖新生の亢進によると考えられた。

#### ⑦ 臓器重量、剖検及び病理組織学的検査

リバビリン又はIFN-2bの単独投与群及び併用投与群で胸腺の萎縮、併用投与群で胸腺重量の減少がみられた。IFN-2b単独投与群及び併用投与群ではリンパ系組織の萎縮、副腎皮質の脂肪減少、骨髄細胞の増生又は低形成、投与部位皮下の血管周囲炎及び真皮の炎症、高用量併用投与群では骨髄の蒼白化がみられた。また、併用投与群では肝臓及び脾臓に赤血球の血管外溶血を示唆する鉄沈着の増加が認められた。休薬後には、胸腺の萎縮（雄1例）及び投与部位皮下のごく軽度の血管周囲炎を除き、被験物質投与に関連する異常はみられなかった。

#### ⑧ 血清中薬物濃度及びIFN-2b中和活性

血清中リバビリン濃度及びIFN-2b濃度は、いずれも単独投与群と併用投与群で同様な値を示し、性差は認められなかった。血清中リバビリン濃度は用量依存的に増加した。

IFN -2b 中和活性（抗体）は，投与期間終了後（投与 5 週目）に併用投与群及び IFN -2b 単独投与群の多数例又は全例で認められた．対照群でも血清中に IFN -2b 抗体がみられる例があったが，これらは細菌感染（*Branhamella catarhalis*）に起因するものと判断された．

#### 4) 試験成績のまとめ

カニクイザルにリバビリンの 50 又は 100 mg/kg（1 日 1 回，経口投与）と IFN -2b の 3105  $\mu\text{g}/\text{m}^2$ （2 日 1 回，皮下投与）を 1 ヶ月間併用投与した．その結果，併用投与による新たな毒性は認められなかった．リバビリン及び IFN -2b の各単独投与群で貧血がみられ，併用投与群では各単独投与群より強い貧血がみられたが，相加的作用によるものであった．高用量併用投与群（リバビリン：100 mg/kg + IFN -2b）では 3 例が高度の貧血を伴う全身状態悪化により死亡又は切迫屠殺された．休薬直後は網赤血球の増加がみられ，休薬期間中に貧血の回復性が認められた．併用投与時の主要な標的器官は血液，骨髓，リンパ系組織及び IFN -2b 注射部位であった．

#### 引用文献

- 1) Pilot oral dose-range finding toxicity and pharmacokinetic study of SCH 18908 in female cynomolgus monkeys. Unpublished.
- 2) One-month subcutaneous toxicity study of in cynomolgus monkeys. Unpublished.

表二 - 11 カニクイザル 1 ヶ月間併用 (リバビリン + IFN -2b) 投与毒性試験 (その 1)

動物種, 年齢, 体重		カニクイザル, 若齢成熟, 2.4~5.2 kg, 2.3~3.8 kg										
投与方法		リバビリン: 滅菌水に溶解して, 1 ヶ月間 (1 日 1 回) 強制経口投与した。 IFN -2b: 注射用水に溶解して, 1 ヶ月間 (2 日に 1 回) 皮下投与した。										
投与量	リバビリン	0 (滅菌水)		0 (滅菌水)		50 mg/kg		50 mg/kg		100 mg/kg		
	IFN -2b	0 (注射用生理食塩液)		3105 µg/m <sup>2</sup>		0 (注射用生理食塩液)		3105 µg/m <sup>2</sup>		3105 µg/m <sup>2</sup>		
性												
動物数		3+2 <sup>a)</sup> 3+2 <sup>a)</sup>		3 3		3 3		3 3		3+2 <sup>a)</sup> 3+2 <sup>a)</sup>		
死亡・切迫屠殺例数		0 0		0 0		0 0		0 0		1 2 (5週) (5週, 休薬2週)		
一般状態		排便減少/無便, 脱水, 体温低下, 粘膜褪色, るい瘦 下痢, 軟便, 脱水, 自発運動低下, 排便減少/無便, 体温低下, るい瘦, 粘膜褪色										
体重												
摂餌量												
眼科学的検査												
理学的検査 <sup>b)</sup>												
血液学的検査												
赤血球 (10 <sup>6</sup> /mm <sup>3</sup> )	投与前	6.68	6.80	6.20	5.60	6.27	7.40	6.38	5.80	6.30	6.24	
	1週	6.06	5.62	5.33	5.17	5.80	6.33	5.33	5.07	5.68	5.28	
	2週	6.14	5.92	5.40	5.17	5.80	6.30	5.53	4.67	5.56	4.54	
	3週	5.90	5.52	5.07	4.70	5.17	5.47	4.23	3.87	4.52	3.48	
	4週	6.06	6.08	5.67	5.40	5.40	5.33	3.83	3.77	3.76	2.88	
	5週	6.00	5.56	5.40	4.80	4.93	4.70	3.40	3.57	2.74	2.53	
	休薬2週	6.40	6.15							2.90	2.30	
	休薬4週	6.80	6.45							5.15	4.60	
	Hb (g/dL)	投与前	12.82	13.00	12.97	11.30	12.73	13.73	12.85	11.25	12.56	12.72
		1週	11.70	10.64	10.97	10.43	11.77	11.73	10.67	9.53	11.26	10.66
		2週	12.02	11.38	11.17	10.40	11.87	11.87	10.93	8.83	10.80	9.08
		3週	11.40	10.46	10.40	9.37	10.60	10.33	8.43	7.37	8.74	6.84
		4週	11.66	11.56	11.80	10.90	11.13	10.20	7.80	7.43	7.26	5.72
		5週	11.46	10.66	11.30	9.73	10.20	9.05	7.13	7.20	5.28	5.20
休薬2週		12.75	11.85							6.40	5.20	
休薬4週		13.35	12.40							11.10	10.30	
Ht (%)	投与前	40.8	41.2	40.0	36.0	39.7	43.7	40.3	35.8	39.2	39.6	
	1週	37.0	34.0	34.3	32.7	36.3	37.3	33.3	30.7	35.0	33.4	
	2週	37.4	36.2	34.7	32.7	37.0	37.7	35.0	28.3	34.2	28.4	
	3週	36.2	33.6	33.0	30.0	33.3	33.3	26.7	23.7	27.8	21.8	
	4週	37.2	37.6	37.3	35.0	35.3	33.3	24.7	24.7	23.2	18.4	
	5週	37.2	34.2	36.0	31.3	32.3	30.0	23.0	24.3	16.8	17.0	
	休薬2週	40.0	38.0							20.0	16.5	
	休薬4週	42.5	39.5							36.0	34.0	

: 特記すべき所見なし. : 減少.  
a): 対照群及び高用量併用投与群 (リバビリン: 100 mg/kg + IFN -2b: 3105 µg/m<sup>2</sup>) の各群雌雄各 2 例を 4 週間休薬した.  
b): 心電図, 血圧, 体温, 心拍数, 呼吸数

表二 - 11 カニクイザル 1 ヶ月間併用 (リバビリン + IFN -2b) 投与毒性試験 (その2)

投与量	リバビリン	0 (滅菌水)		0 (滅菌水)		50 mg/kg		50 mg/kg		100 mg/kg		
	IFN -2b	0 (注射用生理食塩液)		3105 µg/m <sup>2</sup>		0 (注射用生理食塩液)		3105 µg/m <sup>2</sup>		3105 µg/m <sup>2</sup>		
性												
血液学的検査(続き)												
MCV (µm <sup>3</sup> )	投与前	60.8	60.6	65.0	64.3	63.3	59.0	63.0	61.5	62.4	64.2	
	1週	61.0	60.4	64.3	63.7	63.3	58.7	62.7	60.0	61.4	63.4	
	2週	61.2	61.0	64.3	63.7	63.3	59.3	63.0	60.3	61.2	63.2	
	3週	61.4	60.8	65.0	64.7	64.0	60.7	63.7	62.0	61.4	63.4	
	4週	61.6	61.6	65.7	65.3	64.7	62.3	65.0	65.3	61.4	64.4	
	5週	61.6	61.6	66.7	65.0	65.7	64.0	67.0	67.7	61.4	67.3	
	休薬2週	62.5	62.0							66.5	72.0	
	休薬4週	62.5	61.0							70.5	74.0	
	網赤血球 (%)	投与前	0.60	0.60	0.67	1.70	0.77	0.63	0.48	0.80	0.58	0.76
		1週	0.92	1.16	0.40	0.73	1.00	1.10	0.37	1.50	0.32	0.46
		2週	0.44	0.70	0.53	0.77	1.00	1.33	0.30	1.07	0.18	0.26
		3週	0.88	1.56	1.63	2.57	1.40	2.00	0.53	1.27	0.22	0.44
		4週	0.70	0.92	1.30	1.80	1.43	2.73	3.17	2.70	0.22	1.08
		5週	0.80	1.20	1.10	1.43	1.60	3.90	1.90	3.03	0.64	3.93
休薬2週		0.40	0.75							9.75	5.25	
休薬4週		0.35	0.30							0.70	0.80	
白血球 (10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )		投与前	15.68	14.54	15.23	12.13	13.60	13.77	11.30	14.40	10.88	13.48
		1週	14.52	8.26	8.53	5.43	12.47	9.30	7.13	9.57	7.32	7.82
	2週	9.56	5.12	8.37	4.53	14.43	9.17	6.67	10.40	7.32	6.82	
	3週	14.12	8.82	12.60	8.20	11.00	8.60	8.37	8.40	6.70	6.50	
	4週	12.30	9.42	11.57	7.23	13.60	11.47	9.03	8.30	6.44	6.56	
	5週	11.92	9.04	8.47	7.10	9.20	8.50	9.50	10.57	6.52	6.20	
	休薬2週	12.05	7.95							8.65	7.65	
	休薬4週	11.60	6.60							9.80	10.10	
	リンパ球 (10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	投与前	8.32	6.06	7.50	5.13	7.87	5.13	5.75	7.40	6.58	6.10
		1週	7.80	4.88	6.30	3.90	7.87	3.80	5.47	5.30	4.66	4.72
2週		5.36	2.88	5.53	2.80	6.27	3.73	4.37	5.30	4.28	3.48	
3週		6.70	5.20	9.30	5.13	7.20	4.43	6.00	5.63	3.74	4.08	
4週		5.96	4.70	7.53	3.57	6.23	3.60	4.73	4.40	3.66	3.48	
5週		6.92	5.08	5.13	4.20	5.23	3.65	3.00	5.17	3.70	3.98	
休薬2週		8.75	5.10							6.15	4.00	
休薬4週		9.00	5.15							7.90	8.10	
好中球 (10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )		投与前	5.70	7.62	6.47	6.50	5.13	8.23	4.68	5.55	3.60	6.48
		1週	5.22	2.60	1.17	0.77	3.70	4.93	1.03	3.63	1.86	2.40
	2週	3.06	1.72	2.00	1.37	7.33	5.00	1.87	4.50	2.30	2.90	
	3週	6.04	2.92	2.23	2.53	3.00	3.77	1.57	1.67	2.60	2.06	
	4週	5.44	4.36	3.20	3.10	6.70	7.43	3.53	2.93	2.28	2.48	
	5週	3.96	3.22	2.53	2.47	3.43	4.40	5.87	4.63	2.42	1.73	
	休薬2週	2.15	2.35							1.90	3.15	
休薬4週	1.70	1.10							1.20	1.90		
血液塗抹標本								赤血球形態異常 <sup>a)</sup>		赤血球形態異常 <sup>a)</sup>		
骨髓検査												
(投与期間終了時)		(3) <sup>b)</sup>	(3)	(3)	(3)	(3)	(3)	(3)	(3)	(3)	(4) <sup>c)</sup>	
赤芽球系細胞		0	0	0	1	0	0	1	1	3	1	
M/E比		0	0	0	1	0	0	1	1	3	0	
(休薬期間終了時)		(2) <sup>b)</sup>	(2)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(2)	(1)	
赤芽球系細胞		0	0							1	0	
M/E比		0	0							1	1	

: 特記すべき所見なし. : 増加, : 減少.

a): 赤血球の連鎖形成, 小赤血球, 赤血球大小不同, 低色素赤血球, 変形赤血球, 分裂赤血球, 有棘赤血球又は多染性赤血球

b): 検査例数

c): 休薬2週目に死亡した1例 (No.31) を含む.

表二 - 11 カニクイザル 1 ヶ月間併用 (リバビリン + IFN -2b) 投与毒性試験 (その3)

投与量	リバビリン	0 (滅菌水)		0 (滅菌水)		50 mg/kg		50 mg/kg		100 mg/kg	
	IFN -2b	0 (注射用生理食塩液)		3105 µg/m <sup>2</sup>		0 (注射用生理食塩液)		3105 µg/m <sup>2</sup>		3105 µg/m <sup>2</sup>	
性											
血液化学的検査											
総蛋白 (g/dL)	投与前	8.12	8.58	8.37	8.20	8.33	8.60	8.00	8.85	8.36	9.04
	1週	7.94	7.82	7.47	7.23	7.87	7.97	7.23	7.80	7.86	8.10
	2週	8.10	8.46	7.40	7.33	8.37	8.73	7.47	7.50	7.36	7.62
	3週	8.06	8.10	7.63	7.33	8.30	8.37	6.97	7.10	6.86	7.18
	4週	7.90	8.56	8.20	7.80	8.50	8.57	6.77	7.37	6.16	7.08
	休薬4週	8.55	8.45							7.90	8.70
アルブミン (g/dL)	投与前	4.46	4.78	4.43	4.70	4.63	4.67	4.65	4.45	4.62	4.62
	1週	4.40	4.38	3.97	4.13	4.43	4.43	4.13	3.90	4.30	4.12
	2週	4.44	4.72	3.97	4.17	4.77	4.93	4.43	4.07	4.18	3.96
	3週	4.22	4.24	3.70	3.83	4.47	4.47	3.80	3.57	3.54	3.48
	4週	4.32	4.62	4.00	4.13	4.67	4.67	3.77	3.87	3.22	3.48
	休薬4週	4.75	4.65							4.20	4.80
グロブリン (g/dL)	投与前	3.66	3.80	3.93	3.50	3.70	3.93	3.35	4.40	3.74	4.42
	1週	3.54	3.44	3.50	3.10	3.43	3.53	3.10	3.90	3.56	3.98
	2週	3.66	3.74	3.43	3.17	3.60	3.80	3.03	3.43	3.18	3.66
	3週	3.84	3.86	3.93	3.50	3.83	3.90	3.17	3.53	3.32	3.70
	4週	3.58	3.94	4.20	3.67	3.83	3.90	3.00	3.50	2.94	3.60
	休薬4週	3.80	3.80							3.70	3.90
Ca (mg/dL)	投与前	10.88	11.62	10.93	11.23	11.13	11.33	11.28	11.15	11.06	11.44
	1週	10.66	10.82	9.83	10.07	10.90	10.53	10.03	9.87	10.34	9.70
	2週	11.46	11.38	9.60	10.13	11.27	11.27	10.00	10.17	10.18	9.78
	3週	10.82	10.64	10.07	10.70	10.57	10.93	9.80	10.33	9.78	9.90
	4週	11.30	11.52	11.27	11.10	11.10	11.10	10.27	10.90	9.84	10.18
	休薬4週	11.35	10.90							10.80	10.40
Pi (mg/dL)	投与前	5.20	5.86	6.03	4.67	5.83	4.37	5.00	4.18	6.04	3.74
	1週	5.78	5.10	6.73	5.33	5.57	4.73	6.77	6.23	7.08	5.78
	2週	5.68	6.10	5.50	4.80	5.80	4.43	6.50	4.83	5.52	5.34
	3週	5.24	5.74	3.93	4.23	6.97	4.60	5.90	4.10	5.12	4.66
	4週	4.56	5.52	4.57	3.37	5.67	4.00	3.57	2.97	3.80	3.52
	休薬4週	6.50	5.45							4.75	5.50
直接クームテスト											
尿検査 pH ケトン体											
臓器重量 胸腺											
剖検											
(投与期間終了時)		(3) <sup>a)</sup>	(3)	(3)	(3)	(3)	(3)	(3)	(3)	(3)	(4) <sup>b)</sup>
胸腺：萎縮		0	0	0	2	0	1	0	1	2	4
骨髓：蒼白化		0	0	0	0	0	0	0	0	1	3
(休薬期間終了時)		(2) <sup>a)</sup>	(2)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(2)	(1)
胸腺：萎縮		1	0							1	0

：特記すべき所見なし。：増加，：減少。

a)：検査動物数

b)：休薬2週目に死亡した1例 (No.31) を含む。

表二 - 11 カニクイザル 1 ヶ月間併用 (リバビリン + IFN -2b ) 投与毒性試験 ( その 4 )

投与量	リバビリン		0 (滅菌水)		0 (滅菌水)		50 mg/kg		50 mg/kg		100 mg/kg	
	IFN -2b		0(注射用生理食塩液)		3105 µg/m <sup>2</sup>		0(注射用生理食塩液)		3105 µg/m <sup>2</sup>		3105 µg/m <sup>2</sup>	
性												
病理組織学的検査												
(投与期間終了時)												
			(3) <sup>a)</sup>	(3)	(3)	(3)	(3)	(3)	(3)	(3)	(3)	(4) <sup>b)</sup>
胸腺:												
萎縮												
	ごく軽度		0	2	0	0	0	0	2	0	0	0
	軽度		0	0	1	1	0	1	0	1	0	0
	中等度		0	0	0	0	0	1	0	0	1	1
	高度		0	0	0	1	0	0	1	1	2	3
下顎リンパ節:												
萎縮			0	0	0	0	0	0	1	0	2	2
腸間膜リンパ節:												
萎縮			0	0	1	1	0	1	3	1	3	2
回腸:												
リンパ組織萎縮			0	0	0	1	0	0	3	1	2	3
脾臓:												
リンパ組織萎縮			0	0	0	1	0	0	2	1	2	2
鉄沈着増加												
	ごく軽度		2	3	3	3	2	2	0	2	0	2
	軽度		1	0	0	0	1	1	1	1	3	1
	中等度		0	0	0	0	0	0	2	0	0	1
肝臓:												
鉄沈着増加												
	ごく軽度		2	2	1	1	1	2	1	0	0	2
	軽度		0	0	0	0	1	1	2	1	2	1
	中等度		0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
副腎:												
皮質の脂肪減少			0	0	0	1	0	0	0	1	2	2
骨髄:												
細胞増生			0	0	1	2	0	1	0	3	0	1
低形成			0	0	0	0	0	0	1	0	3	2
投与部位:												
真皮の炎症			0	0	3	3	0	0	3	2	0	1
皮下の血管周囲炎			0	0	3	3	0	0	3	3	0	1
胃:												
胃炎			0	0	0	0	0	0	0	1	1	0
結腸:												
結腸炎			0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
肺:												
急性化膿性肺炎			0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
(休業期間終了時)												
			(2) <sup>a)</sup>	(2)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(2)	(1)
胸腺:												
萎縮												
	ごく軽度		0	1								
	軽度		1	0								
	高度		0	0								
投与部位:												
皮下の血管周囲炎			0	0								
血清中リバビリン濃度 <sup>c)</sup>												
(µg/mL) 29日 2.5h			-	-	-	-	1.60	1.75	2.93	3.29	4.48	4.45
血清中IFN -2b濃度 <sup>c)</sup>												
(IU/mL) 29日 2.5h			0	0	13065	79414	-	-	79180	41243	38803	52623

- : 測定しなかった .

a) : 検査動物数

b) : 休業2週目に死亡した1例 ( No.31 ) を含む .

c) : 平均値 ( n=3~5 匹/性/群 ) . 定量下限はリバビリン ; 0.1 µg/mL(HPLC法) , IFN -2b ; 15 IU/mL(ELISA法) . 投与29日目のみ表記した .

表二 - 11 カニクイザル 1 ヶ月間併用 (リバビリン + IFN -2b) 投与毒性試験 (その 5)

投与量	リバビリン	0 (滅菌水)		0 (滅菌水)		50 mg/kg		50 mg/kg		100 mg/kg	
	IFN -2b	0(注射用生理食塩液)		3105 $\mu\text{g}/\text{m}^2$		0(注射用生理食塩液)		3105 $\mu\text{g}/\text{m}^2$		3105 $\mu\text{g}/\text{m}^2$	
性											
抗IFN抗体(陽性例) <sup>a)b)</sup>											
EIA assay	投与前	0/5	1/5	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	2/3	0/5	0/5
	投与5週	4/5	3/5	3/3	3/3	0/3	0/3	2/3	3/3	2/4	4/5
	休薬3週	-	-	-	-	-	-	-	-	1/1	1/1
CPE assay <sup>c)</sup> (bioassay)	投与前	0/4	1/5	0/3	0/3	0/3	0/2	0/3	0/3	0/4	0/5
	投与5週	2/3	2/3	1/1	1/1	-	-	1/1	1/1	-	-
	休薬3週	-	-	-	-	-	-	-	-	0/1	1/1

- : 測定しなかった .

a) : 十分なサンプルが得られなかったもの及び IFN が存在するため判定できなかったものを除く .

b) : 対照群でみられた陽性例は , 細菌感染に起因すると考えられた .

c) : 投与 5 週では , EIA assay で陰性のものについては測定しなかった .

(10) カニクイザル 1 ヶ月間併用 (リバビリン+ IFN -2b) 投与 TK 試験

カニクイザルにリバビリンを強制経口で、また、インターフェロン -2b (以下、IFN -2b) を皮下で 15 日間 (高用量併用投与群) 又は 1 ヶ月間 (リバビリン単独投与群及び低用量併用投与群) 併用投与した際の血漿中リバビリン濃度及び血清中 IFN -2b 濃度の成績を表二 - 12 に示した。

リバビリンの血漿中濃度は、リバビリン単独投与群と IFN -2b 併用投与群で同様であり、リバビリンの血漿中動態に IFN -2b は影響しないと判断した。血漿中リバビリン濃度及び血清中 IFN -2b 濃度に雌雄差はみられなかった (表は雌雄平均値のみ) が、いずれも投与 1 日目に比べて投与 15 又は 29 日目に高値を示した。血漿中リバビリン濃度は用量依存的に増加した。

表二 - 12 カニクイザル 1 ヶ月間併用 (リバビリン + IFN -2b) 投与 TK 試験におけるリバビリン及び IFN -2b の血中濃度

動物種, 年齢, 体重	カニクイザル, 若齢成熟, 3.3~4.5 kg, 2.5~3.5 kg		
投与方法	リバビリン: 滅菌水に溶解して, 1 日 1 回, 29 日間 (リバビリン単独投与群及び低用量併用投与群) 又は 15 日間 (高用量併用投与群) 強制経口投与した。 IFN -2b: 注射用水に溶解して, 2 日に 1 回, 29 日間 (15 回投与, 低用量併用投与群) 又は 15 日間 (8 回投与, 高用量併用投与群) 皮下投与した。		
リバビリン (mg/kg)	50	50	100
IFN -2b ( $\mu\text{g}/\text{m}^2$ )	0	3105	3105
性	+	+	+
血漿中リバビリン濃度 <sup>a)</sup>			
Cmax 1日 (ng/mL)	1360	1140	1420
15/29日 <sup>c)</sup>	3230	3410	4090
Tmax 1日 (hr)	2	1	2
15/29日 <sup>c)</sup>	1	1	2
AUC <sub>0-24hr</sub> 1日 (ng·hr/mL)	15100	12500	20600
15/29日 <sup>c)</sup>	57400	55000	69700
累積係数	3.80	4.40	3.38
血清中 IFN -2b 濃度 <sup>b)</sup>			
Cmax 1日 (IU/mL)		45700	57200
15/29日 <sup>c)</sup>		114000	74200
Tmax 1日 (hr)		2	2
15/29日 <sup>c)</sup>		4	8
AUC <sub>0-24hr</sub> 1日 (IU·hr/mL)		442000	459000
15/29日 <sup>c)</sup>		1320000	962000
累積係数		2.99	2.10

- : 測定しなかった。 平均値 (n=6匹/群)  
採血時間: 投与 1 日目: 投与後 0.1, 2, 4, 8, 12, 24, 48 時間, 投与 15 日目 (高用量併用投与群) 及び投与 29 日目 (リバビリン単独投与群及び低用量併用投与群): 投与後 0.1, 2, 4, 8, 12, 24, 48, 72, 144, 336, 504, 672 時間,  
a): LC-MS/MS法 (定量下限: 0.0501  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )  
b): electrochemiluminescence法 (定量下限: 5 IU/mL)  
c): 高用量併用投与群 (リバビリン: 100 mg/kg, IFN -2b: 3105  $\mu\text{g}/\text{m}^2$ ) は 15 日, 他の群は 29 日に測定した。

## (11) 反復投与毒性についての考察

### 1) 貧血

リバビリンの反復投与試験の結果あるいは文献をもとに、リバビリンの赤血球に対する作用、骨髄に対する影響及び貧血の機序について以下に考察し、リバビリンと IFN- $\gamma$  の併用投与時の貧血の安全性についてまとめた。

#### ① リバビリンの赤血球に対する作用

リバビリンの反復投与試験では、Hb、Ht あるいは赤血球数の減少が、ラット及びイヌとも 10 mg/kg 以上でみられたが、長期投与による増強はいずれもみられなかった（本資料概要 195 及び 212 頁）。サルに反復筋肉内投与した報告では、15 及び 60 mg/kg で赤血球の寿命に短縮がみられた<sup>1)</sup>が、30 及び 100 mg/kg で赤血球の浸透圧脆弱性に変化はみられなかった<sup>2)</sup>。また、イヌやサルの試験では肝臓や脾臓の細網内皮系に色素沈着が観察された（本資料概要 202 及び 217 頁）。

この様に、リバビリンの各種 in vivo 及び in vitro 試験の報告から、リバビリン投与による貧血は、循環血液中から赤血球が早く除去（細網内皮系による貪食、血管外溶血）されるために生ずるもので、血管内の赤血球の崩壊（血管内溶血）によるものではないと考えられた<sup>3)</sup>。

#### ② リバビリンの骨髄に対する影響

リバビリンの骨髄に対する影響については、アカゲザルにリバビリンの 30 及び 100 mg/kg を 10 日間反復筋肉内投与した後、56 日間休薬してその回復性を検討した試験<sup>4)</sup>で詳しく検討されている。この試験では、投与 10 日目までに用量依存的な貧血がみられたが、休薬 33 日目までに回復した。網赤血球数は休薬後速やかに増加し、その後休薬 56 日目までに投与前値へ回復した。骨髄検査では、投与 10 日目に骨髄の赤芽球系細胞の低形成がみられたが、休薬 13 日目までに赤芽球系細胞の増生がみられ、休薬 33 日目までに正常へと回復した。顆粒球系細胞への影響は認められなかった。本試験では、late erythroid form（多染性及び正染性赤芽球）の明らかな減少がみられたが、early erythroid form（前赤芽球及び好塩基性赤芽球）には変化がないか増加がみられた。これらのことから、リバビリンは赤芽球系細胞の成熟抑制により骨髄からの赤血球の放出を抑制するが回復性があり、骨髄における赤芽球の初期の分化・増殖段階には影響しないと考えられた。

また、以下の試験結果から骨髄の造血幹細胞に影響はないものと考えられた。即ち、カニクイザル 1 ヶ月間併用（リバビリン + IFN- $\gamma$ ）投与試験（本資料概要 217 頁）では、併用投与群で用量依存的な貧血がみられたが、休薬直後に網赤血球が著しく増加し、休薬 4 週目までに貧血の回復が認められた。先のアカゲザル 10 日間反復筋肉内投与試験<sup>4)</sup>でも、用量依存的な貧血が投与 10 日目までにみられたが、休薬後速やかに網赤血球数が増加し、休薬 33 日目までに貧血の回復が認められた。さらに、ヒトにリバビリンと IFN- $\gamma$  を 24 週間併

用投与した国内臨床試験（本資料概要 498 及び 546 頁）では、投与終了後 2 週目には網赤血球が増加し、投与終了後約 8 週目にはヘモグロビン値のほぼ投与前値への回復が認められた。

この様に、リバビリン投与による貧血は、休薬後、速やかに末梢血中の網赤血球が増加して回復すること、顆粒球系細胞への影響は認められないこと、また、実験動物とヒトで同様な作用がみられることから、リバビリン投与による貧血の機序には造血幹細胞への作用は関与していないと考えられた。

### ③ リバビリンの貧血の機序

赤血球を用いた *in vitro* 試験では、リバビリンはその濃度に依存して速やかに細胞内に取り込まれ<sup>1),5)</sup>、5' 位がリン酸化された mono-、di- 及び tri-phosphate 体になる<sup>6),7)</sup>。リン酸化体は極性が高いため赤血球の細胞膜を通過しがたく、また赤血球中には脱リン酸化酵素がほとんどないためリバビリンのリン酸化体が蓄積される<sup>7)</sup>。リバビリンのリン酸化及び蓄積により、結果的に赤血球中の ATP が不足し、赤血球の正常機能に影響を及ぼすため通常より早く細網内皮系で除去されると考えられる<sup>1),3),8)</sup>。なお、リバビリンがリン酸化される過程でアデノシンのリン酸化と競合するとの報告もあるが<sup>9)</sup>、アデノシンを添加してもヒト赤血球中の ATP/RTP 比に影響はみられないとの報告<sup>7)</sup>もある。異常な赤血球の細網内皮系での除去と赤血球中 RTP 濃度との関連性及び骨髄の赤芽球増殖抑制のメカニズムについては未だ明らかではないが、リバビリンはグアノシン及びイノシンのアナログであり、グアニル酸の *de novo* の合成の律速酵素である inosine monophosphate (IMP) dehydrogenase を阻害する<sup>10)</sup>ため、GTP が不足し、結果的に細胞骨格や細胞膜に影響を及ぼす可能性も考えられた<sup>11)</sup>。

### ④ リバビリンと IFN -2b の併用投与による貧血の安全性

サルにリバビリン及び IFN -2b を単独あるいは併用投与した毒性試験（本資料概要 217 頁）において、各単独群にみられた主要な毒性は軽度の貧血であり、投与開始 2 週目までに観察された。両薬剤を併用投与した場合の貧血は、各単独投与より結果的に強かったが、その作用は相加的であり相乗的なものではなかった。休薬時には網赤血球の増加とともに赤血球系パラメータの回復が観察された。サルの試験結果から、リバビリンによる貧血は、赤芽球幹細胞への作用によるものではなく、可逆的な骨髄からの赤血球の遊離阻害、赤芽球前駆細胞の成熟阻害<sup>1),2),4)</sup>又は血管外溶血<sup>3)</sup>によるものと推定されている。また、IFN -2b では、軽度の赤血球形成の抑制が認められている<sup>12)</sup>。リバビリンと IFN -2b の併用投与によるヒト臨床試験でも貧血が認められているが、投与終了後に回復することが報告されている（本資料概要 498 及び 546 頁）。

## 2) 消化管への影響

ラット及びイヌにリバビリンを反復投与した場合に認められた消化管障害について、ヒトへの危険性を以下にまとめた。

ラット及びイヌの反復経口投与毒性試験でみられた消化管障害は、28 又は 30 日間の短期投与試験で明らかであった（ラット：160 mg/kg 以上，イヌ：15 mg/kg 以上，本資料概要 189，202 及び 208 頁）が，52 週間投与試験での高用量（ラット：90 mg/kg，イヌ：20 mg/kg）群では病理組織学的に異常はみられなかった（本資料概要 195 及び 212 頁）。また，イヌ 52 週間投与試験では，リバビリンの推定臨床投与量（ヒト体重 60 kg 超で 800 mg/日：13 mg/kg に相当）にほぼ相当する 10 mg/kg 及びそれ以上の投与群で下痢が観察されたが，その発生頻度は投与期間の延長に伴って減少したことから，消化管への影響は可逆的であると推定された。なお，マウスについては消化管の病理組織学的検査が実施されておらず，他の動物種との比較は不明であった。

海外のヒト臨床試験では，リバビリン と IFN -2b 併用投与群に 5 % 以上の頻度で発生した消化管障害は，下痢，腹痛，嘔気，嘔吐，食欲不振又は消化不良であったが，これらの発生頻度は IFN -2b 群と比較して同等もしくはわずかに増加したにすぎなかった（米国における添付文書及び欧州における標準添付文書，本資料概要 23 及び 30 頁）。

一方，本邦で実施した臨床試験では，リバビリン と IFN -2b 併用投与群で 5 % 以上の頻度で発生した消化管障害は，食欲不振（72 %），嘔気，嘔吐，胃炎及び下痢であり，食欲不振以外の副作用は海外の報告と良く似た結果であった。その他，消化管出血が 1 例（0.4 %）に認められたため，本邦のリバビリンの添付文書の重大な副作用の項には，「消化管出血（1 % 未満）：観察を十分に行ない，異常があらわれた場合には投与を中止し，適切な処置を行なうこと。」と記載した。

## 3) 心筋症

ラット反復投与試験の高用量群で認められた心筋症の発生機序及びヒトへの安全性について以下にまとめた。

ラット 30 日間投与毒性試験（本資料概要 189 頁）の 160 及び 320 mg/kg 群でみられた心筋症を含む各毒性所見は，ラットでの最大耐量（MTD）をはるかに越える投与量で認められたもので，他のラット毒性試験，イヌあるいはサルの毒性試験では，同様の变化は認められなかった。

心筋症は，菌血症及び敗血症性ショックによって誘発されたものと極めて類似していた。即ち，胃腸管障害に端を発して造血及びリンパ系器官の抑制を伴い全身の各種組織及び器官への影響がみられた。しかし，これは MTD を越える極めて高い用量のリバビリンをラットに投与したためと考えられた。

これらの内容は、本試験の 160 及び 320 mg/kg 群でみられた以下の病理組織所見から示唆されるものと考えられた。大腸及び小腸の多発性巣状壊死、粘膜嚢胞形成及び杯細胞過形成、リンパ節の傍皮質減少、マクロファージ浸潤、うっ血及び胚中心消失、肺の限局性血栓、限局性あるいはび慢性肺肺炎、胸腔内の浸出液貯留、脾臓の髄外造血消失、心臓の拡張、心房血栓、心房拡張及び心筋症、肝臓の門脈域線維化及び炎症巣。

本試験で観察された形態学的な変化は全身性の感染（敗血症）を示しており、特に胃腸管から侵入したグラム陰性菌や細菌から分泌された内毒素が敗血症性ショックを引き起こした<sup>13),14)</sup>ものと推定された。一般に、ショックの基礎的な影響は循環器系に広くみられ、血液量不足、低血圧、循環量不足及び心筋の機能障害を生じる<sup>13)</sup>。また、敗血症性ショックが生ずると、浸出液で拡張した心膜、心房及び肺血管の血栓がみられ、また心筋症と診断される心筋の各形態学的変化が認められる。

この様に、本試験の 160 及び 320 mg/kg 群でみられた形態学的変化及び死亡については、ラットに MTD を超える極めて高い用量を投与した結果であり、本薬の毒性、ショック、感染、炎症、組織の損傷及び修復が複雑に関連しているものと考えられた。なお、イヌあるいはカニクイザルの毒性試験で心筋症は認められなかった。その種差の理由としては小動物のラットでは自然発生的に心筋症が発生し、その発生頻度及び障害程度は加齢により増加すると報告されており<sup>15)</sup>、上記の様に MTD を越える投与量ではラット心筋症が亢進したものと考えられた。そのため、イヌやカニクイザルでは心筋症が自然発生し難いことが種差の原因と推定された。

以上、心筋症はラット以外の動物種では認められず、ラットでも全身状態悪化が発生するような反復投与試験の高用量のみでしか認められないことから、ラット的心筋症はリバピリン投与による直接的な作用でなく、重篤な消化管障害による二次的な作用と判断され、ヒトへの危険性を示唆するものではないと考えられた。

#### 4) 血圧、体温及び心拍数への影響

カニクイザル 1 ヶ月間併用投与試験で認められた血圧、体温及び心拍数の変化のヒトへの安全性について以下に考察した。

カニクイザル 1 ヶ月間併用（リバピリン+ IFN -2b）投与試験（本資料概要 217 頁）において、投与 4 週目及び休薬 4 週目に測定した平均血圧、体温及び心拍数の各群の平均値を表二 - 13 にまとめた。また、高用量併用投与群で死亡又は全身状態悪化のために切迫屠殺された 3 例の個体値を表二 - 14 に示した。

リバピリンの推定臨床投与量（体重 60 kg 超の場合 800 mg/日：13 mg/kg）の約 3.8 倍に相当する 50 mg/kg を単独投与した群では、対照群と比べて血圧、体温及び心拍数に異常はみられなかった。同様な結果は一般薬理試験（本資料概要 349 頁）でも認められており、ラットに 200

mg/kg (同 15.4 倍に相当) を単回投与しても、血圧、体温及び心拍数に異常は認められなかった。また、IFN -2b の 3105  $\mu\text{g}/\text{m}^2$  をサルに単独投与した群では、血圧のわずかな低下がみられたが、心拍数及び体温に差は認められなかった。

リバビリンと IFN -2b をサルに併用投与した場合、高用量併用投与群では血圧、心拍数及び体温の明らかな低下がみられ、低用量併用投与群でも血圧及び体温が軽度に低下した。しかし、これら高用量及び低用量併用投与群では全身への影響が強く、両併用投与群とも中等度から高度の貧血に加え下痢、食欲不振、脱水又は体重減少等が観察された。特に、死亡又は全身状態悪化のために切迫屠殺された高用量併用投与群の 3 例については、著しい血圧、心拍数及び体温の低下が観察された。しかし、休薬 4 週目の検査では高用量併用群に異常はみられず、その回復性が確認された。

以上、サル1ヵ月間併用投与毒性試験でみられた血圧、心拍数及び体温の低下は、リバビリンによる直接的な作用ではなく、全身状態悪化に伴う二次的な影響と考えられ、休薬による回復性も認められた。これらのことから、ヒト臨床使用上の危険性は低いものと考えられた。

表二 - 13 カニクイザル 1 ヶ月間併用 (リバビリン + IFN -2b) 投与毒性試験における平均血圧、体温及び心拍数

投与量	リバビリン	0	0	50 mg/kg	50 mg/kg	100 mg/kg
	IFN -2b	0	3105 $\mu\text{g}/\text{m}^2$	0	3105 $\mu\text{g}/\text{m}^2$	3105 $\mu\text{g}/\text{m}^2$
動物数		10 <sup>a)</sup>	6	6	6	10 <sup>a)</sup>
平均血圧 (torr)	4週 休薬4週	98.5 ± 14.7 102.5 ± 18.6	88.2 ± 20.1	96.8 ± 9.7	71.8 ± 23.7	67.8 ± 9.8 99.7 ± 10.2
心拍数 (/分)	4週 休薬4週	239 ± 16 238 ± 5	234 ± 17	234 ± 4	228 ± 23	210 ± 33 237 ± 12
体温 ( )	4週 休薬4週	38.3 ± 0.5 38.9 ± 0.1	38.2 ± 1.2	38.8 ± 0.5	37.5 ± 1.2	36.8 ± 1.4 38.6 ± 1.2

a) : 4週目は10例、休薬4週目は4例 (対照群) 又は3例 (高用量併用投与群)

表二 - 14 カニクイザル 1 ヶ月間併用 (リバビリン + IFN -2b) 投与毒性試験における平均血圧、体温及び心拍数 (死亡 / 切迫屠殺例)

投与量	リバビリン	100 mg/kg		
	IFN -2b	3105 $\mu\text{g}/\text{m}^2$		
動物番号		24 (切迫屠殺)	30 (切迫屠殺)	31 (死亡)
平均血圧 (torr)		61	56	52
心拍数 (/分)		157	151	197
体温 ( )		34.3	34.3	37.1

## 5) リンパ系組織への影響

ラット及びイヌの反復投与試験で認められたリンパ組織の萎縮と免疫系への影響について以下に考察した。

ラット及びイヌの経口投与毒性試験では、胸腺、脾臓又はパイエル板のリンパ組織の萎縮が認められた。この様なリンパ系器官の形態学的な変化は、主に短期投与試験であるラット及びイヌの 28 又は 30 日間投与試験（本資料概要 187, 189, 202 及び 208 頁）でみられており、特に貧血あるいは胃腸管への影響が観察された高用量群で明らかであった。一方、長期投与試験では、ラット 52 週間投与試験（本資料概要 195 頁）の高用量群でみられた胸腺萎縮がリンパ系器官に認められた唯一の変化であり、イヌ 52 週間投与試験（本資料概要 212 頁）で変化は認められず、マウス及びラットがん原性試験（本資料概要 273 及び 278 頁）でも観察されなかった。また、マウス及びラットのがん原性試験では、免疫系機能への影響を示唆する変化である感染症の発現頻度の増加、腫瘍発生の増加あるいは寿命の短縮化は認められなかった。

この様に、免疫系機能への影響はみられず、他の器官又は組織に毒性がみられない用量では形態学的な変化も認められなかった。また、海外の免疫毒性試験のガイドライン<sup>16)</sup>では、免疫系への非特異的作用を回避するため、明らかな毒性が発生しない様な用量で試験を実施することが推奨されている。従って、主に短期投与試験で他の毒性が併発するような高用量群でのみ観察されたリンパ系器官の形態学的変化はストレスによる二次的な変化<sup>17),18)</sup>であると判断され、リバピリンが一次的に免疫系に対して抑制的に作用する可能性は極めて低いと考えられた。

## 6) 網膜の変性 / 萎縮

ラット長期投与試験で認められた網膜の変性 / 萎縮について以下に考察した。

マウス、ラット、イヌ及びサルを用いたリバピリンの反復投与毒性試験の内、ラット長期投与試験において網膜に変化が認められたが、他の動物種では網膜に変化はなかった。即ち、ラット 52 週間反復投与試験では、投与 25 週目まで異常はみられなかったが、投与 29 週目から対照群に比べて 90 mg/kg 群で網膜の反射亢進、血管の径及び数の減少を示す例が増加した。加えて、同群では他の投与群に比べ、貧血の程度も強かった（本資料概要 195 頁）。また、ラット 2 年間投与がん原性試験（10 ~ 40 mg/kg）では、投与 12 ヶ月目までは異常はみられなかったが、投与 24 ヶ月目に対照群に比べてリバピリン投与群の眼科学的検査及び病理組織学的検査で網膜の変性 / 萎縮の発生頻度が増加した（本資料概要 278 頁）。

網膜の変性 / 萎縮は、アルビノラットの加齢に伴う典型的な老化現象であり<sup>19),20),21)</sup>、今回のリバピリン長期反復投与毒性試験の対照群にも認められている。また、照度の増加による網膜の変性 / 萎縮の発生頻度の増加が報告されている<sup>20),21),22)</sup>。ラット 52 週間反復投与試験でみられた網膜反射の亢進、血管の径及び数の減少は網膜の変性を示唆しており、さらにリバピリンの長

期投与による慢性的な貧血が、加齢による網膜の変性 / 萎縮の発生頻度を増加させた可能性が考えられる。

しかし、他の動物種を用いた長期反復投与試験、即ちマウス 18 ヶ月間投与がん原性試験（本資料概要 273 頁）及びイヌ 52 週間反復投与試験（本資料概要 212 頁）では、リバビリン投与に関連した眼への影響は認められなかった。以上のことから、加齢ラットでみられた眼への影響はラットに特有なものと推定された。

## 7) 回復性

反復投与試験における毒性の標的臓器 / 組織の回復性について以下に考察した。

リバビリンを反復投与した際の毒性をラット、マウス、イヌ及びカニクイザルで検討した結果、主な標的器官は赤血球、骨髄、リンパ系組織、消化管及び精巣であった。特に赤血球への影響（貧血）は、いずれの動物種にも共通して認められた。これら標的器官でみられた変化の回復性はカニクイザル及びマウスで検討し、いずれも休薬により回復することが確認された。

カニクイザル 1 ヶ月間併用（リバビリン+ IFN -2b）投与試験（本資料概要 217 頁）では、赤血球、骨髄及びリンパ系組織への影響がみられた、最も重要な所見は用量依存的にみられた中等度から高度の貧血であった。骨髄では赤芽球系細胞の低形成あるいは増生がみられ、循環血中の変化（貧血）を反映していた。末梢血中の赤血球の形態変化は骨髄からの未熟な赤血球の放出を示し、脾臓及び肝臓では赤血球の血管外溶血を示唆する鉄沈着の増加がみられた。しかしながら、休薬開始直後には骨髄の反応を示す網赤血球の著しい増加がみられ、貧血の回復性は明らかであった。休薬期間終了後には骨髄の変化は回復し、脾リンパ組織の萎縮も回復した。以上、リバビリン投与時に最も重要な変化である貧血は、休薬により回復することが確認された。

イヌ 28 日間投与試験（本資料概要 202 頁）では、消化管への影響（一般状態：下痢、病理組織検査：腸炎）が 15、30 及び 60 mg/kg 群で認められた。しかし、52 週間投与試験（5、10 及び 20 mg/kg、本資料概要 212 頁）の 10 mg/kg 以上の投与群でみられた下痢の発生頻度は、投与期間の延長に伴って減少し、投与期間終了後の病理組織検査では消化管に異常はみられなかった。よって、消化管への影響は可逆性の変化であると推察された。

マウスに 3 あるいは 6 ヶ月間投与して精巣への影響及びその回復性を検討した試験（本資料概要 252 及び 256 頁）では、15 mg/kg 以上で精子への影響がみられたが、休薬後 1.5 ~ 3 ヶ月間（精子形成の 1 あるいは 2 サイクル）で回復することが確認された。

## 8) 強制経口投与と混餌経口投与の違い

強制経口投与と混餌経口投与との違いが試験の結果に及ぼす影響について以下に考察した。

リバピリンのラット反復投与試験は強制経口投与及び混餌経口投与で実施されている。本薬は臨床使用上長期間投与されるため、試験期間が同じで、投与量が類似している 52 週間投与試験（混餌経口投与、投与量：1、10 及び 30 mg/kg）及びがん原性試験の投与 12 ヶ月目の中間屠殺群（強制経口投与、投与量：10、20 及び 40 mg/kg）の結果を比較した（表二 - 15）。

その結果、強制経口投与及び混餌経口投与とも、ほぼ同様な投与量及び投与期間であれば、体重を除く各検査成績はほぼ同様であった。また、1 ヶ月間投与 TK 試験の結果から、いずれの投与方法でも血漿中のリバピリンの AUC に基づく全身暴露量はほぼ同等 [混餌経口投与 30 mg/kg：5863（雄）、5201（雌）ng・hr/mL、強制経口投与 40 mg/kg：5540（雄）、4830（雌）ng・hr/mL] と考えられた。このため、異なった投与方法が試験結果に大きく影響したとは考えられず、いずれもリバピリンの毒性を検討するのに適切な方法と判断された。

表二 - 15 ラット 52 週間混餌経口投与試験と強制経口投与試験の比較

投与方法	混餌経口 (52 週間投与試験)				強制経口 (がん原性試験：12 ヶ月間中間屠殺群)				
	0 (餌のみ)	1	10	30	対照 I (蒸留水)	対照 II (蒸留水)	10	20	40
死亡・切迫屠殺数、 一般状態									
体重 (g)	780 411	813 427	789 416	795 400	744.7 460.7	776.5 434.3	736.5 434.3	697.8** 423.7	688.4** 411.5**
摂餌量、眼科学的検査									
血液学的検査									
Hb (g/dL)	15.1 14.5	15.2 14.4	14.0 13.4**	13.3** 12.4***	16.2 15.6	15.3 14.5	14.8* 13.9*	14.4** 13.8**	14.2** 13.2**
Ht (%)	43.9 40.2	44.3 40.0	41.4 36.5**	39.6** 35.3***	49 47	46 44	44* 42*	43** 42**	43** 41**
血液化学的検査									
アルブミン (g/dL)	3.2 4.2	3.3 4.3	3.3 4.3	3.4* 4.4	3.5 4.1	3.3 3.9	3.4 4.1	3.4 4.1	3.5 4.2
病理組織学的検査									

混餌経口投与試験の 90 mg/kg は致死量であるため表記しなかった。

- : 特記すべき異常なし。

\* : p<0.05, \*\* : p<0.01, \*\*\* : p<0.001 [52 週間投与試験：Student's t-test using Fisher's F-protected LSD 又は Kruskal-Wallis test。がん原性試験：Dunnett's test 又は Dunn's rank sum test。対照 I と II を合算した対照群 I + II (値は表記していない) と本薬各投与群を比較した]

## 9) ヒトと動物の暴露量の比較

ヒト及び動物の暴露量に基づき、ヒトでの安全性について以下に考察した。

ヒト臨床試験で最も高頻度で発現した副作用は、貧血 (Hb, Ht 又は赤血球減少) であり、ヒトでの治療量 (ヒト体重を 60 kg 超とした場合 800 mg/日：13 mg/kg に相当) で発生することが報告されている。

また、動物実験でも、最も低用量からみられた変化は貧血である。この貧血は、ラット及びイヌを用いた52週間経口投与試験では、いずれも10 mg/kgから軽度に認められている。10 mg/kgを反復強制経口投与した際の、リバビリンの血漿中  $AUC_{0-24hr}$  は、ラットでは0.989 (雄) 及び0.441 (雌)  $\mu g \cdot hr/mL$  (本資料概要 287 頁)であり、イヌでは17 (雄) 及び13.3 (雌)  $\mu g \cdot hr/mL$  (本資料概要 216 頁)であった。ヒトにリバビリンの400 mgをIFN- $\gamma$  との併用で1日2回反復投与した際の血漿中  $AUC_{0-12hr}$  は、29  $\mu g \cdot hr/mL$  (本資料概要 431 頁)を示した。なお、サルについては、10 mg/kg投与でのデータは得られていないが、軽度の貧血がみられた50 mg/kgでのリバビリンの血漿中  $AUC_{0-24hr}$  は55  $\mu g \cdot hr/mL$ であった(本資料概要 226 頁)。

貧血によって示唆されるように、ラット及びイヌを用いた反復経口投与試験は、リバビリンの毒性を明らかにし得るものと考えられた。しかし、ヒトに対するラット及びイヌの相対暴露量(表二-16)は、貧血がヒトより明らかに低い暴露量でみられ、死亡がヒトとほぼ同じかより低い暴露量でみられた。従って、 $AUC$ に基づく相対暴露量の比較では、リバビリンに対するラットの感受性はヒトよりも明らかに強かった。リバビリンの体内分布はヌクレオシドのトランスポーター、リン酸化及び脱リン酸化のメカニズムによって影響される(本資料概要 358 頁)が、貧血は赤血球の生存能力によっても左右され、リバビリンにより赤血球の寿命が短縮する(本資料概要 227 頁)ことから、赤血球のターンオーバーの早いラットの方がヒトより貧血の影響を受け易いことがその原因であろうと考えられる。即ち、正常な赤血球の寿命については、ラットで約60日<sup>23), 24)</sup>、ヒトで約120日<sup>25)</sup>と報告されており、循環血液中の赤血球の生成及び消失の正常な速度はヒトよりラットの方が早く、リバビリンの作用で赤血球が循環血液中からより早く除去(細網内皮系による貪食、血管外溶血)され、更に赤血球の骨髓からの放出が抑制されるため(本資料概要 227 頁)、ラットの方がヒトより貧血を起こしやすいものと考えられた。

しかし、動物実験の結果から、ヒトへの安全性については以下の情報を提供し得ると考えられる。即ち、1)低用量からみられる主たる毒性は貧血である。2)動物及びヒトの貧血は可逆的で、リバビリンの減量によって軽減し、投与中止によって回復する。事実、臨床試験で認められた貧血所見は、リバビリンの減量あるいは中止、又は投与終了後に全例で回復しており、適切な監視のもとで管理し得ることが確認されている。しかしながら、ヒトではHb減少によるリバビリンの減量及び投与中止基準を設けることは必要であり、これを添付文書に用法・用量に関する使用上の注意として記載している。

表二 - 16 ヒトに対する動物の相対暴露量

動物種	用量 (貧血 / 死亡がみられる最低用量)	ヒトに対する動物の相対暴露量 (動物 AUC <sub>0-24hr</sub> <sup>a)</sup> / ヒト AUC <sub>0-24hr</sub> <sup>b)</sup> )	ヒト推定臨床投与量 <sup>c)</sup> に対する動物の相対投与量
ラット	10 mg/kg (Hb 8 ~ 10% <sup>d)</sup> )	× 0.01	× 0.77
	90 mg/kg (死亡)	× 0.82	× 6.92
イヌ	10 mg/kg (Hb 9 ~ 13%)	× 0.26	× 0.77
	40 mg/kg (死亡)	× 1.21 <sup>e)</sup>	× 3.08

- a) : 動物の暴露量 (AUC<sub>0-24hr</sub>) は雌雄平均値を用いた .  
b) : ヒト AUC<sub>0-24hr</sub> はヒト AUC<sub>0-12hr</sub> を 2 倍して算出した .  
c) : 13 mg/kg (ヒト体重を 60 kg 超とした場合 800 mg/日)  
d) : 対照群に対して Hb が最も減少した場合の雌雄の減少率  
e) : 20 mg/kg 群の AUC<sub>0-24hr</sub> を 2 倍して算出した .

## 引用文献

- 1) Canonico PG et al., Effects of ribavirin on red blood cells. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 74:155-162 (1984)
- 2) Canonico PG et al., Hematological and bone marrow effects of ribavirin in rhesus monkeys. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 74:163-172 (1984)
- 3) Hematologic effects of ribavirin and recombinant human interferon- $\alpha$ , individually and in combination: a literature review. Unpublished.
- 4) Toxicity study in rhesus monkeys : ribavirin. Unpublished.
- 5) SCH 18908: In vitro partitioning of <sup>3</sup>H-ribavirin in plasma and erythrocytes from human whole blood. Unpublished.
- 6) Zimmerman TP and Deeprose RD, Metabolism of 5-amino-1- $\beta$ -D-ribofuranosyl-imidazole-4-carboxamide and related five-membered heterocycles to 5'-triphosphates in human blood and L5178Y cells. *Biochemical Pharmacology*, 27: 709-716 (1978)
- 7) Page T and Connor JD, The metabolism of ribavirin in erythrocytes and nucleated cells. *International Journal of Biochemistry*, 22: 379-383 (1990)
- 8) Shulman NR, Assessment of hematologic effects of ribavirin in humans, National Institute of Health. in *Clinical Applications of Ribavirin*, eds. Smith RA, Knight V and Smith JAD, 79-92, New York Academic Press, Inc., 1984.
- 9) Smee DF and Matthews TR, Metabolism of ribavirin in respiratory syncytial virus-infected and uninfected cells. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 30: 117-121 (1986)
- 10) Streeter DG et al., Mechanism of action of 1- $\beta$ -D-ribofuranosyl-1,2,4-triazole-3-carboxamide (virazole), a new broad-spectrum antiviral agent. *Proceedings of the National Academy of Sciences of USA*, 70: 1174-1178 (1973)
- 11) Kerr SJ, Ribavirin induced differentiation of murine erythroleukemia cells. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 77: 187-194 (1987)
- 12) Three-month intramuscular toxicity study of SCH 30500 ( $\beta$ -2 interferon) in monkeys. Unpublished.
- 13) Schoen FJ, Hemodynamic Disorders, Thrombosis, and Shock. in *Robbins Pathologic Basis of Disease 5th edition*, 117-121, Philadelphia, WB Saunders Co., (1994)
- 14) Schoen FJ, The heart in Schoen FJ (mg ed). in *Robbins Pathologic Basis of Disease 5th edition*. 551, 624, Philadelphia, WB Saunders Co., (1994)
- 15) David L, Non-neoplastic lesions in the cardiovascular system. in *Pathobiology of the Aging Rat Volume 1*: 301-309, ILSI press (1992)
- 16) Guidance for industry (draft), immunotoxicology evaluation of investigational new drugs. FDA, CEDR (April 2001)
- 17) Greaves P and Faccini JM, Thymus. in *Rat Histopathology 2nd edition*, 50, Elsevier (1992)
- 18) Greaves P, Lymph nodes. in *Histopathology of Preclinical Toxicity Studies*, 95-100, Elsevier (1990)
- 19) Weisse I et al., Age-related retinal changes - a comparison between albino and pigmented rats. *Lens and Eye Toxicity Research*, 7 (3&4): 717-739 (1990)
- 20) Weiße I et al., Age- and light-dependent changes in the rat eye. *Virchows Archiv. A, Pathological Anatomy and Histology*, 362: 145-156 (1974)
- 21) Grosche J et al., Retinal light damage vs. normal aging of rats: altered morphology, intermediate filament expression, and nuclear organization of müller (glial) cells. *Journal of Brain Research*, 38: 459-470 (1997)
- 22) Grignolo A et al., Retinal damage by visible light in albino rats, an electron microscope study. *Ophthalmologica*, 157: 43-59 (1969)
- 23) Hematology of the rat. chapter 189 in *Schalm's Veterinary Hematology. 5th edition*, 1210-1218, Lippincott Williams and Wilkins (2000)
- 24) Harkness JE and Wagner JE, The biology and medicine of rabbits and rodents. 4th edition, Baltimore, Williams and Wilkins (1995)
- 25) Williams, Beutler, Erslev and Lichtman, Erythrokinetics. chapter 41 in *Hematology*, 3rd edition, 395-405, McGraw Hill (1983)

### 3. 生殖発生毒性

リバビリンの生殖発生毒性は、FDA ガイドラインに準拠したラット妊娠前及び妊娠初期投与試験、ラット及びウサギ器官形成期投与試験、ラット周産期及び授乳期投与試験及び ICH ガイドラインに準拠し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で評価した。

#### (1) ラット妊娠前及び妊娠初期投与試験

##### 1) 試験方法

SD 系ラットを用いて、雄（1 群 15 匹）では 10、40 及び 160 mg/kg を交配前 9 週から交配後の剖検時（雌動物の剖検時以降）まで、雌（1 群 30 匹）では 0.3、1.0 及び 10 mg/kg を交配前 2 週から妊娠 5 日まで強制経口投与した。交配期間中は雄 1 匹に対して雌 2 匹を同居させた。交尾確認雌動物の約 1/3 例は妊娠 13 日に帝王切開して胚を観察し、残りの約 2/3 例は自然分娩させ離乳時まで出生児を観察した。なお、高用量群の雄 15 例中 5 例が交配前に死亡したため、同群では自然分娩群の交配が終了した後に帝王切開群の交配を開始した。従って、高用量群の帝王切開群の投与期間は、雄が交配前 13 週間、雌が交配前 6 週間となった。

##### 2) 投与量設定根拠

雄については、ラット 9 週間強制経口投与予備試験<sup>1)</sup>（40、80、160、320 及び 640 mg/kg）で 320 mg/kg 以上の投与群の雄全例が死亡又は切迫屠殺され、80 及び 160 mg/kg 群で体重増加抑制及び摂餌量減少がみられたことから、本試験の最高用量を 160 mg/kg とし、以下公比 4 で 40 及び 10 mg/kg を設定した。

雌については、ラット器官形成期投与試験（0.3、1.0 及び 10 mg/kg、本資料概要 241 頁）で 10 mg/kg 群で着床後死亡率の増加による生存胎児数の減少がみられたことから、生殖能力の検討が困難にならないため、10 mg/kg を本試験の最高用量とし、以下 1.0 及び 0.3 mg/kg を設定した。

##### 3) 試験成績

結果は表二 - 17 に示した。

雄では、160 mg/kg 群の 5 例が交配開始前（投与 2 ~ 8 週目）に、同群の他の 1 例が交配後（投与 16 週目）に死亡又は全身状態悪化のため切迫屠殺された。これらの例では、死亡又は切迫屠殺前に四肢蒼白化、円背位、立毛又は体重減少がみられ、剖検では胸水、腹水、胸腺、肺及び精巢のうっ血、精囊及び前立腺の萎縮又は消化管内に水様性内容物が認められた。生存例では、160 mg/kg 群で四肢蒼白化、痲皮及び鼻部腫脹、体重増加抑制及び摂餌量減少がみられたが、いずれの投与群でも交尾率及び剖検には異常はみられなかった。40 及び 10 mg/kg 群には何等異常はみられなかった。

雌では、一般状態、体重、摂餌量、妊娠率、交尾確認までの日数、妊娠期間、分娩状態、黄体数及び着床数に異常はみられなかった。

妊娠 13 日帝王切開による胚の観察では、いずれの群においても着床前死亡率、生存胚数、死亡胚数及び着床後死亡率に異常はみられなかった。

出生児の観察では、いずれの群においても産児数、生後 0 日の生児数、出生児体重及び性比、生後 4 日及び離乳時までの死亡率、各種反射及び離乳時体重に異常はみられなかった。離乳時の剖検では、10 mg/kg 群で水頭（7 例）及び横隔膜ヘルニア（3 例）がみられ、本薬投与に関連していると判断された。これについては、器官形成期まで本薬の暴露が続いていた可能性が否定できない。なお、高用量群（160 / 10 mg/kg 群）の 4 例の母動物では、交尾が確認できず妊娠期間を通して本薬を投与した結果、高い着床後死亡率及び生後死亡率がみられ、3 例で全出生児が死亡した。これは、ラット器官形成期投与試験（本資料概要 241 頁）で胚・胎児生存率の減少がみられていることから、上記の 4 例では器官形成期を含むより長期間本薬に暴露されたことが原因と判断された。これらの動物は出生児検査の評価からは除外した。

母動物の妊娠 5 日の血漿中薬物濃度の測定結果から、いずれの投与群でもリバビリンによる暴露が確認された。

#### 4) 試験成績のまとめ

雄ラットにリバビリンの 10, 40 及び 160 mg/kg を妊娠前 9 又は 13 週間から交配後の剖検時まで強制経口投与した結果、160 mg/kg 群で死亡又は切迫屠殺例がみられたが、生存例の生殖能力には異常はみられなかった。

雌ラットにリバビリンの 0.3, 1.0 及び 10 mg/kg を妊娠前及び妊娠初期に強制経口投与したが、一般状態及び生殖能力に異常はみられず、妊娠 13 日に観察した胚及び自然分娩後離乳時まで観察した出生児の発育には、妊娠 5 日までの投与に関連する異常はみられなかった。出生児の離乳時の剖検で 1.0 及び 10 mg/kg 群に水頭（2 及び 7 例）、10 mg/kg 群に横隔膜ヘルニア（3 例）がみられ、ラット器官形成期投与試験（本資料概要 241 頁）でも同様に認められた。

以上の結果から、本試験の親動物の一般毒性に対する無毒性量は、雄で 40 mg/kg、雌で 10 mg/kg、生殖毒性に対する無毒性量は、雄で 160 mg/kg、雌で 10 mg/kg、胚に対する無毒性量は 10 mg/kg、出生児に対する無毒性量は 0.3 mg/kg と判断した。

#### 引用文献

- 1) Ribavirin: A pilot study of toxicity to male rats by oral administration for 9 weeks (P-6598).  
Unpublished.

表二 - 17 ラット妊娠前及び妊娠初期投与試験 (その1)

動物種, 系統, 投与開始時週齢		SD系ラット, 7週齢, 9~10週齢			
投与方法, 試験方法		本薬を蒸留水に溶解し, 雄では交配前9又は13 <sup>a)</sup> 週から交配終了後の剖検時(雌の剖検後)まで, 雌では交配前2又は6 <sup>a)</sup> 週から妊娠5日まで強制経口投与した. 交配期間中は雄1匹に対し雌2匹を同居させた. 交尾が確認された雌の約1/3例は妊娠13日目に帝王切開して胚を観察し, 残りの2/3例は自然分娩させて離乳時まで出生児を観察した.			
投与量 (mg/kg)		0 / 0 (蒸留水)	10 / 0.3	40 / 1.0	160 / 10
動物数		15 30	15 30	15 30	15 30
親動物 ( )	死亡・切迫屠殺数	0	0	0	6 (交配前:5) (交配後:1)
	一般状態				生存例: 四肢蒼白化, 痲皮, 鼻部腫脹 死亡・切迫屠殺例: 上記に加えて, 円背位, 立毛, 体重減少
	体重				増加抑制**
	摂餌量				**
	交尾率 [%,(例数)]	100 (15/15)	100 (15/15)	100 (15/15)	100 (10/10)
	剖検				生存例: 死亡・切迫屠殺例: 胸水, 腹水, 胸腺・肺 ・精巢のうっ血, 精囊・前立腺の萎縮, 消化管内水様性内容物
親動物 ( )	死亡・切迫屠殺数	0	1 <sup>b)</sup> (交配前:1)	0	0
	一般状態				
	体重				
	摂餌量				
	妊娠率 <sup>c)</sup> [%,(例数)]	97 (29/30)	97 (28/29)	100 (30/30)	100 (30/30)
	交尾確認までの日数 (中央値)	3.0	3.0	3.0	3.0
	剖検				
妊娠13日帝王切開					
母動物	検査動物数	12	13	12	10
	妊娠動物数	12	12	12	10
	生存胚を有する母動物数	12	12	12	10
	黄体数 (一腹平均)	15.9	15.8	15.6	15.6
	着床数 (一腹平均)	15.7	15.0	14.7	14.7
胚	着床前死亡率 <sup>d)</sup> (% , 一腹平均)	1.6	4.4	6.4	6.5
	生存胚数 (一腹平均)	14.9	14.1	13.2	13.8
	死亡胚数 (一腹平均)	0.8	0.9	1.5	0.9
	着床後死亡率 <sup>e)</sup> (% , 一腹平均)	4.6	6.2	9.7	6.0

- : 特記すべき所見なし. : 減少.

\*\* : p<0.01 (Williams' test又はShirley's test)

a) : 高用量群では, 雄の5例が死亡又は切迫屠殺されたため, 自然分娩群の交配期間終了後に帝王切開群の交配を実施した.  
この結果, 高用量の帝王切開群の交配前投与期間は, 雄13週間, 雌6週間となった.

b) : 誤投与による屠殺例

c) : 妊娠率 = (妊娠動物数 / 交配に使用した雌動物数) × 100

d) : 着床前死亡率 = [(黄体数 - 着床数) / 黄体数] × 100

e) : 着床後死亡率 = [(着床数 - 生存胚数) / 着床数] × 100

表二 - 17 ラット妊娠前及び妊娠初期投与試験 (その2)

投与量 (mg/kg)	/	0 / 0 (蒸留水)	10 / 0.3	40 / 1.0	160 / 10
自然分娩					
母動物	検査動物数	18	16	18	20
	妊娠動物数	17	15	18	20
	妊娠期間 (日, 平均値)	21.8	22.2	22.1	22.3
	分娩状態				
	出生児検査母動物数	11 <sup>a)</sup>	10 <sup>a)</sup>	14 <sup>a)</sup>	16 <sup>a)</sup>
	着床痕数 (一腹平均)	13.6	14.3	14.6	13.8
出生児	産児数 (一腹平均)	13.1	13.4	13.1	12.4
	生後0日生児数 (一腹平均)	13.0	13.3	13.0	12.4
	死亡率 (% , 一腹平均)				
	着床後 ~ 生後0日 <sup>b)</sup>	3.7	5.6	9.7	9.3
	生後0日 ~ 生後4日 <sup>c)</sup>	1.2	0.7	3.4	1.8
	生後0日 ~ 離乳時 <sup>d)</sup>	1.9	2.6	3.8	2.5
	体重 (g, 一腹平均)				
	生後0日	6.1	6.4	6.0	6.3
	離乳時	44.9	44.0	44.9	46.8
	生後0日性比 (% , / + )	47.8	52.6	50.4	49.2
	面正向反射, 聴覚驚愕反射, 空中落下正向反射, 瞳孔反射				
離乳時の剖検:					
水頭	0	0	2	7	
横隔膜ヘルニア	0	0	0	3	
母動物の血漿中リバビリン濃度 <sup>e)</sup> ( $\mu$ mol/L) 妊娠5日 C <sub>1h</sub>		ND	0.08	0.26	1.63
無毒性量	親動物の一般毒性: 40 mg/kg, 10 mg/kg 親動物の生殖毒性: 160 mg/kg, 10 mg/kg 胚: 10 mg/kg, 出生児: 0.3 mg/kg				

- : 特記すべき所見なし。ND: 定量限界未満

a) : 妊娠動物の内, 対照群の3例では吸収胚のみがみられた。さらに, 対照群, 低, 中及び高用量群の3, 5, 4及び4例の雌動物は, 交尾が確認できず, 妊娠5日以降も継続して本薬を投与したため, 出生児検査では除外して評価した。

b) : 着床後死亡率 = [(着床痕数 - 生後0日生児数) / 着床痕数] × 100

c) : 生後4日までの死亡率 = [(生後0日生児数 - 生後4日生児数) / 生後0日生児数] × 100

d) : 離乳時までの死亡率 = [(生後0日生児数 - 離乳時生児数) / 生後0日生児数] × 100

e) : RIA法。開発初期に実施され, パリテーションが十分でないため, 参考値として表示した (サテライト群, n=5, 定量下限: 0.05  $\mu$ mol/L)。

## (2) ラット器官形成期投与試験

### 1) 試験方法

SD系妊娠ラット(1群20～29匹)に0.3, 1.0及び10 mg/kgを妊娠6日から15日まで強制経口投与し, 妊娠20日に全母動物を帝王切開して胎児を観察した。

### 2) 投与量設定根拠

ラット器官形成期投与予備試験<sup>1)</sup>(0.3, 1.0及び10 mg/kg)では, 10 mg/kg群で着床後死亡率の増加, 生存胎児数及び胎児体重の減少がみられたが, 1.0 mg/kg群で胎児体重のわずかな減少のみであったため, 本試験の高用量は10 mg/kgとし, 以下1.0及び0.3 mg/kgを設定した。

### 3) 試験成績

結果は表二 - 18に示した。

母動物では, 一般状態, 摂餌量, 摂水量, 黄体数, 着床数及び剖検に異常はみられなかった。投与後半に10 mg/kg群で体重増加抑制がみられたが, 胎児摘出後の母動物体重は対照群と同様であることから, 胎児体重の減少による二次的なものと判断した。

胎児では, 10 mg/kg群で着床後死亡率の増加による生存胎児数の減少及び胎児体重減少がみられたが, いずれの群においても性比には異常はみられなかった。

胎児の形態観察では, 10 mg/kgの多数例で奇形を含む形態異常が認められた。主な異常としては, 水頭, 過剰胸椎又は過剰腰椎, 胸椎又は腰椎の骨化異常, 肋軟骨配列異常, 腰肋増加, 横隔膜ヘルニア, 心室中隔欠損を含む心血管異常等, 主として胸部に集中してみられる傾向があり, さらに腰椎の異常も多くみられた。同群では骨格変異の増加も認められた。1.0 mg/kg群でも, 低頻度ではあるが形態異常の増加がみられた。0.3 mg/kg群では形態異常の増加は認められなかった。

血漿中薬物濃度の測定結果から, いずれの投与群でもリバビリンによる暴露が確認された。

### 4) 試験成績のまとめ

ラット胎児の器官形成期にリバビリンの0.3, 1.0及び10 mg/kgを強制経口投与し, 妊娠20日に帝王切開して胎児を観察した。その結果, 母動物への影響はみられなかった。胎児では10 mg/kg群で着床後死亡率の増加による生存胎児数の減少及び胎児体重減少がみられた。また, 同群の胎児では様々な形態異常がみられたが, 主として胸部に集中してみられる傾向があり, 腰椎の異常も多く認められた。1.0 mg/kg群でも低頻度ではあるが形態異常の増加がみられた。

以上の結果から, 本試験の母動物の一般毒性及び生殖毒性に対する無毒性量は10 mg/kg, 胎児に対する無毒性量は0.3 mg/kgと判断した。

## 引用文献

- 1) Ribavirin: A preliminary study of virazole on the pregnant rat (incorporating toxicokinetic assessment). Unpublished.

表二 - 18 ラット器官形成期投与試験 (その1)

動物種, 系統, 交配開始時週齢		SD系ラット, 8~10週齢			
投与方法, 試験方法		本薬を蒸留水に溶解し, 妊娠6日から15日まで強制経口投与した. 母動物は全例を妊娠20日に帝王切開し, 胎児を観察した.			
投与量 (mg/kg)		0 (蒸留水)	0.3	1.0	10
母動物数		28	20	20	29
母動物	死亡数	0	0	0	0
	一般状態				
	体重				増加抑制**
	摂餌量				
	摂水量				
	吸収胚のみを有する母動物数	0	0	0	1
	生存胎児を有する母動物数	28	20	20	28
	黄体数 (一腹平均)	14.8	14.7	14.9	14.8
	着床数 (一腹平均)	13.3	12.7	13.3	12.9
剖検					
胎児	着床後死亡率 (% , 一腹平均)	10.7	3.4	3.5	20.2*
	着床後死亡数 (一腹平均)	1.3	0.5	0.5	2.5*
	前期 (一腹平均)	1.3	0.5	0.5	1.1
	後期 (一腹平均)	0.0	0.0	0.0	1.4**
	生存胎児数 (一腹平均)	11.9	12.2	12.8	10.3*
	胎児体重 (g, 一腹平均)	3.77	3.86	3.81	2.81**
	一腹体重 (g)	44.93	46.49	48.33	29.14**
	性比 (% , / + )	48.7	46.6	46.2	48.5
	内臓検査 (検査例数)	(168)	(123)	(127)	(145)
	内臓異常 (発生頻度)				
	水頭	0	0	1	10
	松果体欠損	0	0	0	2
	網膜皺壁	0	0	1	3
異所性食道	0	0	0	8	
心房中隔欠損	0	0	0	1	
心室中隔欠損	4	1	1	45	
心臓位置異常	0	0	0	4	
横隔膜ヘルニア	0	0	0	24	
後大静脈形成不全	0	0	0	24	
異所性副腎	0	0	0	19	
右奇静脈	0	0	0	32	

- : 特記すべき所見なし

\* : p&lt;0.05, \*\* : p&lt;0.01 ( Shirley's test )

表二 - 18 ラット器官形成期投与試験 (その2)

投与量 (mg/kg)	0 (蒸留水)	0.3	1.0	10
骨格検査 (検査例数)	(166)	(121)	(128)	(144)
骨格異常 (発生頻度)				
水頭	0	0	0	1
第1肋骨低形成 / 短小	0	0	0	19
肋軟骨配列異常	0	0	0	49
胸骨分節配列異常	0	0	0	20
脊椎異常				
頸椎癒合	0	0	0	6
胸椎骨化異常	2	1	1	96
胸椎癒合	0	0	0	9
腰椎骨化異常	0	0	0	39
腰椎癒合	0	0	0	7
肋骨癒合	0	0	0	22
脊柱側弯	0	0	0	7
過剰胸椎 / 過剰腰椎	2	1	11	123
胸骨裂	0	0	0	6
肢欠損	0	0	0	4
内反又は外反足	0	0	0	5
臍ヘルニア <sup>a)</sup>	0	0	0	5
横隔膜ヘルニア <sup>a)</sup>	0	0	0	3
骨格変異 [発生頻度, (%)]				
腰肋	36 (20.6)	15 (11.4)	49 (38.8**)	65 (45.6**)
胸骨分節未骨化	55 (33.2)	34 (27.1)	32 (24.9)	118 (81.4**)
胸骨分節低形成	57 (33.7)	35 (28.5)	33 (25.7)	101 (69.2**)
胸骨分節非対称	5 (2.8)	2 (1.7)	0 (0)	40 (28.6**)
胸骨変異合計	97 (57.3)	62 (49.7)	61 (47.5)	142 (98.4**)
母動物の血漿中リバビリン濃度 <sup>b)</sup>				
妊娠 15 日 (μmol/L) C <sub>1h</sub>	ND	0.06 <sup>c)</sup>	0.11	1.26
無毒性量	母動物の一般毒性: 10 mg/kg, 母動物の生殖毒性: 10 mg/kg 胎児: 0.3 mg/kg			

\*\* : p<0.01 (Shirley's test)

ND: 定量限界未満

a): 骨格検査の骨染色前に発見された.

b): RIA法. 開発初期に実施され, バリデーションが十分でないため, 妊娠 15 日の投与 1 時間値のみを参考値として表示した (サテライト群, n=1~5, 定量下限: 0.05 μmol/L).

c): 定量下限未満値を示した例を除いて平均値 (n=2) を求めた.

### (3) ウサギ器官形成期投与試験

#### 1) 試験方法

ニュージーランドホワイト種妊娠ウサギ（1群 14～16匹）に0.1, 0.3及び1.0 mg/kgを妊娠6日から18日まで強制経口投与し、妊娠29日に全母動物を帝王切開して胎児を観察した。

#### 2) 投与量設定根拠

ウサギ器官形成期投与予備試験（0.3, 1.0及び3.0 mg/kg, 本資料概要 257頁）では、3.0 mg/kg群で着床後死亡率の増加、生存胎児数及び胎児体重の減少がみられ、形態異常（主に心血管系）の発生頻度が増加したため、本試験の高用量は1.0 mg/kgとし、以下公比約3で0.3及び0.1 mg/kgを設定した。

#### 3) 試験成績

結果は表二 - 19 に示した。

母動物では、1.0 mg/kg群で、投与開始後の妊娠6～8日目に一過性の体重増加抑制がみられた。妊娠期間中の同群のその後の体重増加量は、対照群と同様であった。0.3 mg/kg群の1例は妊娠28～29日に流産したが、同様の所見は1.0 mg/kg群では認められず、本薬に関連するものではないと判断した。母動物の一般状態、摂餌量、黄体数、着床数及び剖検では、いずれの投与群でも異常はみられなかった。

胎児では、着床後死亡率、生存胎児数、体重及び性比には、いずれの群でも異常はみられなかった。

胎児の形態観察でみられた奇形の発生例数は、対照群、0.1, 0.3及び1.0 mg/kg群で各々2, 4, 2及び2例であり、奇形の型及び発生頻度に本薬投与との関連性は認められなかった。また、1.0 mg/kg群では外表又は内臓異常のわずかな増加がみられたが、統計学的に有意な差はみられないこと、0.1及び0.3 mg/kg群を含む異常の型に一定の傾向はなく、最も高頻度でみられた頸胸部動脈変異でも対照群の4例に対して1.0 mg/kg群で6例であることから、本薬投与との関連性はないと判断した。

一方、1.0 mg/kg群でみられたわずかな骨格異常の増加は、統計学的に有意な差ではないが、頸椎骨化異常（主に第2頸椎の骨化不全）は対照群の4例に対して1.0 mg/kg群で18例と発生頻度が高く、通常みられる頻度よりも高いことから本薬投与に関連するものと判断した。また、同群でみられたわずかな骨格変異（腰肋）の増加についても、骨格異常の増加がみられていることから、本薬投与との関連性は否定できないと判断した。

0.1及び0.3 mg/kg群には本薬投与に関連する胎児の形態異常は認められなかった。

血漿中リバビリン濃度の測定結果から、いずれの投与群でもリバビリンによる用量依存的な暴露が確認された。

#### 4) 試験成績のまとめ

ウサギ胎児の器官形成期にリバビリンの 0.1, 0.3 及び 1.0 mg/kg を強制経口投与し, 妊娠 29 日に全母動物を帝王切開して胎児を観察した。その結果, 母動物では 1.0 mg/kg 群で投与初期に一過性の体重増加抑制がみられた。胎児では, 1.0 mg/kg 群で骨格異常 (頸椎骨化異常) 及び骨格変異 (腰肋) のわずかな発生頻度増加がみられた。

以上の結果から, 本試験の母動物の一般毒性に対する無毒性量は 0.3 mg/kg, 母動物の生殖毒性に対する無毒性量は 1.0 mg/kg, 胎児に対する無毒性量は 0.3 mg/kg と判断した。

表二 - 19 ウサギ器官形成期投与試験 (その 1)

動物種, 系統, 交配開始時週齢		ニュージーランドホワイト種ウサギ, 15 ~ 24 週齢			
投与方法, 試験方法		本薬を蒸留水に溶解し, 妊娠 6 日から 18 日まで強制経口投与した。母動物は全例を妊娠 29 日に帝王切開し, 胎児を観察した。			
投与量 (mg/kg)		0 (蒸留水)	0.1	0.3	1.0
動物数		15	15	14	16
母動物	死亡数	0	0	0	0
	流産数	0	0	1 <sup>a)</sup>	0
	一般状態	-	-	-	-
	摂餌量	-	-	-	-
	体重	-	-	-	増加抑制* (妊娠 6 ~ 8 日)
	生存胎児を有する母動物数	15	15	13 <sup>a)</sup>	16
	黄体数 (一腹平均)	11.1	11.3	10.8	11.3
	着床数 (一腹平均)	9.0	9.9	9.5	8.9
	剖検	-	-	-	-
	胎児	着床後死亡率 (% , 一腹平均)	8.5	12.7	13.0
着床後死亡数 (一腹平均)		0.9	1.3	1.1	0.7
前期 (一腹平均)		0.4	0.9	0.5	0.4
後期 (一腹平均)		0.5	0.5	0.5	0.3
生存胎児数 (一腹平均)		8.1	8.5	8.4	8.3
胎児体重 (g, 一腹平均)		45.8	43.6	45.1	43.5
一腹体重 (g)		361.5	369.8	371.0	343.3
性比 (% , / + )		51.3	53.1	52.2	44.1

- : 特記すべき所見なし

\* : p<0.05 ( Williams' test )

a) : 0.3 mg/kg 群の 1 例が流産したが, 本薬投与に関連するものではないと判断されたため, 胎児の観察からは削除して評価した。

表二 - 19 ウサギ器官形成期投与試験 (その2)

投与量 (mg/kg)		0 (蒸留水)	0.1	0.3	1.0
胎 児	形態観察				
	奇形 [発生頻度]	2/122	4/128	2/109	2/132
	小眼球	0	0	0	1
	網膜異常	0	0	0	1
	口唇裂	1	0	0	0
	口蓋裂	1	0	0	0
	頸胸部動脈奇形	0	2	0	0
	肺動脈奇形	2	0	1	0
	心室中隔欠損	1	0	1	0
	胸椎重複異常	0	1	0	0
	後大静脈形成不全	0	1	0	0
	腎・尿管欠損	0	0	0	1
	脊柱閉鎖	0	1	0	0
	短尾	1	0	0	0
	前肢湾曲	0	0	1	0
	肩甲骨変形	1	0	0	0
	腸骨欠損 / 短縮	1	0	0	0
	四肢骨短縮 / 変形	1	0	0	0
	欠指	1	0	0	0
	欠乏指	1	0	0	0
	外表 / 内臓異常 [発生頻度]	6/120	10/124	4/107	15/130
	角膜・水晶体混濁	0	0	1	1
	虹彩出血	0	0	2	1
	後眼房出血	0	0	0	1
	気管・左甲状腺隣接部嚢胞	0	0	0	1
	頸胸部動脈変異	4	5	1	6
	肺動脈変異	1	0	0	0
	無気肺	0	0	0	2
	肝分葉異常	1	4	0	3
	肝被膜下嚢胞	1	0	0	1
	肝暗色突起物	0	1	0	0
	胆嚢二分葉	0	1	0	0
	骨格異常 [発生頻度]	17/119	14/124	16/107	29/130
	頭蓋縫合変異	4	2	1	6
	頬骨・上顎骨結合	3	2	3	3
頭蓋骨骨化異常	1	1	1	0	
頭蓋骨融合	0	0	1	0	
泉門拡大	0	0	0	1	
頸椎骨化異常	4	5	8	18	
頸肋	4	2	4	0	
肋骨分岐 / 融合	1	1	0	2	
肋骨欠損	1	0	0	2	
肋軟骨異常	0	0	1	0	
胸骨分節分裂	1	0	0	1	
胸骨分節融合 / 結合	0	1	0	1	
胸腰椎数 1 椎増加	0	0	0	1	
胸腰椎数 1 椎減少	2	1	0	0	
指骨低形成	1	0	0	1	
距骨未骨化	0	0	0	1	
骨格変異 [発生頻度, (%)]					
腰肋	68 (58.3)	56 (45.3)	51 (53.9)	98 (75.2)	
胸骨分節の変異	26 (20.6)	27 (21.8)	28 (23.3)	42 (29.5)	
母動物の血漿中リパピリン濃度 <sup>a)</sup>					
妊娠 18 日 (μmol/L) C <sub>1h</sub>	ND	0.11	0.31	1.11	
無毒性量	母動物の一般毒性: 0.3 mg/kg, 母動物の生殖毒性: 1.0 mg/kg 胎児: 0.3 mg/kg				

a): RIA法。開発初期に実施され、バリデーションが十分でないため、妊娠18日の投与1時間値のみを参考値として表示した (定量下限: 0.05 μmol/L, n=1~5)。

#### (4) ラット周産期及び授乳期投与試験

##### 1) 試験方法

SD系妊娠ラット(1群25匹)に0.1, 0.3及び1.0 mg/kgを妊娠15日から分娩後21日まで強制経口投与した。母動物は全例を自然分娩させ、離乳時まで出産児を観察した。

##### 2) 投与量設定根拠

ラット器官形成期投与試験(0.3, 1.0及び10 mg/kg, 本資料概要241頁)で1.0 mg/kg以上の投与群で形態異常の増加がみられたことから、本試験の最高用量を1.0 mg/kgとし、以下公比約3で0.3及び0.1 mg/kgを設定した。

##### 3) 試験成績

結果は表二 - 20に示した。

母動物の一般状態、体重、妊娠期間及び剖検に異常はみられなかった。0.1 mg/kg群の1例が分娩後4日に死亡したが、より高用量の1.0 mg/kg群では死亡はみられないことから本薬投与に関連するものではないと判断した。また、1.0 mg/kg群で投与開始直後の妊娠15～16日にみられた一過性の摂餌量の増加は、その後対照群との差がみられなかったことから本薬投与に関連するものではないと判断した。

離乳時まで観察した出生児の生後0日の生児数、体重及び性比、その後の発育及び死亡率には異常はみられなかった。

##### 4) 試験成績のまとめ

ラットの周産期及び授乳期にリバピリンの0.1, 0.3及び1.0 mg/kgを強制経口投与したが、母動物及び出生児に本薬投与による異常は認められなかった。従って、本試験の母動物の一般毒性及び生殖毒性並びに出生児に対する無毒性量は、いずれも1.0 mg/kgと判断した。

表二 - 20 ラット周産期及び授乳期投与試験

動物種, 系統, 交配開始時週齢		SD系ラット, 8 ~ 10 週齢			
投与方法, 試験方法		本薬を蒸留水に溶解し, 妊娠 15 日から分娩後 21 日まで強制経口投与した. 母動物は, 全例を自然分娩させ, 離乳時まで出生児を観察した.			
投与量 (mg/kg)		0 (蒸留水)	0.1	0.3	1.0
動物数		25	25	25	25
母動物	死亡数	0	1 <sup>a)</sup> (分娩後 4 日)	0	0
	一般状態				
	体重				
	摂餌量				(妊娠15-16日)
	妊娠期間 (日)	21.6	21.6	21.6	21.6
	着床痕数 (一腹平均)	12.0	12.7	12.9	13.2
	剖検				
出生児	産児数 (一腹平均)	11.5	12.3	12.6	12.4
	生後 0 日 生児数 (一腹平均)	11.4	12.3	12.4	12.4
	死亡率 (% , 一腹平均)				
	生後 0 日 ~ 生後 4 日 <sup>b)</sup>	1.7	1.7	3.9	0.6
	生後 0 日 ~ 離乳時 <sup>c)</sup>	1.7	2.0	4.2	0.9
	体重 (g, 一腹平均)				
	生後 0 日	6.6	6.5	6.5	6.6
	離乳時	49.1	48.1	49.2	49.3
	生後 0 日 性比 (% , / + )	48.6	47.0	52.4	51.0
面正向反射, 聴覚驚愕反射, 空中落下正向反射, 瞳孔反射					
離乳時の剖検					
無毒性量	母動物の一般毒性: 1.0 mg/kg, 母動物の生殖毒性: 1.0 mg/kg 出生児: 1.0 mg/kg				

: 特記すべき所見なし. : 増加

a): 死亡前の一般状態では円背位, 体温低下及び立毛, 剖検では頸部リンパ節腫大, 腸管うっ血及び腹水がみられた.

b): 生後 4 日までの死亡率 = [(生後 0 日生児数 - 生後 4 日生児数) / 生後 0 日生児数] × 100

c): 離乳時までの死亡率 = [(生後 0 日生児数 - 離乳時生児数) / 生後 0 日生児数] × 100

## (5) 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

先に実施したラット器官形成期投与試験（本資料概要 241 頁）及びラット周産期及び授乳期投与試験（本資料概要 247 頁）では、出生児の離乳後の諸検査を行っていなかったため、ICH ガイドラインに準拠し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を実施した。

### 1) 試験方法

SD系妊娠ラット（1群25匹）に0.1、0.3及び1.0 mg/kgを妊娠6日から分娩後20日まで強制経口投与した。母動物は全例を自然分娩させ、離乳まで出生児を哺育させた。出生児については各種検査を行うとともに、性成熟に至るまで飼育した後、生殖能力を評価するために交配させた。F<sub>1</sub>母動物は全例を自然分娩させ、生後4日までF<sub>2</sub>出生児を哺育させた。

### 2) 投与量設定根拠

ラット器官形成期投与試験（0.3、1.0及び10 mg/kg、本資料概要241頁）では、1.0 mg/kg以上の投与群で形態異常の増加がみられたが、ラット周産期及び授乳期投与試験（0.1、0.3及び1.0 mg/kg、本資料概要247頁）では何等変化はみられなかったことから、器官形成期から離乳時まで投与する本試験の投与量は、最高用量を1.0 mg/kgとし、以下公比約3で0.3及び0.1 mg/kgを設定した。

### 3) 試験成績

結果は表二 - 21 に示した。

F<sub>0</sub>母動物では、一般状態、体重、摂餌量、分娩状態、妊娠期間及び剖検に異常はみられなかった。

F<sub>1</sub>出生児では、生後0日の出生児数、体重及び性比、身体発達、感覚機能、反射、行動及び生存率に異常はみられなかった。1.0 mg/kg群では無尾、体躯短小及び短尾、後肢歩行異常及び腰椎欠損が各々1例にみられた。脊椎異常は先に実施したラット器官形成期投与試験でもみられており、本薬の器官形成期投与によるものと判断された。F<sub>1</sub>出生児の生殖能力にはいずれの群においても異常はみられなかった。

F<sub>2</sub>出生児では、産児数、生後0日生児数、体重、性比、一般状態及び剖検には異常はみられなかった。出生時から生後4日までの生存率（生後4日生児数/産児数）は93.9%であり、対照群（99.1%）との間に有意差がみられたが、当該施設の対照群の背景値（91.3～99.3%）の範囲内であること、F<sub>2</sub>出生児の生後0日、0～1日及び1～4日生存率並びに出生児体重には異常はみられないこと、また、F<sub>1</sub>出生児の生存率には何等異常はみられないことから、本薬投与に関連するものではないと判断した。

#### 4) 試験成績のまとめ

ラットの器官形成期から授乳期までリバピリンの 0.1, 0.3 及び 1.0 mg/kg を強制経口投与した。その結果, 1.0 mg/kg 群で F<sub>1</sub> 出生児の 3 例に脊椎異常がみられたが, 他に F<sub>1</sub> 出生児の異常はみられず, F<sub>0</sub> 母動物及び F<sub>2</sub> 出生児にも異常はみられなかった。

以上の結果から, 本試験の母動物の一般毒性及び生殖毒性に対する無毒性量は 1.0 mg/kg, F<sub>1</sub> 出生児の発生に対する無毒性量は 0.3 mg/kg, F<sub>1</sub> 出生児の生殖能力に対する無毒性量は 1.0 mg/kg と判断した。

表二 - 21 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 (その 1)

動物種, 系統, 投与開始時週齢		SD系ラット, 13 週齢			
投与方法, 試験方法		本薬を注射用水に溶解して, 妊娠6日から分娩後20日まで強制経口投与した。母動物は全例を自然分娩させ, 離乳まで出生児を哺育させた。出生児は生後 4 日に 1 腹雌雄各 4 匹, 離乳時に 1 群雌雄各 25 匹を選抜し, 性成熟に至るまで飼育した後, 生殖能力を評価するために交配させた。F <sub>1</sub> 母動物は全例を自然分娩させ, 生後 4 日まで F <sub>2</sub> 出生児を哺育させた。			
投与量 (mg/kg)		0 (注射用水)	0.1	0.3	1.0
動物数		24	23	25	25
F <sub>0</sub> 母動物	死亡数	0	0	0	0
	一般状態				
	体重				
	摂餌量				
	分娩状態				
	妊娠期間 (日, 平均)	21.6	21.7	21.7	21.9
	着床痕数 (一腹平均)	16.6	16.0	15.7	16.1
	生存児を出産した母動物数	24	23	23	25
	剖検				
F <sub>1</sub> 出生児	産児数 (一腹平均)	15.8	15.3	15.2	15.2
	生後 0 日生児数 (一腹平均)	15.6	15.1	15.0	14.8
	生存率 (% , 一腹平均)				
	生後 0 日生児数 / 産児数	98.8	99.1	98.6	97.4
	生後 4 日生児数 / 産児数	97.3	96.1	92.4	96.4
	離乳時生児数 / 生後 4 日生児数	99.0	98.8	98.4	98.5
	生後 0 日性比 (% , / + )	55.2	51.9	56.4	50.8
	体重 (g)				
	生後 1 日 ( / )	6.9 / 6.5	7.1 / 6.7	7.0 / 6.5	7.1 / 6.6
	離乳時 ( / )	53.8 / 50.2	51.9 / 49.7	51.7 / 49.9	53.1 / 50.1
	身体発達, 感覚機能, 反射及び行動 <sup>a)</sup>				
性周期					
一般状態, 剖検 (例数)				無尾 (1), 体躯短小・短尾 (1), 後肢歩行異常・腰椎欠損 (1)	

: 特記すべき所見なし。

a): 耳介展開, 眼瞼開裂, 膈開口, 陰茎亀頭と包皮の分離, 空中落下正向反射, 聴覚性驚愕反射, 自発運動量, Biel-Maze

表二 - 21 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 (その2)

投与量 (mg/kg)		0 (注射用水)	0.1	0.3	1.0
F <sub>1</sub> 出生児	交尾率 <sup>a)</sup> [%, (例数)]	100 (22/22)	100 (25/25)	96.0 (24/25)	91.7 (22/24)
	授精率 <sup>b)</sup> (%)	81.8	100	91.7	90.9
	交尾率 <sup>a)</sup> [%, (例数)]	100 (25/25)	100 (25/25)	100 (25/25)	100 (24/24)
	妊娠率 <sup>c)</sup> (%)	88.0	100	92.0	91.7
	交尾確認までの日数 (日, 平均)	3.2	2.6	3.1	4.8
	妊娠期間 (日, 平均)	21.9	21.7	21.9	22.0
	分娩状態				
	着床痕数 (一腹平均)	14.8	14.4	14.2	15.3
	生存児を出産した母動物数	20	25	22	22
	剖検				
F <sub>2</sub> 出生児	産児数 (一腹平均)	14.2	13.7	13.4	14.5
	生後 0 日生児数 (一腹平均)	14.0	13.6	13.2	14.0
	生存率 (% , 一腹平均)				
	生後 0 日生児数 / 産児数	99.1	99.8	98.6	97.0
	生後 1 日生児数 / 生後 0 日生児数	100.0	98.0	99.4	98.6
	生後 1 日生児数 / 生後 4 日生児数	100.0	99.4	97.6	98.2
	生後 4 日生児数 / 産児数	99.1	97.3	95.6	93.9**
	体重 (g, 一腹平均)				
	生後 1 日 ( / )	7.4 / 6.9	7.2 / 6.8	7.4 / 7.1	7.3 / 6.9
	生後 4 日 ( / )	10.7 / 10.2	10.6 / 10.1	10.7 / 10.1	10.5 / 9.9
生後 0 日性比 (% , / + )	55.7	49.5	49.0	52.1	
一般状態, 剖検					
無毒性量	母動物の一般毒性: 1.0 mg/kg, 母動物の生殖毒性: 1.0 mg/kg F <sub>1</sub> 出生児の発生: 0.3 mg/kg, F <sub>1</sub> 出生児の生殖能力: 1.0 mg/kg				

: 特記すべき所見なし.

\*\* : p<0.01 (Kruskal-Wallis test)

a) : 交尾率 = (交尾確認動物数 / 交配に用いた動物数) × 100

b) : 授精率 = (1例以上の雌を妊娠させた雄動物数 / 交配に用いた雄動物数) × 100

c) : 妊娠率 = (妊娠動物数 / 交配に用いた雌動物数) × 100

## (6) マウス精巣及び精子への影響

マウス 90 日間強制経口投与がん原性用量設定試験（本資料概要 288 頁）で精巣への影響が認められたため、その回復性及び無毒性量を検討するために以下の試験を実施した。

### 1) マウス精巣及び精子への影響及びその回復性の検討

ICR 系雄マウス（1 群 50 ～ 70 匹）に 35 及び 75 mg/kg を 6 ヶ月間又は 150 mg/kg を 3 ヶ月間強制経口投与した。精巣への影響及びその回復性を経時的に観察するために、投与 1 及び 2（対照群及び 150 mg/kg 群のみ）、3、4.5、6、9 及び 12 ヶ月目に各投与群の 10 匹を屠殺し、血清中ホルモンの測定、精子検査、精巣及び精巣上体の重量測定及び病理組織学的検査を実施した。

#### ① 投与量設定根拠

マウス 90 日間強制経口投与がん原性用量設定試験（35、75、150、300、600 mg/kg、本資料概要 288 頁）において、150 mg/kg 以上の投与群で精巣の精上皮の変性及び精巣上体の精子減少がみられ、300 mg/kg 以上の投与群では死亡又は切迫屠殺例がみられたことから、同試験の 150 mg/kg を最高用量とし、以下同様に 75 及び 35 mg/kg を設定した。

#### ② 試験成績

結果は表二 - 22 に示した。

150 mg/kg 群に身づくろいの減少を示す粗毛が投与期間中継続して観察された。同群では投与 1 週目に一過性の体重減少がみられたが、投与 2 週目には回復した。その他、対照群を含む各投与群の 2 ～ 4 例が散発的に死亡又は全身状態悪化により切迫屠殺されたが、いずれも誤投与に起因するものであった。

血清 FSH、LH 及びテストステロン濃度に変化は認められなかった。

精子検査では、精巣の精子細胞数及び精細管直径、精巣上体の精子濃度、精子形態及び精子運動性を観察した。その結果、35 mg/kg 以上の投与群で精子細胞数の減少及び精子形態異常発生率の増加がみられた。また、個体間の差が大きく統計学的に有意差はみられなかったが、運動精子率も減少していると考えられた。これらの変化は、35 及び 75 mg/kg 群では投与 3 ヶ月目、150 mg/kg 群では投与 1 ヶ月目（いずれも投与後最初の検査日）からみられたが、35 及び 75 mg/kg 群では休薬 3 ヶ月目、150 mg/kg 群では休薬 1.5 ヶ月目（いずれも休薬後最初の検査日）には回復した。また、150 mg/kg 群では投与 2 ヶ月目から精細管径の縮小もみられたが、休薬 1.5 ヶ月目には回復した。精巣上体の精子数には異常は認められなかった。

臓器重量では、150 mg/kg 群で投与 2 ヶ月目から精巣重量の減少がみられたが、休薬 1.5 ヶ月目には回復した。投与期間中の精巣上体重量に変化は認められなかった。

精巣及び精巣上体の病理組織学的検査では、75 mg/kg 群では投与 3 ヶ月目（投与後最初の検査日）、150 mg/kg 群では投与 2 ヶ月目から精上皮の空胞化がみられ、150 mg/kg 群では投

与 3 ヶ月目に精上皮の菲薄化もみられたが、いずれも休薬 3 及び 1.5 ヶ月目（休薬後最初の検査日）には回復した。なお、投与期間中に 75 mg/kg 群の投与 3 ヶ月目及び 150 mg/kg 群の投与 2, 3 ヶ月目に精上皮の壊死がみられたが、極軽度ないし軽度の変化が 1 ~ 2 例のみであり、本薬投与との関連性は明らかではなかった。

### ③ 試験成績のまとめ

雄マウスにリバピリンの 35 及び 75 mg/kg を 6 ヶ月間、150 mg/kg を 3 ヶ月間強制経口投与した。その結果、35 mg/kg 以上の投与群で精子細胞数及び運動精子率の減少、精子形態異常発生率の増加、75 mg/kg 以上の投与群では精上皮の空胞化又は菲薄化が認められた。

以上の結果から、本試験の無毒性量は 35 mg/kg 未満と判断された。しかし、いずれの変化も休薬後 1.5 ないし 3 ヶ月目（精子形成の 1 又は 2 サイクルに相当）には回復し、可逆性の変化であることが確認された。

表二 - 22 マウス精巣及び精子への影響及びその回復性の検討 (その1)

動物種, 系統, 週齢, 性, 体重	ICR系マウス, 約7週齢, 約25 ~ 30 g				
投与経路, 投与期間	本薬を蒸留水に溶解して, 3又は6ヵ月間強制経口投与した.				
投与量 (mg/kg)	0 (蒸留水)	35	75	150	
動物数 <sup>a)</sup>	70	50	50	70	
死亡・切迫屠殺例数	2 <sup>b)</sup>	3 <sup>b)</sup>	4 <sup>b)</sup>	4 <sup>b)</sup>	
一般状態				粗毛	
体重				減少 (投与1週)	
血清ホルモン濃度 <sup>c)</sup>					
<b>精子検査</b>					
<b>精巣:</b>					
精子細胞数	1ヵ月	1.017	測定せず	測定せず	0.635*
(10 <sup>8</sup> /精巣g)	2ヵ月	1.242	測定せず	測定せず	0.728*
	3ヵ月	1.439	1.258*	1.172*	1.068*
	4.5ヵ月	1.338	1.062*	0.936*	1.276
	6ヵ月	1.521	1.043*	0.947*	1.487
	9ヵ月	1.375	1.337	1.356	1.310
	12ヵ月	1.410	1.418	1.034*	1.500
精細管径	1ヵ月	0.258	測定せず	測定せず	0.268
(mm)	2ヵ月	0.275	測定せず	測定せず	0.252*
	3ヵ月	0.271	0.277	0.264	0.256
	4.5ヵ月	0.263	0.263	0.264	0.269
	6ヵ月	0.285	0.270	0.274	0.276
	9ヵ月	0.276	0.268	0.285	0.271
	12ヵ月	0.264	0.270	0.259	0.270
<b>精巣上体:</b>					
精子濃度	1ヵ月	12.5	測定せず	測定せず	13.3
(10 <sup>6</sup> /mL)	2ヵ月	16.3	測定せず	測定せず	14.6
	3ヵ月	15.2	17.2	16.5	16.6
	4.5ヵ月	12.5	16.8	19.3*	17.0*
	6ヵ月	12.7	12.0	12.1	10.7*
	9ヵ月	14.5	14.4	14.5	16.9
	12ヵ月	12.4	12.4	12.6	14.9
精子形態	1ヵ月	2.6	測定せず	測定せず	30.4*
(形態異常発生率%)	2ヵ月	3.1	測定せず	測定せず	44.2*
	3ヵ月	1.7	18.4*	29.3*	37.5*
	4.5ヵ月	2.5	24.7*	41.0*	3.1
	6ヵ月	3.7	9.3*	10.7*	4.7
	9ヵ月	2.7	2.3	2.9	4.2
	12ヵ月	2.9	2.0	3.5	4.3
精子運動性	1ヵ月	42.0	測定せず	測定せず	36.8
(運動精子率%)	2ヵ月	36.7	測定せず	測定せず	26.4
	3ヵ月	44.9	37.5	35.4	34.2
	4.5ヵ月	55.8	47.0	42.4*	54.5
	6ヵ月	38.9	44.1	42.4	49.9
	9ヵ月	48.4	44.3	48.3	49.2
	12ヵ月	33.3	41.3	30.1	39.9

: 休業期間; 35及び75 mg/kg 群は6ヵ月間投与後, 150 mg/kg 群は3ヵ月間投与後休業した.

\*: p<0.05 (Mann-Whitney U test)

-: 特記すべき異常なし.

a): 投与1及び2 (対照群及び150mg/kgのみ), 3, 4.5, 6, 9及び12ヵ月目に各10匹を屠殺し検査した.

b): いずれも誤投与による.

c): 投与1, 2, 3, 4.5, 6, 9及び12ヵ月にFSH, LH, テストステロンを測定

表二 - 22 マウス精巣及び精子への影響及びその回復性の検討 (その2)

投与量 (mg/kg)	0 (蒸留水)	35	75	150		
<b>臓器重量<sup>a)</sup></b>						
精巣	1ヵ月 (g)	0.2197	測定せず	測定せず	0.2378	
	(%体重)	0.6575			0.6683	
	2ヵ月 (g)	0.2498	測定せず	測定せず	0.2189	
	(%体重)	0.6800			0.6004	
	3ヵ月 (g)	0.2417	0.2435	0.2416	0.2129	
	(%体重)	0.6667	0.6791	0.6707	0.5730*	
	4.5ヵ月 (g)	0.2308	0.2582	0.2413	0.2332	
	(%体重)	0.6053	0.6904	0.6643	0.5844	
6ヵ月 (g)	0.2431	0.2471	0.2422	0.2461		
(%体重)	0.6340	0.6523	0.6403	0.6308		
9ヵ月 (g)	0.2524	0.2584	0.2549	0.2646		
(%体重)	0.6135	0.6428	0.6205	0.6693		
12ヵ月 (g)	0.2194	0.2179	0.2278	0.2427		
(%体重)	0.5399	0.5708	0.5579	0.5657		
<b>病理組織学的検査<sup>a)</sup></b>						
精巣 (精上皮) : 空胞化	1ヵ月	0/10	観察せず	観察せず	1/10	
	2ヵ月	0/10	観察せず	観察せず	6/10*	
	3ヵ月	1/10	2/10	5/10	5/10	
	4.5ヵ月	1/10	0/10	3/10	2/10	
	6ヵ月	0/10	1/10	3/10	1/10	
	9ヵ月	0/10	3/10	1/10	2/9	
	12ヵ月	2/8	0/7	2/6	0/6	
	菲薄化	1ヵ月	0/10	観察せず	観察せず	0/10
		2ヵ月	0/10	観察せず	観察せず	0/10
		3ヵ月	0/10	0/10	0/10	5/10*
		4.5ヵ月	0/10	1/10	0/10	0/10
		6ヵ月	0/10	0/10	1/10	1/10
9ヵ月		0/10	2/10	0/10	0/9	
12ヵ月		3/8	0/7	1/6	0/6	
壊死	1ヵ月	0/10	観察せず	観察せず	0/10	
	2ヵ月	0/10	観察せず	観察せず	2/10	
	3ヵ月	0/10	0/10	1/10	1/10	
	4.5ヵ月	0/10	0/10	0/10	1/10	
	6ヵ月	0/10	0/10	0/10	0/10	
	9ヵ月	0/10	0/10	0/10	0/9	
	12ヵ月	1/8	0/7	1/6	0/6	
回復性試験の結論	休薬 1.5 ~ 3 ヶ月 (精子形成の 1 ~ 2 サイクルに相当) で完全に回復した					
無毒性量	< 35 mg/kg					

: 休薬期間; 35 及び 75 mg/kg 群は 6 ヶ月間投与後, 150 mg/kg 群は 3 ヶ月間投与後休薬した.

\* : p<0.05 (Mann-Whitney U test)

a) : 精巣, 精巣上体のみ測定又は観察

## 2) マウス 3 ヶ月間低用量投与による精子への影響

先に実施したマウス精巣への影響及びその回復性検討試験では、低用量群（35 mg/kg, 3 ヶ月間投与）から精子検査で精子細胞数の減少及び精子形態異常発生比率の増加がみられた。本試験では、より低用量（1, 15, 35 及び 75 mg/kg）を ICR 系雄マウス（1 群 15 匹）に 3 ヶ月間強制経口投与して、マウス精子に対する無毒性量を検討した。

### ① 投与量設定根拠

マウス精巣への影響及びその回復性の検討（35, 75, 150 mg/kg, 3 ~ 6 ヶ月間強制経口投与, 本資料概要 252 頁）で 35 mg/kg を 3 ヶ月間強制経口投与した結果、精子細胞数の減少及び精子形態異常比率の増加がみられた。本試験では無毒性量を求めるため、高用量の 2 群を先の試験の低中用量群と同じ 75 及び 35 mg/kg とし、以下 15 及び 1 mg/kg を設定した。

### ② 試験成績

結果は表二 - 23 に示した。

投与 3 週目に 75 mg/kg 群の 1 例が死亡したが、頸部に腫張がみられており、誤投与によるものと考えられた。

一般状態、体重及び摂餌量には本薬投与による異常はみられなかった。

臓器重量（精巣及び精巣上体）では、75 mg/kg 群の精巣上体の絶対重量が対照群に比べて約 11% 低値を示し統計学的に差がみられたが、相対重量には有意差は認められなかった。精巣重量には異常はみられなかった。

精子検査は、精巣の精子細胞数、精巣上体尾部の精子数及び精子形態について観察した。その結果、15 mg/kg 以上の投与群で正常な形態を有する精子の比率減少、35 mg/kg 以上の投与群で精巣の精子細胞数及び精巣上体の精子濃度の減少（精巣の精子細胞数の減少に起因する）がみられた。1 mg/kg 群では、いずれの観察項目にも異常はみられなかった。

### ③ 試験成績のまとめ

マウスにリバビリンの 1, 15, 35 及び 75 mg/kg を 3 ヶ月間強制経口投与して、精巣及び精巣上体への影響を検討した。その結果、15 mg/kg 以上の投与群で正常な形態を有する精子の比率減少、35 mg/kg 以上の投与群で精巣の精子細胞数及び精巣上体の精子数の減少が認められた。

以上の結果から、本試験の無毒性量は 1 mg/kg と判断した。

表二 - 23 マウス 3 ヶ月間低用量投与による精子への影響

動物種, 系統, 週齢, 体重	ICR系マウス, 7 週齢, 26.9 ~ 33.6 g				
投与経路, 投与期間	本薬を滅菌水に溶解し, 91 日間強制経口投与した.				
投与量 (mg/kg)	0 (滅菌水)	1	15	35	75
動物数	15	15	15	15	15
死亡・切迫屠殺例数	0	0	0	0	1 <sup>a)</sup> (3週)
一般状態					
体重					
摂餌量					
臓器重量 <sup>b)</sup>					
精巢上体 (g) (体重比%)	0.112 0.302	0.109 0.297	0.110 0.296	0.106 0.286	0.097** 0.268
精子検査					
精巢: 精子細胞数 (10 <sup>7</sup> /g)	7.6	7.8	6.8	4.6*	3.4*
精巢上体: 精子数 (10 <sup>9</sup> /g)	1.7	1.8	1.7	1.3*	1.1*
精子形態 (正常な精子の比率% <sup>c)</sup> )	77.0	75.2	65.7*	9.0*	3.0*
無毒性量	1 mg/kg				

: 特記すべき所見なし.

\* : p<0.05 (Mann-Whitney U test), \*\* : p<0.01 (Dunnett's)

a) : 誤投与による死亡

b) : 精巢, 精巢上体のみ観察

c) : 正常精子数 / 検査精子総数

#### (7) 参考: ウサギ器官形成期投与予備試験

ニュージーランドホワイト種妊娠ウサギ (1 群 8 ~ 10 匹) にリバビリンの 0.3, 1.0 及び 3.0 mg/kg を妊娠 6 ~ 18 日まで強制経口投与した. 母動物は全例を妊娠 29 日に帝王切開し, 胎児を観察した.

母動物では, 3.0 mg/kg 群で投与初期の体重減少及びその後の体重増加抑制がみられ, 1 例で流産が認められた.

胎児では, 3.0 mg/kg 群で着床後死亡率 (前期及び後期) のわずかな増加, 生存胎児数のわずかな減少, 胎児体重の減少がみられ, 奇形 (主に心血管系) の発生頻度が増加した.

血漿中リバビリン濃度の結果から, いずれの投与群もリバビリンによる暴露が確認された.

## (8) 生殖発生毒性についての考察

### 1) 催奇形性

#### ① 器官形成期投与試験のまとめ

ラット及びウサギを用いてリバピリンの器官形成期投与試験を実施した。ラットでは、リバピリンの0.3, 1及び10 mg/kgを妊娠6～15日に投与した。その結果、10 mg/kg群では主として胎児体重減少、着床後死亡率の増加、骨格及び内臓奇形の増加がみられた。1 mg/kg群では奇形の種類は少なく、その発生頻度も低かった（本資料概要241頁）。ウサギでは、リバピリンの0.1, 0.3, 1及び3 mg/kgを妊娠6～18日に投与した。その結果、3 mg/kgでは着床後死亡率の増加、胎児体重減少及び奇形（主として心血管系）の増加がみられた（本資料概要244及び257頁）。

#### ② 催奇形性のメカニズム及び臨界期

ラット及びウサギ器官形成期投与試験では、リバピリンによる催奇形性の臨界期あるいはそのメカニズムを検討する試験は実施しなかった。しかし、各種動物の異なる妊娠時期にリバピリン又は他のヌクレオシドアナログを投与して、催奇形性のメカニズムを検討した試験が報告されている。即ち、マウスの妊娠10, 11, 12又は13日にリバピリン（10～200 mg/kg）を単回投与した試験では、25 mg/kg以上で奇形（口蓋裂、小眼球、肋骨及び脊椎の異常）がみられた<sup>1)</sup>。リバピリンの感受性は投与用量及び投与時期に依存しており、頭蓋及び四肢を含む全ての骨格に影響がみられた。骨格異常の発生頻度及び種類は用量の増加に伴って増加し、50 mg/kgでは口蓋及び顎の異常、より高用量ではさらに頭蓋、体躯及び四肢の骨格異常がみられた。特定の奇形については個体の発生段階に依存しており、妊娠11日以前には四肢の奇形はみられなかった。発生段階が進むと奇形を誘発する投与量は高くなり、より早期の発生段階ではリバピリンの胚・胎児致死作用の感受性が高くなった。さらに、妊娠11日の母動物にリバピリンを投与して、胚・胎児の総DNA及び蛋白量への影響について検討した。100 mg/kgまでは、胚・胎児への<sup>3</sup>H-thymidineの取込みは用量依存的に抑制され、結果的に胚・胎児への総DNA含量は減少した。しかし、この影響は一過性であり、<sup>3</sup>H-thymidine投与後1日目の生存胎児への取込みは対照群の2倍を示し、回復性が認められた。その他ハムスター及びラットでもリバピリンの単回投与による催奇形性の検討が報告されている<sup>2),3)</sup>。以上、組織の壊死と先天異常の種類の間には明らかな相関があり、奇形の発生頻度、種類及び傾向は母動物に投与したときの胎齢に関連していると推察された。

ラット及びウサギの器官形成期投与試験では、器官形成期の全期間にわたりリバピリンを投与したため、ラットでは特に多くの骨格及び器官が影響を受けた。ウサギで観察された奇形の種類は少なかったが、より高用量ではより多くの奇形を誘発する可能性がある。

催奇形性は、他のヌクレオシドアナログである acyclovir<sup>4)</sup>、vidarabine - phosphate<sup>5)</sup>、5-fluorodeoxyuridine<sup>6)</sup> 及び cytosine arabinoside<sup>7)</sup> でもみられている。

### ③ 催奇形性に関するヒトへのリスクの評価

リバビリンのヒト胎児への影響を明記した報告はないが、動物の催奇形性についての一般的なメカニズム（DNA 合成阻害）は本薬の作用と一致しているため、リバビリンの治療の際にはヒトで催奇形性が生じる可能性を考慮する必要がある。なお、類似薬では多くの動物種で同様な奇形がみられているが、リバビリン及び vidarabine はヒヒ又はアカゲザルに対して催奇形性を示さないとの報告もある<sup>8),9)</sup>。

上記のように、ラット及びウサギの器官形成期投与試験で着床後死亡（胚・胎児致死）率の増加、胎児の発育抑制又は催奇形性が認められた。胎児毒性は、ヒトの推定臨床投与量（ヒトの体重を 60 kg 超とした場合 800 mg/日：13 mg/kg に相当）よりも低い用量である 1.0 mg/kg でも認められたため、添付文書に女性患者への使用上の注意を記載する事とした。

## 2) ラット周産期及び授乳期投与試験と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における最高用量の妥当性

ラット周産期及び授乳期投与試験（本資料概要 247 頁）の最高用量は、先に実施したリバビリンのラット器官形成期投与試験（本資料概要 241 頁）の 1 mg/kg 以上の投与群で胎児に形態異常の増加がみられたことを参考にした。また、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（本資料概要 249 頁）の最高用量は、先に実施したラット周産期及び授乳期投与試験で 1 mg/kg 群に変化はなかったものの、器官形成期投与試験で形態異常の増加がみられたこと、及び投与期間が器官形成期から離乳時まで及ぶことを考慮して、1 mg/kg を設定した。

これらの試験のうち、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では、1 mg/kg 群の F<sub>1</sub> 出生児に無尾、体躯短小・短尾、後肢歩行異常・腰椎欠損が各 1 例にみられた（本資料概要 249 頁）。そのため、1 mg/kg より高い投与量で試験を実施したとしても、骨格異常やその他の奇形の発生頻度が高まり、F<sub>1</sub> 出生児の機能及び行動観察さらに生殖能力の検討に必要な正常な出生児が十分得られないであろうと推定された。従って、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の最高用量である 1 mg/kg は妥当な投与量であると判断した。

上記の様に、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の 1 mg/kg 群で F<sub>1</sub> 出生児の数例に奇形が認められたが、その他の出生児に異常はみられなかった。しかし、分娩後 11 日目のラット母動物に <sup>14</sup>C-リバビリンの 20 mg/kg を単回経口投与して乳汁移行を検討した試験（本資料概要 422 頁）では、乳汁中のリバビリンあるいは代謝物の濃度は、投与後 0.5 ~ 24 時間に血漿中濃度の約 0.6 ~ 1.3 倍を示し、乳汁中濃度推移は血漿中濃度推移とほぼ同様で

あった。このため、本試験の最高用量（1 mg/kg）より高いヒト推定臨床投与量（ヒト体重を 60 kg 超とした場合 800 mg/日：13 mg/kg に相当）では、授乳期間中あるいは離乳後の F<sub>1</sub> 出生児の生存率、体重、発育行動等へ影響する可能性を否定できない。従って、添付文書では授乳婦への使用上の注意を記載することとした。

### 3) 精巣及び精子への影響

雄マウスの 90 日間経口投与がん原性用量設定試験（本資料概要 288 頁）の病理組織学的検査では、150 mg/kg 以上の投与群で精巣上皮の変性、精巣上体の精子の減少及び変性がみられた。しかし、雄ラットの 90 日間経口投与がん原性用量設定試験（本資料概要 288 頁）の病理組織学的検査では、最高用量である 200 mg/kg 群でも精巣及び精巣上体に異常はみられなかった。このため、雄マウスにリバビリンの 35 及び 75 mg/kg を 6 ヶ月間、150 mg/kg を 3 ヶ月間経口投与して精子への影響を検討した（本資料概要 252 頁）。その結果、35 mg/kg 群で精子細胞数の減少、精子運動性の低下、精子形態異常が認められた。追加試験でも、15 mg/kg 群で精子の形態異常が認められ、無毒性量は 1 mg/kg であった（本資料概要 256 頁）。一方、その後実施した雄ラット 30 日間経口投与試験では 160 mg/kg 群で精細管萎縮がみられたが、12 ヶ月間経口投与試験では 90 mg/kg 群（高用量群）でも精巣に異常はみられなかった（本資料概要 189 及び 195 頁）。イヌ反復経口投与試験では、比較的低用量である 30 又は 40 mg/kg から全身状態の悪化あるいは死亡がみられるため、マウス及びラットの試験で用いられた程の高い用量での試験は困難であったが、28 日間投与試験（本資料概要 202 頁）の 30 及び 60 mg/kg 群でごく軽度な精巣の変化が各群 1 例に認められた。30 日間及び 12 ヶ月間投与試験では 30 あるいは 20 mg/kg まで投与しても精巣への影響はみられなかった（本資料概要 208 及び 212 頁）。カニクイザルのリバビリンと IFN- $\gamma$  の 1 ヶ月間併用投与試験では精巣への影響はみられなかった（本資料概要 217 頁）。

上記のように、マウスでは低用量から精子検査や精巣の病理組織学的検査で変化がみられ、他の動物種に比べて精巣に対する感受性が高いと考えられたが、明らかな種差はみられなかった。その原因は明らかではないが、マウスでは 15 mg/kg で精子への影響がみられたため、リバビリンのヒト臨床推定投与量（ヒトの体重を 60 kg 超とした場合 800 mg/日：13 mg/kg に相当）でも精子数の減少及び授胎能の低下を生じる可能性が考えられ、添付文書に男性患者に対する使用上の注意を記載することとした。

#### 引用文献

- 1) Kochhar DM et al., Embryotoxic, teratogenic and metabolic effects of ribavirin in mice. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 52: 99–112 (1980)
- 2) Ferm VH et al., Teratogenic effects of ribavirin on hamster and rat embryos. *Teratology*, 17: 93–102 (1978)

- 3) Kilham L et al., Congenital anomalies induced in hamster embryos with ribavirin. *Science*, 195: 413–414 (1977)
- 4) Stahlmann R et al., Teratogenicity of acyclovir in rats. *Infection*, 15: 261–262 (1987)
- 5) Klug S et al., In vitro and in vivo studies on the prenatal toxicity of five virustatic nucleoside analogues in comparison to aciclovir. *Archives of Toxicology*, 65: 283–291 (1991)
- 6) Knudsen TB et al., Effects of 5-FUdR on mouse limb development. *Teratology*, 19: 35A–36A (1979)
- 7) Kochhar DM et al., Limb development in mouse embryos, II. Reduction defects, cytotoxicity and inhibition of DNA synthesis produced by cytosine arabinoside. *Teratology*, 18: 71–92 (1978)
- 8) Johnson EM et al., The effects of ribavirin on development and reproduction: a critical review of published and unpublished studies in experimental animals. *Journal of the American Collage of Toxicology*, 9: 551–561 (1990)
- 9) Schardein JL et al., The effect of vidarabine on the development of the offspring of rats, rabbits and monkeys. *Teratology*, 15: 231–242 (1977)

#### 4. 遺伝毒性

##### (1) 細菌を用いる復帰突然変異試験

ネズミチフス菌 (TA1535, TA97a, TA98, TA100, TA102) 及び大腸菌 (WP2*uvrA*) を用いて復帰突然変異試験を行った。試験は各菌株を用いて 2 回実施し、結果の再現性を確認した。1 回目の試験は、最高用量を 5000  $\mu\text{g}$ /プレートとし公比  $\sqrt{10}$  で 5 用量を検討した。2 回目の試験は、5000  $\mu\text{g}$ /プレートを最高用量とし公比 2 で 5 用量を検討した。なお、TA97a では生育阻害がみられたため、試験成立の条件を満たすまで計 4 回試験を繰り返した。

成績は表二 - 24 に示した。

TA1535, TA97a, TA98, TA100, TA102 及び WP2*uvrA* の各菌株では、1 及び 2 回目のいずれの試験でも、代謝活性化系の有無にかかわらずリバピリンによる復帰変異コロニー数の増加はみられなかった。TA97a 株では、2 回目の試験で、代謝活性化系非存在下のリバピリン処理群に強い生育阻害がみられ、また、代謝活性化系存在下の溶媒対照群の復帰変異コロニー数が施設背景データ (19 ~ 36 コロニー/プレート) の範囲外であったため、両条件下で 3 回目の試験を実施した。

表二 - 24 細菌を用いる復帰突然変異試験 (その 1)

試験方法			プレート法 (40 ~ 56 時間処理)						
試験回数			1 回目						
代謝活性化系	試験物質	用量 ( $\mu\text{g}$ /プレート)	復帰変異コロニー数/プレート						
			TA1535	TA97a	TA98	TA100	TA102	WP2 <i>uvrA</i>	
無	溶媒対照: 注射用水	0	18	113	19	114	204	25	
	リバピリン	50	16	98	15	116	190	43	
		158	20	98	16	100	198	33	
		500	10	85	14	85	180	35	
		1581	12	55	13	91	187	45	
		5000	14	51	12	68	158	43	
	陽性対照	Sodium azide	5	917	-	-	1445	-	-
		2-Nitrofluorene	5	-	-	490	-	-	-
		9-Aminoacridine	75	-	1189	-	-	-	-
		ENNG	2	-	-	-	-	-	515
		CHP	200	-	-	-	-	1301	-
有	溶媒対照: 注射用水	0	13	136	24	114	286	38	
	リバピリン	50	17	129	26	121	266	41	
		158	15	134	22	103	249	43	
		500	16	135	21	105	286	39	
		1581	19	119	23	85	256	40	
		5000	18	111	21	82	244	43	
	陽性対照	2-AA	2.5	174	1062	927	1533	-	-
			5	-	-	-	-	1018	-
20			-	-	-	-	-	677	

- : 実施せず 平均值 (n = 3)  
 ENNG : N-Ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine, CHP : Cumene hydroperoxide, 2-AA : 2-aminoanthracene.

3回目の試験でも代謝活性化系非存在下で溶媒対照群のコロニー数が背景データ（54～124コロニー/プレート）の範囲外であったため、同条件下で4回目の試験を実施した。1回目と3又は4回目のいずれの試験においても、代謝活性化系の有無にかかわらず、リバビリンによる復帰変異コロニー数の増加はみられなかった。

以上、代謝活性化系の有無にかかわらず、リバビリンに復帰突然変異の誘発性は認められなかった。

表二 - 24 細菌を用いる復帰突然変異試験（その2）

試験方法			プレート法（40～56時間処理）								
試験回数			2回目					3回目	4回目		
代謝活性化系	試験物質	用量 ( $\mu\text{g}/\text{プレート}$ )	復帰変異コロニー数/プレート								
			TA 1535	TA 97a	TA 98	TA 100	TA 102	WP2 <i>uvrA</i>	TA 97a	TA 97a	
無	溶媒対照：注射用水	0	9	55	18	104	202	18	21	123	
	リバビリン	156	-	13	-	-	-	-	10	122	
		313	14	3	17	89	187	24	6	100	
		625	14	5	18	84	186	22	4	51	
		1250	8	2	15	69	184	19	6	60	
		2500	8	8	18	73	174	27	18	37	
		5000	8	-	17	70	196	26	-	-	
	陽性対照	Sodium azide	5	978	-	-	1546	-	-	-	-
		2-Nitrofluorene	5	-	-	500	-	-	-	-	-
		9-Aminoacridine	75	-	701	-	-	-	520	1654	-
		ENNG	2	-	-	-	-	293	-	-	-
		CHP	200	-	-	-	-	1313	-	-	-
	有	溶媒対照：注射用水	0	13	39	38	100	284	25	126	-
リバビリン		313	16	36	27	92	246	20	132	-	
		625	10	32	30	80	254	26	116	-	
		1250	16	38	28	72	273	25	140	-	
		2500	11	37	18	63	256	26	119	-	
		5000	12	30	30	71	252	25	139	-	
陽性対照		2-AA	2.5	166	523	1106	1606	-	-	1001	-
			5	-	-	-	-	989	-	-	-
	20		-	-	-	-	-	449	-	-	

- : 実施せず

平均値 (n=3)

ENNG : N-Ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine, CHP : Cumene hydroperoxide, 2-AA : 2-aminoanthracene.

(2) ヒト末梢血リンパ球を用いる染色体異常試験

ヒトリンパ球を用いて *in vitro* 染色体異常試験を行った。試験は 2 回実施し、結果の再現性を確認した。1 回目の 4 時間処理では陰性であったため、2 回目の代謝活性化系の非存在下では処理時間を 19 時間とした。4 時間処理では 5000  $\mu\text{g/mL}$  を最高用量として公比 2 の 4 用量で検討した。19 時間処理では細胞毒性がみられたため、観察可能な 78.5 ~ 625  $\mu\text{g/mL}$  の 4 用量で試験を実施した。

成績は表二 - 25 に示した。

代謝活性化系の有無にかかわらず、1 及び 2 回目の試験とも染色体異常細胞の増加は認められなかった。

表二 - 25 ヒト末梢血リンパ球を用いる染色体異常試験

試験回数	代謝活性化系	処理時間 <sup>a)</sup>	試験物質	用量 ( $\mu\text{g/mL}$ )	観察細胞数	染色体異常細胞の出現頻度(%)	
						ギャップを除く	ギャップを含む
1 回目	無	4 時間	陰性対照：培地	0	200	0.5	1.0
			溶媒対照：注射用水	0	200	0.5	1.0
			リバピリン	625	200	0.0	0.5
				1250	200	0.5	1.0
				2500	200	0.0	0.5
	5000	200		0.0	1.0		
	陽性対照：MMC	1.5	50	62.0**	62.0		
	有	4 時間	陰性対照：培地	0	200	0.0	0.0
			溶媒対照：注射用水	0	200	0.0	0.0
			リバピリン	625	200	0.0	0.0
1250				200	0.0	0.0	
2500				200	0.0	0.0	
5000	200	0.5		1.0			
陽性対照：CP	20	50	28.0**	28.0			
2 回目	無	19 時間	陰性対照：培地	0	200	1.0	1.0
			溶媒対照：注射用水	0	200	0.5	0.5
			リバピリン	78.5	200	0.5	0.5
				157	200	0.0	0.0
				313	200	1.5	1.5
	625	136		0.7	2.2		
	陽性対照：MMC	0.3	50	40.0**	42.0		
	有	4 時間	陰性対照：培地	0	200	0.0	0.0
			溶媒対照：注射用水	0	200	0.5	0.5
			リバピリン	625	200	0.0	0.5
1250				200	0.0	0.0	
2500				200	0.0	0.0	
5000	200	0.5		0.5			
陽性対照：CP	30	50	44.0**	44.0			

MMC : Mitomycin C, CP : Cyclophosphamide

(プレート数：2枚)

\*\* :  $p < 0.01$  (Fisher's exact test)

a) : 標本作製は、いずれも処理開始 22 時間後に行った。

### (3) マウス小核試験

ICR系マウス（1群雄5匹）を用いて小核試験を実施した。投与方法は2日間反復強制経口投与とし、最終投与の24及び48時間後に骨髓塗抹標本作製した。用量は、予備試験の結果に基づき設定した。即ち、雌雄マウスに20、200及び2000 mg/kgを2日間投与した結果、投与48時間後の2000 mg/kg群に強い骨髓細胞の増殖抑制（多染性赤血球比率の低下）がみられた。このため、本試験では、最高用量を投与24時間後の標本作製では2000 mg/kg、48時間後では630 mg/kgとし、以下、公比 $\sqrt{10}$ で増殖抑制のみられなかった20 mg/kgまで設定した。なお、予備試験で骨髓細胞の増殖抑制に雌雄で差がみられなかったことから、雄のみで本試験を実施した。

成績は表二 - 26 に示した。

最終投与24時間後に骨髓塗抹標本作製した系では2000 mg/kg群で、48時間後の系では63及び630 mg/kg群で小核を有する多染性赤血球出現頻度の増加がみられた。

以上、リバピリンはマウス骨髓において小核を有する多染性赤血球出現頻度の増加を誘導した。

表二 - 26 マウス小核試験

動物種, 系統, 週齢, 性, 体重		ICR系マウス, 7週齢, 21~34g							
使用動物数		5匹/群							
投与経路(投与方法)		強制経口投与(1日1回, 2日間)							
標本染色方法		Giemsa染色							
標本作製時期		最終投与の24及び48時間後							
陽性対照		Mitomycin C							
試験群構成		溶媒対照 <sup>a)</sup>	陽性対照	リバピリン					
投与量(mg/kg)		0	2	20	63	200	630	2000	
標本作製時期	24時間	小核を有する多染性赤血球出現頻度(%)	0.25	7.40*	0.31	0.41	0.34	0.41	0.95*
		全赤血球に対する多染性赤血球出現頻度(%)	56.3	45.1*	51.4	47.3	42.3*	35.6*	18.5*
	48時間	小核を有する多染性赤血球出現頻度(%)	0.23	(実施せず)	0.30	0.42*	0.33	0.49*	(実施せず)
		全赤血球に対する多染性赤血球出現頻度(%)	58.4		57.8	55.5	47.1*	35.3*	

\* : p<0.05 (Kastenbaum and Bowman method)

a) : 注射用水

#### (4) マウスリンパ腫細胞を用いる遺伝子突然変異試験

マウスリンパ腫細胞由来の L5178Y *tk*<sup>+/-</sup>細胞を用いて，thymidine kinase (*tk*) 遺伝子座における遺伝子突然変異試験を行った．

試験は 2 回実施し，結果の再現性を確認した．初回の試験では 10 mg/mL を最高用量として 0.156 mg/mL までの 10 濃度で細胞を処理し，細胞生存率を基に，高濃度側から 5 濃度を選択した．2 回目の試験では 1 回目の結果を基に，より低用量を含む 8 濃度を選択した．

成績は表二 - 27 に示した．

代謝活性化系非存在下の 1 回目では，0.156 ~ 5 mg/mL の 5 用量とも突然変異頻度の明らかな増加が認められた．しかし，その程度は 0.156 ~ 3.75 mg/mL で陰性対照の平均値（溶媒対照及び無処置の平均値）の約 5 倍とほぼ同じであり，より高用量の 5 mg/mL では低下した．用量反応性を確認するためにより低用量から検討した 2 回目の試験（0.0313 ~ 4 mg/mL）では，最低用量から用量依存的な突然変異頻度の増加がみられたが，その程度は 0.25 mg/mL で最も高く（陰性対照平均値の約 9 倍），より高用量では低下した．

ラット肝 S9 mix を添加した代謝活性化系存在下（1 回目：2.5 ~ 10 mg/mL，2 回目：0.0781 ~ 10 mg/mL）では，突然変異頻度の明らかな増加が 1 回目の 3.75 及び 7.5 mg/mL，2 回目の 10 mg/mL でみられたが，散発的であり，いずれも代謝活性化系非存在下に比べて突然変異頻度の程度は低かった．

以上，リバビリンはマウスリンパ腫細胞の *tk* 遺伝子座に突然変異頻度の増加を誘導した．代謝活性化系非存在下では低用量から用量依存的な増加がみられたが，増加の程度は 0.156 ~ 3.75 mg/mL で同様な値を示した．突然変異頻度の程度は，S9 mix による代謝活性化系の添加により減弱した．

表二 - 27 マウスリンパ腫細胞を用いる遺伝子突然変異試験

試験回数	代謝活性化系	試験物質	用量	試験成績	
				相対増殖率(%)	突然変異頻度 (×10 <sup>-6</sup> )
1回目	無	溶媒対照：培地	0	100.0	19.3
			0	100.0	13.2
		無処置	0	71.7	16.3
		リバピリン	0.156 mg/mL	11.3	81.7#
			1.250 mg/mL	10.3	76.9#
			2.500 mg/mL	3.9	79.0#
			3.750 mg/mL	2.3	74.6#
	5.000 mg/mL		2.6	37.7#	
	陽性対照：EMS	0.5 μL/mL	8.4	878.7	
	有	溶媒対照：培地	0	100.0	31.2
			0	100.0	27.1
		無処置	0	136.5	15.7
		リバピリン	2.500 mg/mL	13.5	34.1
			3.750 mg/mL	26.6	59.9#
5.000 mg/mL			19.0	43.0	
7.500 mg/mL			13.0	50.3#	
10.000 mg/mL	10.3		45.9		
陽性対照：DMN	0.3 μL/mL	9.9	323.5#		
2回目	無	溶媒対照：培地	0	100.0	16.7
			0	100.0	18.0
		無処置	0	250.2	15.1
		リバピリン	0.0313 mg/mL	81.0	48.5#
			0.0625 mg/mL	115.1	73.1#
			0.1250 mg/mL	50.7	89.5#
			0.2500 mg/mL	52.8	159.7#
			0.5000 mg/mL	27.6	123.6#
			1.0000 mg/mL	47.2	115.2#
	2.0000 mg/mL		28.4	123.2#	
	4.0000 mg/mL	33.5	105.9#		
	陽性対照：EMS	0.5 μL/mL	47.7	428.4#	
	有	溶媒対照：培地	0	100.0	25.6
			0	100.0	24.6
		無処置	0	85.8	18.9
		リバピリン	0.0781 mg/mL	71.3	45.1
			0.1560 mg/mL	47.7	36.8
			0.3130 mg/mL	65.0	38.5
0.6250 mg/mL			58.0	26.6	
1.2500 mg/mL			50.8	37.9	
2.5000 mg/mL			82.4	40.8	
5.0000 mg/mL	94.7		38.5		
10.0000 mg/mL	31.2		85.5#		
陽性対照：DMN	0.3 μL/mL	11.7	504.8#		

試験条件：ソフトアガー法，試験物質処理：4時間，突然変異発現期間：2日間 平均値 (n=3)

EMS：ethylmethane sulfonate，DMN：dimethylnitrosamine

#：各処理群の突然変異頻度が，溶媒対照及び無処置の平均の1.5倍に $10 \times 10^{-6}$ を加えた値（代謝活性化系非存在下は1回目： $34.5 \times 10^{-6}$ ，2回目： $34.9 \times 10^{-6}$ ，代謝活性化系存在下は1回目： $47.1 \times 10^{-6}$ ，2回目： $44.5 \times 10^{-6}$ ）以上を示した場合に有意な増加とした。

(5) BALB/c 3T3 細胞を用いる細胞形質転換試験

マウス BALB/c 3T3 細胞を用いて、細胞形質転換試験を行った。

試験は 2 回実施し、1 回目の用量は予備試験で 20 ~ 100% の相対生存率を示した 0.75 ~ 60  $\mu\text{g/mL}$  の 5 濃度、2 回目は再現性を確認するために 7.50 ~ 60  $\mu\text{g/mL}$  の 4 用量で実施した。

成績は表二 - 28 に示した。

1 回目の試験では、15  $\mu\text{g/mL}$  で形質転換フォーカス数の有意な増加がみられたが、60  $\mu\text{g/mL}$  では差がみられず、用量依存性は認められなかった。2 回目の試験でも、1 回目と同様 15  $\mu\text{g/mL}$  のみでフォーカス数の有意な増加がみられた。

以上、リバピリンは BALB/c 3T3 細胞に形質転換を誘発した。しかし、形質転換の誘発は 15.0  $\mu\text{g/mL}$  の濃度のみであり、用量依存性は認められなかった。

表二 - 28 BALB/c 3T3 細胞を用いる細胞形質転換試験

試験	試験物質	用量 ( $\mu\text{g/mL}$ )	プレート数	試験成績	
				フォーカス数	(フォーカス数 / プレート)
1 回目	陰性 (溶媒) 対照	0	39	17	(0.44)
	リバピリン	0.75	20	15	(0.75)
		3.75	20	6	(0.30)
		7.50	18	13	(0.72)
		15.00	19	38**	(2.00)
		60.00	20	20	(1.00)
	陽性対照 : MCA	5	20	13	(0.65)
10		20	27**	(1.35)	
2 回目	陰性 (溶媒) 対照	0	36	9	(0.25)
	リバピリン	7.50	20	7	(0.35)
		15.00	20	15**	(0.75)
		30.00	20	8	(0.40)
		60.00	20	3	(0.15)
	陽性対照 : MCA	5	14	47**	(3.36)
		10	16	83**	(5.19)

試験物質処理 ; 24 時間

MCA : 3-methylcholanthrene

\*\* :  $p < 0.01$  (Kastenbaum and Bowman method)

## (6) ラット優性致死試験

SD 系雄ラットを用いて優性致死試験を実施した。

### 1) 試験方法

SD 系雄ラット（1 群 20 匹）にリバピリンの 50, 100 及び 200 mg/kg を 5 日間（1 日 1 回）腹腔内投与した後，8 週間にわたって，1 週間毎に雄 1 匹に対し無処置雌 2 匹を交配させた。雌は交配開始日から 17 日目に全例を屠殺し，卵巣及び子宮を観察した。

### 2) 投与量設定根拠

雄ラット（1 群 5 匹）にリバピリンを 5 日間腹腔内投与した後，雄 1 匹に対し無処置雌 2 匹を交配させた予備試験の結果を参考にした。1 回目の試験では，雄ラットに 250, 300, 350 mg/kg を投与した結果，2, 2 及び 5 例が死亡した。死亡がみられない用量を検討するため，2 回目の試験では雄ラットに 50, 150, 250 mg/kg を投与した結果，再度 250 mg/kg の 1 例が死亡した。250 mg/kg では雌の妊娠率の低下（1 回目：5/10 例，2 回目：3/10 例が妊娠）も認められた。150 mg/kg では死亡はみられず，全例が妊娠した。以上の結果から，本試験では 200 mg/kg を最高用量とし，以下，公比 2 で 100 及び 50 mg/kg を設定した。

### 3) 試験成績

成績は表二 - 29 に示した。

リバピリン投与群では，いずれの観察項目においても本薬投与に関連する変化はみられなかった。生存胚 / 胎児を有する母動物数の減少が 200 mg/kg 群の 2 週目にみられたが，最終投与後 8 週間を通していずれの雌も妊娠させ得なかった雄 1 例が原因と考えられた。また，初期死胚数の増加が 50 及び 200 mg/kg 群の 3 及び 8 週目でみられたが，いずれの週にも用量依存性はなく，また投与後 1 ~ 5 週（優性致死の発生頻度の高い時期）又は 6 ~ 8 週を集計した場合の着床数に対する初期死胚数の比にも用量依存性はないことから，陰性対照群の値が他の週に比べて特に低いことによる偶発的な変動と考えられた。

陽性対照群では，明らかな優性致死作用がみられた。

以上，リバピリンに優性致死の誘発性は認められなかった。

表二 - 29 ラット優性致死試験

動物種, 系統, 週齢, 体重		SD系ラット, : 10~12 週齢, 278~360 g, : 8~10 週齢				
試験方法		リバピリンを蒸留水に溶解して, 雄ラットに5日間(1日1回)腹腔内投与した後, 8週間にわたって, 1週間毎に雄1匹に対し無処置の雌2匹を交配させた. 雌は交配開始日から17日目に全例を屠殺し, 卵巣及び子宮を観察した.				
投与量(mg/kg)		陰性対照 (蒸留水)	陽性対照 (Ethyl methane- sulphonate)	リバピリン		
		0	100	50	100	200
動物数		20	10	20	20	20
死亡・切迫屠殺数		0	0	0	0	0
動物数 (匹/週)		40	20	40	40	40
生存胚/胎児を 有する母動物数 (%)	1週目	35 (88)	10 (50**)	36 (90)	35 (88)	32 (80)
	2週目	39 (98)	0 (0***)	38 (95)	34 (85)	32 (80*)
	3週目	39 (98)	0 (0***)	39 (98)	39 (98)	36 (90)
	4週目	40 (100)	10 (50**)	38 (95)	37 (93)	34 (85)
	5週目	39 (98)	17 (85)	39 (98)	39 (98)	36 (90)
	6週目	37 (93)	17 (85)	38 (95)	37 (93)	37 (93)
	7週目	39 (98)	17 (85)	38 (95)	39 (98)	38 (95)
	8週目	39 (98)	16 (80*)	38 (95)	37 (93)	34 (85)
黄体数/着床数 (1腹平均)	1週目	13.9/12.8	9.8/7.6	14.3/12.9	13.8/11.9	14.1/13.1
	2週目	14.4/13.6	3.0/1.0	14.3/13.6	14.1/13.6	14.0/13.0
	3週目	14.3/13.7	6.0/1.0	14.4/13.4	14.4/13.3	14.0/12.9
	4週目	15.5/14.7	9.2/5.7	14.4/13.9	15.1/14.2	15.2/14.6
	5週目	14.7/14.1	12.6/9.1	14.4/13.7	14.6/13.8	14.5/13.9
	6週目	15.6/14.7	14.1/13.8	14.9/14.3	15.2/13.9	15.1/14.6
	7週目	15.1/14.5	14.8/13.8	15.6/15.2	15.6/14.1	15.2/14.2
	8週目	15.3/14.1	14.7/13.0	15.0/13.7	14.5/13.8	14.6/13.9
初期死胚数 <sup>a)</sup> (総数)	1週目	21	50***†††	17	14	13
	2週目	29	1***c)	23	11†	15†
	3週目	18	2***c)	47***†	18	31***†
	4週目	31	19***†††	34	24	22
	5週目	27	19***†	41	26	21
	6週目	41	14	19*	23*	24*
	7週目	25	23**†	41	37	34
	8週目	18	13	32*	16	32*
後期死胚数 <sup>b)</sup> (総数)	1週目	2	3	3	2	1
	2週目	0	0	0	1	1
	3週目	0	0	0	0	1
	4週目	1	0	1	1	0
	5週目	1	0	1	0	0
	6週目	0	0	0	1	1
	7週目	1	0	0	0	1
	8週目	1	0	4	0	0
初期胚死亡率/着床数	1~5週目	0.048 (126/2651)	0.314 (91/290)	0.063 (162/2563)	0.038 (93/2459)	0.044 (102/2294)
	6~8週目	0.051 (84/1658)	0.074 (50/676)	0.056 (92/1640)	0.048 (76/1574)	0.058 (90/1554)

\*: p<0.05, \*\*: p<0.01, \*\*\*: p<0.001 (妊娠率, 初期死胚数: Chi-square test)  
†: p<0.05, †††: p<0.001 (初期死胚数: Beta-binominal model as adapted by Williams test)  
a): 着床後から器官形成期開始前の胚の死亡総数  
b): 器官形成期開始後の胚の死亡総数  
c): Beta-binominal model as adapted by Williams testでは解析できなかった.

## (7) 遺伝毒性についての考察

リバビリンについて6種の遺伝毒性試験を実施した。それらの試験のなかで細菌を用いる復帰突然変異試験、ヒトリンパ球を用いる染色体異常試験及びラット優性致死試験ではリバビリンの遺伝毒性は陰性であったが、BALB/c 3T3 細胞を用いる細胞形質転換試験、マウスリンパ腫細胞を用いる試験及びマウス小核試験では陽性を示した。

リバビリンには遺伝毒性が認められたが、その発生機序は、以下の理由から直接 DNA に傷害を及ぼすものではないと推定された。即ち、リバビリンは核酸アナログで、その代謝物の一リン酸化体は、GTP 生合成の前駆体である GMP と類似の化学構造を有しているため、inosine monophosphate (IMP) を xanthosine monophosphate (XMP) に変換する酵素である IMP dehydrogenase を阻害し<sup>1)</sup>、細胞内 GTP レベルの低下を引き起こす<sup>2)</sup>。そのため、細胞内核酸レベルの不均衡が生じて、突然変異、染色体異常及び細胞形質転換を含む遺伝学的な変化を引き起こすと報告されている<sup>3)</sup>。また、リバビリンはラット及びヒトの細胞のDNAには取り込まれない(本資料概要 338 頁)。したがって、リバビリンの遺伝毒性は、DNA に直接傷害を引き起こす放射線やアルキル化剤などとは異なり、細胞内核酸レベルの不均衡によるものと推定された。

この様に、リバビリンは DNA を直接傷害する薬剤ではないため、その発がん性については閾値がある<sup>4)</sup>と考えられる。即ち、長期間にわたり高用量が投与された場合は、腫瘍発生の起り得る可能性は否定できないが、DNA を直接傷害する薬剤とは異なり腫瘍が発生しない無影響量が存在すると考えられた。また、以下の様に遺伝毒性試験で陽性を示した濃度あるいは投与量は、いずれも推定臨床投与量あるいはヒト血漿中リバビリン濃度 (Cmax) との比較で安全域が認められている。即ち、マウスリンパ腫細胞を用いる試験では、代謝活性化系のない条件下で 31.3 µg/mL の低濃度から突然変異の頻度増加がみられたが、代謝活性化系の条件下では 2.5 mg/mL まで突然変異の頻度増加がみられなかった。これらの濃度は推定臨床投与量 (400 mg を 1 日 2 回) を反復投与した臨床試験 (日本人) での Cmax 2.75 µg/mL (本資料概要 431 頁) のそれぞれ 11.4 及び 909 倍に相当する。細胞形質転換試験では、15 µg/mL (同 5.5 倍) のみで形質転換フォーカスの増加がみられ、30 及び 60 µg/mL の高濃度 (同 11 及び 22 倍) では認められなかった。マウス小核試験では、63、630 及び 2000 mg/kg (推定臨床投与量 13 mg/kg の 4.8 倍以上) で小核を有する多染性赤血球の増加が認められたが、マウスがん原性試験では 75 mg/kg (同 5.8 倍) までを 18 ヶ月間投与しても腫瘍の発生は認められなかった。

### 引用文献

- 1) Streeter DG et al., Mechanism of action of 1-β-D-ribofuranosyl-1,2,4-triazole-3-carboxamide (Virazole), a new broad-spectrum antiviral agent. Proceedings of the National Academy of Sciences of USA, 70: 1174-1178. (1973)
- 2) Müller WEG et al., Virazole (1-β-D-Ribofuranosyl-1,2,4-triazole-3-carboxamide; a cytostatic agent. Biochemical Pharmacology, 26: 1071-1075 (1977)

- 3) Kunz BA et al., International Commission for Protection Against Environmental Mutagens and Carcinogens, Deoxyribonucleoside triphosphate levels: a critical factor in the maintenance of genetic stability. *Mutation Research*, 318: 1–64 (1994)
- 4) Wiltse JA et al., U.S. Environmental Protection Agency's revised guidelines for carcinogen risk assessment: evaluating a postulated mode of carcinogenic action in guiding dose–response extrapolation. *Mutation Research*, 464: 105–115 (2000)

## 5. がん原性

がん原性試験は、マウス（投与期間：18 ヶ月間）及びラット（投与期間：24 ヶ月間）を用いて実施した。

### (1) マウス 18 ヶ月間強制経口投与がん原性試験

ICR系マウス（1群雌雄各60匹）にリバピリンの20, 40及び75 mg/kgを18 ヶ月間強制経口投与し、がん原性を検討した。対照群は2群（1群雌雄各60匹）を設定し、いずれも蒸留水のみを同様に投与した。

#### 1) 投与量設定根拠

マウス 90 日間強制経口投与用量設定試験（35, 75, 150, 300 及び 600 mg/kg, 本資料概要 288 頁）では、75 mg/kg 以上の投与群で統計学的に有意な赤血球、Hb 及び Ht の減少（貧血）がみられた。さらに 150 mg/kg 以上の投与群では体重増加量の減少（雌雄とも 20 % 以上）がみられ、300 mg/kg 以上の投与群では高い死亡率（300 mg/kg：雄 5/10 例、雌 4/10 例、600 mg/kg：雄 10/10例、雌 9/10例）が認められた。これら死亡例数、体重増加量及び赤血球への影響を考慮した場合、がん原性試験における最大耐量（MTD）は 75 mg/kg であると判断した。従って、本試験の最高用量は 75 mg/kg とし、以下公比約 2 で 40 及び 20 mg/kg を設定した。

#### 2) 試験成績

本試験の成績は表二 - 30 及び表二 - 31 に示した。また、同用量で別途実施した TK 試験の成績は表二 - 32 に示した。

##### ① 死亡率及び生存率

雄では、対照 I 群と対照 II 群との間の死亡例数（Chi-square test 及び Fisher test）及び生存率（Cox's test 及び Gehan-Breslow/Kruskal-Wallis test）に差がなかったため、両群を合算して、リバピリンの各投与群と比較した。その結果、20 及び 40 mg/kg 群の雄では、対照 I 群と対照 II 群を合算した対照群（対照 I+II 群）に比べて、有意な死亡例数の増加及び生存率の減少がみられたが、75 mg/kg 群の雄には死亡例数の有意な増加はみられず、用量依存性は認められなかった。

雌では、対照 I 群と対照 II 群の死亡例数及び生存率に有意差がみられたため、各々の対照群とリバピリン各投与群を比較した。その結果、本薬投与群の死亡例数は、死亡例数の低い対照群（対照 II）と比較した場合には 75 mg/kg 群で有意な増加がみられたが、死亡例数の高い対照群（対照 I）と比較した場合には差はみられなかった。なお、対照 I+II 群と比較した場合、いずれの群にも死亡例数又は生存率に差は認められなかった。

本薬投与群でみられた死亡例数の増加は、本薬投与に関連したものではないと判断した。

## ② 一般状態，体重及び摂餌量

75 mg/kg 群の雄では，試験期間を通じて体重増加抑制がみられた．投与期間終了後の対照群の平均体重との差は 10 % 未満であったが，統計学的に有意差が認められた．75 mg/kg 群の雌では，投与 1 年目まで僅かな体重増加抑制（通常，対照群と比べて 5 % 未満）がみられたが，投与期間終了後の体重には有意差は認められなかった．

一般状態及び摂餌量では，本薬投与による異常はみられなかった．

## ③ 血液学的検査

40 mg/kg 群では，投与初期に Hb 及び Ht の減少がみられたが，18 ヶ月間の投与期間終了時には差はみられなかった．75 mg/kg 群では，試験期間を通じて赤血球数，Hb 及び Ht の減少がみられ，測定日の多くで有意差が認められた．同群では MCV 及び MCH の減少がみられる場合もあった．また，75 mg/kg 群の雄では投与 18 ヶ月目（投与期間終了時），雌では投与 6 ヶ月目に血小板の増加がみられた．

## ④ 臓器重量及び剖検

40 mg/kg 以上の投与群の雄では精巣の絶対及び相対重量の減少，75 mg/kg 群の雌雄では脾臓の絶対及び相対重量の増加がみられた．

剖検では，異常はみられなかった．

## ⑤ 病理組織学的検査

非腫瘍性病変：

75 mg/kg 群では，対照群に比べて，脾臓の髄外造血及び精巣の精子低形成の発生頻度の増加及び精子低形成に関連した精巣上体の精子数の減少がみられた．

腫瘍性病変：

本薬投与に関連した腫瘍性病変の増加は認められなかった．

雄の肝細胞癌，雌の悪性リンパ腫及び子宮の血管肉腫について統計解析した結果<sup>1)</sup>，本薬投与による腫瘍発生の早期化は認められなかった．

## ⑥ 血漿中薬物濃度

別途実施した 4 週間強制経口投与 TK 試験における血漿中リバビリン濃度は，投与 1 日及び 29 日とも用量依存的に増加し，雌雄差及び 29 日間投与による蓄積性は認められなかった．

## 3) 試験成績のまとめ

マウスにリバビリンの 20，40 及び 75 mg/kg を 18 ヶ月間強制経口投与したが，本薬投与による発がん性は認められなかった．

## 引用文献

1) Thomas DG et al., Computers and Biomedical Research, 10:373-381 (1977)

表二 - 30 マウス 18 ヶ月間強制経口投与がん原性試験 (その1)

動物種, 系統, 投与開始週齢, 体重		ICR 系マウス, 6週齢, 25~34g, 19~27g									
投与方法		本薬を蒸留水に溶解し, 18 ヶ月間強制経口投与した.									
投与量 (mg/kg)		対照 I (蒸留水)		対照 II (蒸留水)		20		40		75	
性											
動物数		60	60	60	60	60	60	60	60	60	60
死亡数・切迫屠殺数		23	38	27	24	36	29	37	25	30	34
投与18ヵ月目の生存率 <sup>a)</sup> (%)		65	40	58	63	42	53	42	63	55	44
一般状態											
体重 (g)	52週	39.6	31.5	38.5	31.8	39.4	31.5	39.4	30.9	37.9	29.9**
	78週	40.1	32.2	39.8	33.3	40.2	32.2	39.2	32.4	36.8**	31.9
摂餌量											
血液学的検査											
赤血球 (10 <sup>6</sup> /μL)	1ヵ月	8.22	8.31	8.31	8.10	8.31	8.11	8.13	7.85	7.81*	7.82*
	3ヵ月	8.67	8.46	8.80	8.60	8.95	8.58	8.81	8.48	8.30*	8.50
	6ヵ月	8.33	8.54	8.31	8.36	8.05	8.47	8.42	8.09	7.79	7.92*
	12ヵ月	7.82	7.79	7.78	7.85	8.01	7.92	7.78	7.63	7.23	7.58
	18ヵ月	7.80	7.73	7.54	7.54	7.44	7.18	7.57	7.09	6.09*	6.42*
Hb (g/dL)	1ヵ月	14.6	15.1	14.7	14.7	14.3	14.5	14.0*	13.9**	13.4**	13.8**
	3ヵ月	14.6	14.5	14.6	15.0	14.6	14.6	14.0	14.1	13.4**	13.9*
	6ヵ月	14.4	15.1	14.5	14.8	13.6	14.6	14.1	14.1*	13.1**	13.6**
	12ヵ月	14.7	15.0	14.9	15.1	15.0	14.9	14.4	14.3	13.7*	14.0*
Ht (%)	1ヵ月	42	45	42	44	43	44	42	42**	40*	41**
	3ヵ月	44	44	44	45	44	44	43	43	41**	42
	6ヵ月	40	44	41	43	38	42	40	40**	37*	39**
	12ヵ月	40	42	41	42	41	41	40	40	37*	39**
MCV (cubic μ)	12ヵ月	52	53	53	54	51	52	51	53	52	51**
	18ヵ月	52	50	51	51	51	49	50	51	53	54*
MCH (μg)	12ヵ月	18.8	19.3	19.1	19.2	18.8	18.8	18.6	18.8	19.0	18.5*
	18ヵ月	18.2	17.7	18.2	18.1	18.1	17.3	17.8	18.1	18.6	18.7
血小板 (10 <sup>5</sup> /μL)	6ヵ月	11.20	9.97	13.18	9.84	11.60	10.94	11.75	10.13	13.53	12.34**
	18ヵ月	15.92	16.76	18.02	12.10	19.10	12.98	19.68	14.93	26.67**	17.86
臓器重量											
精巣 (g)	(g)	0.190		0.174		0.164		0.136**		0.110**	
	(体重比%)	5.65		5.13		4.95		4.10**		3.43**	
脾臓 (g)	(g)	0.103	0.155	0.104	0.171	0.121	0.164	0.117	0.164	0.145*	0.207
	(体重比%)	3.06	5.69	3.17	6.02	3.64	6.03	3.50	5.98	4.52**	7.71
剖検											

- : 特記すべき所見なし.

\* : p<0.05, \*\* : p<0.01 [Dunnett's test又はDunn's rank sum test. 対照 I と II を合算した対照群 I + II (値は表記していない) と本薬各投与群を比較した]

a) : 不慮の事故等による死亡 (雄/雌: 対照 I ; 3/5例, 対照 II ; 3/3例, 20mg/kg ; 3/2例, 40mg/kg ; 5/4例, 75mg/kg ; 5/1例) を除いて算出した.

表二 - 30 マウス 18 ヶ月間強制経口投与がん原性試験 (その 2)

投与量 (mg/kg)	対照 I (蒸留水)		対照 II (蒸留水)		20		40		75	
性										
病理組織学的検査 (非腫瘍性病変)										
脾臓: 髄外造血	(58) <sup>a)</sup> 34	(57) 23	(59) 29	(60) 27	(59) 23	(60) 31	(60) 32	(60) 27	(60) 34	(60) 29
精巣: 精子低形成	(58) 30		(60) 35		(60) 36		(60) 44		(60) 49	
精巣上体: 精子数減少	(58) 28		(60) 36		(60) 31		(60) 37		(60) 49	
(腫瘍性病変)	(表二 - 31 参照)									
発がん性の評価	発がん性なし									

a): 検査動物数

表二 - 31 マウス 18 ヶ月間強制経口投与がん原性試験における臓器別の腫瘍発生例数 (その 1)

臓器	腫瘍	投与量 (mg/kg)									
		対照 I (蒸留水)		対照 II (蒸留水)		20		40		75	
副腎	検査動物数	57	57	60	60	58	60	58	60	59	60
	皮質腺腫	0	0	1	0	0	0	2	1	0	0
	癌, NOS (転移)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	褐色細胞腫	0	0	1	0	0	1	0	1	0	0
ハーター腺	検査動物数	1	1	2	-	1	-	1	1	-	-
	腺腫	1	0	1	-	0	-	0	1	-	-
腎臓	検査動物数	58	56	60	60	59	59	60	60	60	60
	癌, NOS (転移)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
肝臓	検査動物数	58	57	60	60	60	60	60	60	60	60
	血管肉腫	0	0	2	1	2	1	2	0	2	0
	肝細胞腺腫	3	1	5	1	2	1	3	1	3	0
	肝細胞癌	9	0	4	0	4	0	4	0	4	0
肺	検査動物数	58	56	60	60	60	59	60	60	60	60
	腺癌	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0
	腺腫	4	4	1	2	1	1	2	2	3	4
	癌, NOS 骨原性肉腫	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0
腸間膜 リンパ節	検査動物数	55	48	55	54	50	53	53	49	55	44
	血管肉腫	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
腹膜後 リンパ節	検査動物数	-	2	-	2	2	1	4	2	3	3
	血管肉腫	-	0	-	0	1	0	0	0	0	0
乳腺	検査動物数	6	53	4	58	13	58	15	59	6	60
	線維腺腫	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
腸間膜	検査動物数	1	5	-	5	1	3	4	1	-	2
	癌, NOS (転移)	0	1	-	0	0	0	0	0	-	0
下垂体	検査動物数	52	54	58	55	54	53	57	56	59	58
	腺腫	0	0	1	0	0	0	0	1	0	1

- : 検査せず

NOS : Not otherwise specified

表二 - 31 マウス 18 ヶ月間強制経口投与がん原性試験における臓器別の腫瘍発生例数 (その2)

臓器	腫瘍	投与量 (mg/kg)									
		対照 I (蒸留水)		対照 II (蒸留水)		20		40		75	
脾臓	検査動物数	58	57	59	60	59	60	60	60	60	60
	血管肉腫	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0
	癌, NOS (転移)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
皮下織	検査動物数	-	2	-	1	2	-	-	-	4	2
	骨原性肉腫	-	0	-	0	0	-	-	-	1	0
	癌, NOS	-	1	-	0	0	-	-	-	0	0
精巣	検査動物数	58	-	60	-	60	-	60	-	60	-
	間細胞腫	0	-	0	-	0	-	1	-	0	-
卵巢	検査動物数	-	57	-	60	-	60	-	59	-	59
	癌, NOS (転移)	-	1	-	0	-	0	-	0	-	0
	顆粒膜細胞腫	-	0	-	0	-	1	-	0	-	0
	顆粒膜-莢膜細胞腫	-	0	-	0	-	0	-	1	-	1
	黄体腫	-	0	-	1	-	0	-	1	-	0
子宮頸	検査動物数	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-
	平滑筋肉腫	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-
子宮	検査動物数	-	57	-	60	-	60	-	60	-	60
	血管肉腫	-	0	-	3	-	1	-	1	-	0
	線維腫	-	0	-	1	-	0	-	0	-	0
	平滑筋腫	-	1	-	1	-	1	-	0	-	0
	平滑筋肉腫	-	0	-	0	-	1	-	0	-	0
	肉腫, NOS	-	0	-	1	-	0	-	0	-	0
全身性	検査動物数	58	57	60	60	60	60	60	60	60	60
	悪性リンパ腫	2	6	0	4	1	1	0	1	1	1
	組織球肉腫	0	1	0	1	0	1	0	0	0	2

- : 検査せず  
NOS : Not otherwise specified

表二 - 32 マウス 4 週間強制経口投与 TK 試験における血漿中薬物濃度

動物種, 系統, 週齢, 体重	ICR 系マウス, 約 6 週齢, 19.1 ~ 35.8 g									
投与方法	本薬を注射用水に溶解し, 29 日間強制経口投与した.									
投与量 (mg/kg)	20			40			75			
性	+			+			+			
血漿中リバピリン濃度 <sup>a)</sup>										
Cmax (ng/mL)	1日	4040	3170	3600	4120	4710	4160	5980	7180	6440
	29日	3120	2810	2970	3990	4720	4360	5010	6790	5900
Tmax (hr)	1日	1	1	1	0.5	1	1	1.5	2	0.5
	29日	0.25	0.25	0.25	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
AUC <sub>0-24hr</sub> (ng·hr/mL)	1日	12500	14400	13500	21900	25700	23800	41700	46000	43800
	29日	13600	14100	13900	24100	22900	23500	39200	36500	38000
累積係数		1.09	0.980	1.03	1.10	0.892	0.987	0.940	0.794	0.866

採血時間: 投与 1 日目及び 29 日目の投与前, 投与後 0.25, 0.5, 1, 1.5, 2, 3, 4, 6, 8, 12, 24 時間 平均値 (n=3 匹/性/群)  
a): LC-MS/MS法, 定量下限: 100 ng/mL

## (2) ラット 2 年間強制経口投与がん原性試験

SD ラットにリバビリンの 10, 20 及び 40 mg/kg を 24 ヶ月間強制経口投与し, がん原性を検討した。動物数は 1 群雌雄各 70 匹とし, 12 ヶ月間投与後に中間検査のため 1 群雌雄各 10 匹を屠殺し (12 ヶ月間投与群), 残りの 1 群雌雄各 60 匹は 24 ヶ月間投与した (24 ヶ月間投与群)。対照群は 2 群 (1 群雌雄各 70 匹) 設定し, いずれも蒸留水のみを同様に投与した。

### 1) 投与量設定根拠

ラット 90 日間強制経口投与用量設定試験 (20, 40, 80, 150 及び 200 mg/kg, 本資料概要 288 頁) では, 40 mg/kg 以上の投与群で統計学的に有意な赤血球, Hb 及び Ht の減少 (貧血) がみられた。さらに 80 mg/kg 以上の投与群では体重増加量の減少 (雌雄とも 10 % 以上) がみられ, 150 mg/kg 以上の投与群では死亡 (150 mg/kg: 雌 1/10 例, 200 mg/kg: 雄 3/10 例, 雌 1/10 例) が認められた。これら死亡例数, 体重増加量及び赤血球への影響を考慮した場合, がん原性試験における最大耐量は 40 mg/kg であると判断した。従って, 本試験の最高用量は 40 mg/kg とし, 以下公比 2 で 20 及び 10 mg/kg を設定した。

なお, 実際のラット 2 年間投与がん原性試験における 40 mg/kg (高用量) 群の投与期間中の平均体重は, 対照群に比べて雄で最大 11 %, 雌で 16 % の低値を示し, 統計学的に有意な赤血球, Hb 及び Ht の減少もみられることから, 40 mg/kg が最大耐量であることが確認された。

### 2) 試験成績

本試験の成績は表二 - 33 ~ 二 - 36 に示した。また, 同用量で別途実施した TK 試験の成績は表二 - 37 に示した。

#### ① 死亡率及び生存率

雌雄とも, 対照 I 群と対照 II 群との間の生存率 (Cox's test 及び Gehan-Breslow/Kruskal-Wallis test) 及び死亡率 (Chi-square test 及び Fisher test) に差がみられなかったため, 両群を合算して, リバビリン投与群と比較した。

雄の 24 ヶ月間投与終了時の雄の生存率は, 対照 I 及び II 群を合算した対照群 (対照 I+II 群) に比べて, 本薬投与群で有意に高かった。雄の生存日数のメジアンは, 対照 I+II 群の 667 日に対して本薬投与群では 733 日 (計画屠殺日) 以上であり, 本薬投与群では生存日数の延長も認められた。

雌の生存率は, 対照 I+II 群に比べて, 10 及び 20 mg/kg 群で高く, 40 mg/kg 群でもわずかに高かったが, 統計学的に有意差はみられなかった。雌の生存日数のメジアンは, 対照群の 659 日に対して, 10 及び 20 mg/kg 群では 743 日以上で, 40 mg/kg 群では 697 日であり, 本薬投与群で生存日数の延長が認められた。

## ② 一般状態，体重及び摂餌量

本薬投与群の雄では 24 ヶ月間投与終了時，雌では投与期間の最後の 4 ヶ月間に，対照群に比べて触診による腫瘍発生頻度の僅かな増加がみられたが，病理組織学的検査では腫瘍性病変の増加は認められなかった。

20 mg/kg 以上の投与群の雄及び 40 mg/kg 群の雌の体重は，投与初期から対照群に比べて低値を示したが，雄では投与 80 週目以降に差は認められなくなった。投与期間中の 40 mg/kg 群の体重は，対照群に比べて，雄で最大 11%，雌で最大 16% 低い値を示した。

また，主として 40 mg/kg 群で摂餌量の減少がみられたが，その差は小さく，体重との関連性も認められなかったため，本薬投与に関連したものではないと考えられた。

## ③ 眼科学的検査

投与 12 ヶ月目の観察時には異常は認められなかった。

投与 24 ヶ月目の観察では，本薬投与群の雌で網膜変性の発生頻度増加がみられた。この所見は，病理組織学的検査で網膜萎縮（又は変性）として認められた。20 mg/kg 以上の投与群では，後部辺縁部の白内障の発生頻度（雌雄合算）も僅かに増加した。

## ④ 血液学的検査

主として 20 mg/kg 以上の投与群で Hb 及び Ht の減少がみられた。同様な変化は時に 10 mg/kg 群でもみられた。Hb 及び Ht の減少は，雌では投与期間を通じてみられたが，雄では投与 12 ヶ月目以降はみられなくなり，投与 24 ヶ月目には 20 mg/kg 以上の投与群の雌でのみ認められた。赤血球数には明らかな減少は認められなかった。

また，主として 40 mg/kg 群では血小板の増加もみられた。同変化は投与 18 ヶ月目までみられ，時に 10 及び 20 mg/kg 群でも認められたが，投与 24 ヶ月目にはいずれの投与群でも異常は認められなかった。血小板の絶対値は，試験期間を通じてこの系統のラットの正常範囲内であった。

20 mg/kg 以上の投与群の Hb，Ht 及び血小板の変化は軽度であるが本薬投与に関連していると考えられた。

## ⑤ 血液化学的検査，臓器重量及び剖検

本薬投与に関連した異常はみられなかった。

## ⑥ 病理組織学的検査

非腫瘍性病変：

40 mg/kg 群の雄では，大腿骨骨髓の細胞充実性の明らかな増加がみられた。12 ヶ月間投与群と 24 ヶ月間投与群の雄の発生頻度を比較すると，10 mg/kg 群では差はみられなかったが，20 及び 40 mg/kg 群では 12 ヶ月間投与群の方がわずかに高い傾向がみられた。しかし，雌の

発生頻度では 20 及び 40 mg/kg 群ではむしろ 24 ヶ月間投与群の方が高い傾向を示し、雄と雌とで一定した傾向が認められなかった。なお、細胞充実性の増加は、軽度の貧血で認められる変化<sup>1)</sup>で、リバピリン投与による貧血に骨髓が応答し、赤血球の産生速度を増すために、代償的に造血系の細胞が増加したものと考えられる。

本薬投与群では、24 ヶ月間投与群で両側性又は片側性の網膜萎縮（又は変性）の発生頻度増加がみられた。しかし、投与 24 ヶ月目の計画屠殺例のみで比較した場合の網膜に対する無毒性量は、雄が 20 mg/kg、雌が 10 mg/kg と判断されることから、同所見の発生頻度の増加が本薬投与群の高い生存率に関連している可能性が示唆された。アルビノラットでは、加齢により網膜変性が自然発生すること及び照度の増加に伴い網膜萎縮の誘発又は増悪がみられることが報告されているが、マウスがん原性試験では網膜変性は認められていない（本資料概要 273 頁）ため、ラットに特有の変化であることが示唆される。

#### 腫瘍性病変：

12 ヶ月間投与群（投与 12 ヶ月目までの死亡及び切迫屠殺例を含む）では、本薬投与による腫瘍発生頻度の増加はみられなかった（表二 - 35）。

24 ヶ月間投与群（投与 12 ~ 24 ヶ月目の死亡及び切迫屠殺例を含む）では、40 mg/kg 群の雌で対照群に比べて甲状腺 C 細胞腺腫の発生頻度の増加がみられた。しかし、同所見は本薬投与群の高い生存率との関連性が示唆されること、40 mg/kg 群の雄では逆に C 細胞腺腫の発生頻度はわずかに減少していること、及びその前癌病変と考えられる C 細胞過形成は雌雄とも増加していないことから、雌のみにみられた C 細胞腺腫の増加は本薬投与に関連したものではないと判断された（表二 - 34 及び二 - 36）。

雄の脳下垂体腺腫及び甲状腺 C 細胞腺腫、雌の乳腺腺癌及び脳下垂体腺腫について統計解析<sup>2)</sup>したが、本薬投与による腫瘍発生の早期化は認められなかった。

#### ⑦ 血漿中薬物濃度

別途実施した 4 週間強制経口投与 TK 試験における血漿中リバピリン濃度は、投与 1 日及び 28 日とも用量依存的に増加し、雌に比べて雄で高値を示した。また、血漿中リバピリン濃度は投与 1 日目に比べて投与 28 日目で 1.2 ~ 2.1 倍高い値を示したが、投与後 24 時間値は 40 mg/kg 群の雄 1 例以外はいずれも定量下限（100 ng/mL）以下であり、反復投与による血漿中への蓄積を示唆するものではないと判断された。

#### 3) 試験成績のまとめ

ラットにリバピリンの 10、20 及び 40 mg/kg を 24 ヶ月間強制経口投与したが、発がん性は認められなかった。

非腫瘍性病変としては、10 mg/kg 以上の投与群で網膜萎縮の増加、40 mg/kg 群で骨髓の細胞充実性の増加が認められた。

引用文献

- 1) Duncan JR, Prasse KW and Mahaffey EA, Anemia: Diagnosis and Classification. in Veterinary Laboratory Medicine Clinical Pathology 3rd edition, 20-36, Iowa State University Press (1994)
- 2) Thomas DG et al., Computers and Biomedical Research, 10:373-381 (1977)

表二 - 33 ラット2年間強制経口投与がん原性試験(その1)

動物種, 系統, 投与開始週齢, 体重		SD系ラット, 6週齢, 174-232g, 121-177g										
投与方法		本薬を蒸留水に溶解し, 12ヵ月間(12ヵ月間投与群)又は24ヵ月間(24ヵ月間投与群)強制経口投与した。										
投与量 (mg/kg)		対照 I (蒸留水)		対照 II (蒸留水)		10		20		40		
性												
動物数		10+60 <sup>a)</sup>	10+60	10+60	10+60	10+60	10+60	10+60	10+60	10+60	10+60	
死亡・切迫屠殺数 <sup>b)</sup>		44	46	41	36	28	28	27	29	25	37	
投与24ヵ月目の生存率 <sup>b)</sup> (%)		28	23	32	40	56	55	56	52	59	39	
一般状態 腫瘍												
体重 (g)		50週	744.7	460.7	776.5	434.3	736.5	434.3	697.8**	423.7	688.4**	411.5**
		102週	667.5	450.2	683.2	478.0	697.6	456.6	709.8	449.9	693.6	397.0*
摂餌量												
眼科学的検査 (12ヵ月)												
(24ヵ月) 網膜変性		1	3(1) <sup>c)</sup>	0(2)	4(2)	2(1)	5(5)	1(1)	7(9)	1(2)	8(5)	
		2	2	3	1	4	0	1	4	5	2	
血液学的検査												
Hb (g/dL)		1ヵ月	15.7	15.3	15.7	15.4	15.6	14.9	15.2*	14.8	14.7**	14.0**
		3ヵ月	14.9	14.7	14.9	14.0	14.2	14.1	14.1*	13.3**	13.0**	12.9**
		6ヵ月	15.6	15.0	15.9	15.2	15.0	14.4*	14.7*	13.9**	13.7**	13.1**
		12ヵ月	16.3	15.9	16.4	15.8	15.0**	14.8*	15.2**	13.8**	14.4**	14.2**
		12ヵ月 <sup>e)</sup>	16.2	15.6	15.3	14.5	14.8*	13.9*	14.4**	13.8**	14.2**	13.2**
		18ヵ月	15.5	14.8	13.9	16.2	15.0	15.6	15.7	13.5**	13.2	14.9
		24ヵ月	12.0	14.4	12.7	13.8	12.4	12.7	12.7	12.1**	12.5	12.0**
Ht (%)		1ヵ月	47	46	47	47	48	45	46	45	45**	43*
		3ヵ月	45	45	45	43	43	43	42*	41**	39**	40**
		6ヵ月	46	43	46	44	43**	42	43**	40**	40**	38**
		12ヵ月	49	47	50	48	46**	45	46**	41**	44**	42**
		12ヵ月 <sup>e)</sup>	49	47	46	44	44*	42*	43**	42**	43**	41**
		18ヵ月	43	41	39	45	42	43	44	38**	37	42
		24ヵ月	35	42	37	40	36	38	38	36**	37	36**
血小板 <sup>d)</sup> (10 <sup>9</sup> /μL)		12ヵ月	8.31	6.84	8.54	7.11	9.75	8.19**	9.94	8.70**	10.33*	8.51**
		12ヵ月 <sup>e)</sup>	7.47	7.18	8.67	6.97	8.60	8.00	9.14	8.24*	10.44*	8.89**
		24ヵ月	14.06	8.81	12.24	9.96	13.46	10.63	15.12	10.45	16.43	11.67

- : 特記すべき所見なし . : 増加 .

\* : p<0.05 , \*\* : p<0.01 [Dunnett's test又はDunn's rank sum test . 対照 I と II を合算した対照群 I + II (値は表記していない)と本薬各投与群を比較した]

a) : 12ヵ月間投与後に1群雌雄10匹を屠殺し, 残りの1群雌雄各60匹は24ヵ月間投与した .

b) : 事故死等による死亡 [対照 I, 対照 II, 10, 20 及び 40 mg/kg 群 ( / ) の 1/0, 0/0, 1/2, 1/0 及び 0/1 例]を除いて算出した .

c) : 網膜変性と判断するには十分な変化ではないが, 網膜変性の可能性がある例数 .

d) : 血小板は 12 及び 24 ヲ月のみ表記した .

e) : 12ヵ月間投与群の値

表二 - 33 ラット2年間強制経口投与がん原性試験(その2)

投与量 (mg/kg)	対照 I(蒸留水)		対照 II(蒸留水)		10		20		40	
性										
血液化学的検査										
臓器重量										
剖検										
病理組織学的検査										
12ヵ月間投与群 (非腫瘍性病変)										
大腿骨骨髓: 細胞充実性増加	(13) <sup>a)b)</sup> 3	(13) 1	(18) 2	(14) 7	(14) 7	(11) 5	(16) 9	(11) 4	(16) 12	(16) 2
(腫瘍性病変)	(表二 - 35 参照)									
24ヵ月間投与群 (非腫瘍性病変)										
大腿骨骨髓: 細胞充実性増加	(56) <sup>a)c)</sup> 20	(55) 29	(51) 21	(56) 20	(55) 28	(57) 25	(53) 24	(58) 35	(52) 34	(53) 22
眼: 網膜萎縮	(57) <sup>a)c)</sup> 2	(54) 11	(51) 5	(56) 14	(55) 11	(59) 20	(54) 13	(59) 30	(53) 21	(54) 28
合計										
計画屠殺例	1/17	7/14	4/19	10/24	10/33	14/32	8/33	24/32	18/35	19/23
死亡・切迫屠殺例	1/40	4/40	1/32	4/32	1/22	6/27	5/21	6/27	3/18	9/31
(腫瘍性病変)	(表二 - 36 参照)									
発がん性の評価	発がん性なし									

- a): 検査動物数  
 b): 投与12ヵ月目までに死亡・切迫屠殺した例を含む。  
 c): 投与12~24ヵ月目までに死亡・切迫屠殺した例を含む。

表二 - 34 ラット2年間強制経口投与がん原性試験における甲状腺病変の発生例数(最終屠殺)

投与量(mg/kg)	対照 I(蒸留水)		対照 II(蒸留水)		10		20		40		
性											
検査動物数	56	54	51	54	53	58	53	58	54	54	
24ヵ月間投与群の生存率 <sup>a)</sup>	28%	23%	32%	40%	56%	55%	56%	52%	59%	39%	
腫瘍性病変	C-細胞腺腫	9	6	5	6	4	11	2	7	6	11
	合計										
	計画屠殺例 <sup>b)</sup>	5/17	3/14	1/19	3/23	3/33	5/32	2/32	5/32	5/36	7/23
	死亡・切迫屠殺例 <sup>c)</sup>	4/39	3/40	4/32	3/31	1/20	6/26	0/21	2/26	1/18	4/31
	C-細胞癌	4	1	4	1	2	3	4	2	2	2
	濾胞上皮細胞腺腫	2	1	3	0	2	3	1	1	3	2
	濾胞上皮細胞癌	1	2	0	1	0	1	1	2	1	0
扁平上皮癌(転移)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	
ジンバル腺癌(転移)	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	
非腫瘍性病変											
C-細胞過形成	4	3	3	6	1	1	1	1	3	1	

- a): 事故死等による死亡[対照 I, 対照 II, 10, 20 及び 40 mg/kg 群 ( / ) の 1/0, 0/0, 1/2, 1/0 及び 0/1 例]を除いて算出した。  
 b): 投与24ヵ月目に計画屠殺した例  
 c): 投与12~24ヵ月目までに死亡・切迫屠殺した例を含む。

表二 - 35 ラット2年間強制経口投与がん原性試験における臓器別の腫瘍発生例数  
(12ヵ月間投与群)

臓器	腫瘍	投与量 (mg/kg)									
		対照 I(蒸留水)		対照II(蒸留水)		10		20		40	
副腎	検査動物数	12	15	19	14	15	11	16	11	16	16
	皮質腺腫	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0
肺	検査動物数	13	15	19	14	15	11	16	11	16	16
	肺胞上皮/細気管支腺腫	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
乳腺領域	検査動物数	13	15	19	14	15	11	16	11	16	16
	腺癌	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
	線維腺腫	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0
上皮小体	検査動物数	12	13	18	12	13	9	12	10	15	14
	腺腫	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
下垂体	検査動物数	13	14	19	14	14	11	16	11	16	16
	腺腫	0	0	1	4	1	0	0	1	1	0
皮下織	検査動物数	-	1	-	-	-	-	-	-	1	-
	線維肉腫	-	1	-	-	-	-	-	-	0	-
	血管肉腫	-	0	-	-	-	-	-	-	1	-
甲状腺	検査動物数	13	14	19	13	15	11	14	10	16	16
	C-細胞腺腫	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0
全身性	検査動物数	13	15	19	14	15	11	16	11	16	16
	悪性リンパ腫	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0

- : 検査せず

表二 - 36 ラット2年間強制経口投与がん原性試験における臓器別の腫瘍発生例数  
(24ヵ月間投与群)(その1)

臓器	腫瘍	投与量 (mg/kg)									
		対照I(蒸留水)		対照II(蒸留水)		10		20		40	
脂肪織	検査動物数	1	1	-	-	-	-	1	2	1	3
	軟骨腫	0	0	-	-	-	-	0	0	0	1
副腎	検査動物数	57	55	50	56	55	58	54	59	54	54
	皮質腺腫	2	6	0	8	0	6	0	3	3	4
	皮質癌	1	0	0	0	0	0	1	2	0	2
	神経節細胞腫	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	悪性神経鞘腫(浸潤)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	褐色細胞腫	5	1	8	2	6	2	4	2	5	2
	悪性褐色細胞腫	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
骨	検査動物数	3	-	-	-	-	-	-	-	-	1
	骨肉腫	1	-	-	-	-	-	-	-	-	0
脳	検査動物数	57	55	51	56	55	59	54	59	54	54
	星状膠細胞腫	1	1	2	0	0	1	1	0	0	0
	神経膠腫, NOS	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
	顆粒細胞腫	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	下垂体癌(浸潤)	0	2	0	1	0	0	0	3	1	1
横隔膜	検査動物数	-	-	-	1	-	1	-	-	-	-
	血管肉腫	-	-	-	0	-	1	-	-	-	-
耳	検査動物数	6	10	8	10	5	13	4	9	4	7
	神経線維肉腫	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
胃	検査動物数	57	55	51	56	55	59	54	59	54	54
	悪性神経鞘腫(浸潤)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
空腸	検査動物数	57	55	51	56	55	59	54	59	54	54
	悪性神経鞘腫(浸潤)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
回腸	検査動物数	57	54	51	54	55	58	53	58	54	54
	悪性神経鞘腫(浸潤)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
結腸	検査動物数	57	55	51	55	55	59	54	59	54	54
	悪性神経鞘腫(浸潤)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
腎臓	検査動物数	57	55	51	56	55	59	54	59	54	54
	血管腫	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
	脂肪腫	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0
	脂肪肉腫	0	0	2	0	1	0	0	0	0	0
	悪性神経鞘腫(浸潤)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	腺腫	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
肝臓	腎癌	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	検査動物数	57	55	51	56	55	59	54	59	54	54
	肝細胞腺腫	0	0	0	0	1	0	0	1	0	1
	肝細胞癌	0	1	3	0	1	0	1	1	0	0
悪性神経鞘腫(浸潤)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	

- : 検査せず

NOS : Not otherwise specified

表二 - 36 ラット2年間強制経口投与がん原性試験における臓器別の腫瘍発生例数  
(24ヵ月間投与群)(その2)

臓器	腫瘍	投与量 (mg/kg)									
		対照I(蒸留水)		対照II(蒸留水)		10		20		40	
肺	検査動物数	57	55	51	56	55	59	54	59	54	54
	細気管支/肺胞上皮腺腫	2	0	1	0	0	0	1	0	2	0
	線維肉腫(転移)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	悪性神経鞘腫(転移)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	前立腺癌(転移)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	扁平上皮癌(転移)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	乳腺腺癌(転移)	0	1	0	0	0	2	0	2	0	0
	乳腺癌肉腫(転移)	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
ジンバル腺癌(転移)	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	
腋窩 リンパ節	検査動物数	2	-	-	-	-	-	-	1	-	-
	線維肉腫(転移)	1	-	-	-	-	-	-	0	-	-
頸部 リンパ節	検査動物数	2	-	-	-	2	5	-	4	2	1
	悪性神経鞘腫(転移)	0	-	-	-	1	0	-	0	0	0
	ジンバル腺癌(転移)	0	-	-	-	0	0	-	1	0	0
腸骨 リンパ節	検査動物数	1	1	4	1	2	2	5	1	4	3
	子宮内膜腺癌(転移)	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
	乳腺腺癌(転移)	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
下顎 リンパ節	検査動物数	6	3	5	3	7	5	5	5	1	4
	扁平上皮癌(転移)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	ジンバル腺癌(転移)	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
縦隔 リンパ節	検査動物数	55	54	51	56	54	55	52	58	52	53
	C-細胞癌(転移)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	悪性神経鞘腫(転移)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	ジンバル腺癌(転移)	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
腸間膜 リンパ節	検査動物数	56	55	51	54	55	59	54	58	54	54
	悪性神経鞘腫(浸潤)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
気管支周囲 リンパ節	検査動物数	1	-	1	-	-	1	-	-	-	-
	悪性神経鞘腫(転移)	0	-	1	-	-	0	-	-	-	-
乳腺領域	検査動物数	57	55	50	56	55	59	52	59	54	53
	腺癌	0	17	0	18	1	21	0	25	0	19
	腺腫	0	1	0	1	0	0	0	0	0	1
	癌肉腫	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
	線維腺腫	1	17	0	29	0	28	1	31	0	23
	線維腫	0	1	2	1	0	1	0	0	1	0
	線維肉腫	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0
脂肪腫	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	
腸間膜	検査動物数	-	2	2	1	1	-	2	-	1	-
	血管肉腫	-	0	0	0	0	-	0	-	1	-
	悪性神経鞘腫	-	0	1	0	0	-	0	-	0	-
筋肉	検査動物数	2	-	1	-	1	-	1	-	-	1
	横紋筋肉腫	0	-	0	-	0	-	0	-	-	1

- : 検査せず

表二 - 36 ラット2年間強制経口投与がん原性試験における臓器別の腫瘍発生例数  
(24ヵ月間投与群)(その3)

臓器	腫瘍	投与量 (mg/kg)									
		対照I(蒸留水)		対照II(蒸留水)		10		20		40	
脾臓	検査動物数	57	55	51	56	55	59	53	58	54	54
	島細胞腺腫	3	2	4	1	4	3	5	1	5	5
	島細胞癌	2	3	0	1	0	3	1	2	0	0
	悪性神経鞘腫(浸潤)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
上皮小体	検査動物数	53	44	47	45	49	57	41	49	44	49
	腺腫	2	0	0	0	0	0	1	1	0	0
	C-細胞癌(浸潤)	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
下垂体	検査動物数	53	55	50	55	48	58	53	59	52	54
	腺腫	22	39	17	40	27	39	28	43	20	43
	癌	5	5	2	5	2	1	2	5	1	2
	ジンバル腺癌(浸潤)	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
唾液腺	検査動物数	57	55	50	56	55	57	54	58	53	53
	乳腺腺癌(浸潤)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
	悪性神経鞘腫	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
皮膚	検査動物数	57	55	51	55	55	59	54	59	54	53
	基底細胞腺腫	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0
	基底細胞癌	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	基底脂腺細胞癌	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	線維腫	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0
	ケラトアカンゾーマ	5	2	1	1	0	0	4	0	1	0
	毛母腫	0	0	8	0	6	2	4	0	1	0
	扁平上皮癌	0	1	2	0	1	0	0	0	1	0
	毛嚢上皮腫	0	0	0	0	0	0	1	0	2	0
皮下織	検査動物数	5	1	2	-	3	1	2	2	4	1
	線維腫	0	0	2	-	1	0	0	0	0	0
	線維肉腫	1	0	0	-	0	0	1	2	2	0
	脂肪腫	0	0	0	-	1	0	0	0	0	0
	悪性神経鞘腫	0	1	0	-	1	0	0	0	0	1
	神経線維肉腫	1	0	0	-	0	1	0	0	0	0
胸部脊髄	検査動物数	56	55	51	56	55	58	54	59	54	54
	星状膠細胞腫	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
脾臓	検査動物数	57	55	51	56	55	59	53	59	54	54
	血管肉腫	0	0	1	0	1	0	0	0	1	0
	悪性神経鞘腫(浸潤)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	脂肪腫	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
甲状腺	検査動物数	56	54	51	54	53	58	53	58	54	54
	C-細胞腺腫	9	6	5	6	4	11	2	7	6	11
	C-細胞癌	4	1	4	1	2	3	4	2	2	2
	濾胞上皮細胞腺腫	2	1	3	0	2	3	1	1	3	2
	濾胞上皮細胞癌	1	2	0	1	0	1	1	2	1	0
	扁平上皮癌(転移)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	ジンバル腺癌(転移)	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0

- : 検査せず

表二 - 36 ラット2年間強制経口投与がん原性試験における臓器別の腫瘍発生例数  
(24ヵ月間投与群)(その4)

臓器	腫瘍	投与量 (mg/kg)									
		対照I(蒸留水)		対照II(蒸留水)		10		20		40	
膀胱	検査動物数	56	55	50	55	55	56	54	58	54	54
	移行上皮乳頭腫	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
ジンバル腺	検査動物数	1	-	-	-	-	-	-	1	1	-
	癌	1	-	-	-	-	-	-	1	1	-
前立腺	検査動物数	56	-	51	-	55	-	54	-	54	-
	癌	0	-	1	-	0	-	0	-	0	-
	腺腫	0	-	1	-	0	-	1	-	0	-
	悪性神経鞘腫(浸潤)	0	-	1	-	0	-	0	-	0	-
精巣	検査動物数	57	-	51	-	55	-	54	-	54	-
	間細胞腫	1	-	2	-	2	-	2	-	2	-
	悪性神経鞘腫(浸潤)	0	-	1	-	0	-	0	-	0	-
精巣上体	検査動物数	57	-	51	-	54	-	54	-	54	-
	悪性神経鞘腫(浸潤)	0	-	1	-	0	-	0	-	0	-
子宮	検査動物数	-	55	-	56	-	57	-	59	-	54
	内膜腺癌	-	0	-	0	-	1	-	0	-	0
	内膜間質ポリープ	-	2	-	8	-	4	-	4	-	4
	血管肉腫	-	0	-	0	-	1	-	0	-	0
	平滑筋肉腫	-	0	-	1	-	0	-	0	-	0
膣	検査動物数	-	15	-	8	-	11	-	8	-	10
	子宮内膜腺癌(浸潤)	-	0	-	0	-	1	-	0	-	0
	扁平上皮癌	-	0	-	1	-	0	-	1	-	0
	扁平上皮乳頭腫	-	0	-	0	-	1	-	0	-	0
	間質ポリープ	-	0	-	2	-	2	-	0	-	0
全身性	検査動物数	57	55	51	56	55	59	54	59	54	54
	組織球肉腫	1	0	2	1	0	0	1	1	0	0
	悪性リンパ腫	2	1	0	0	0	0	0	1	0	1

- : 検査せず

表二 - 37 ラット4週間強制経口投与TK試験における血漿中薬物濃度

動物種, 系統, 週齢, 体重		SD系ラット, 7~8週齢, 183~426g							
投与方法		本薬を注射用水に溶解し, 28日間強制経口投与した.							
投与量 (mg/kg)		10		20		40			
性									
血漿中リバビリン濃度 <sup>a)</sup>									
Cmax (ng/mL)	1日	193	127	372	222	565	383		
	28日	181	160	305	241	435	437		
Tmax (hr)	1日	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1		
	28日	1	0.5	4	2	3	0.5		
AUC <sub>0-24hr</sub> (ng·hr/mL)	1日	566	276	1500	760	4690	3240		
	28日	989	441	3210	1620	5540	4830		
累積係数		1.75	1.60	2.14	2.13	1.18	1.49		

採血時間: 投与1日目及び28日目の投与前, 投与後0.25, 0.5, 1, 1.5, 2, 3, 4, 6, 8, 12, 24時間 平均値 (n=2~3匹/性/群)

a): LC-MS/MS法, 定量下限: 100 ng/mL

### (3) 参考：がん原性用量設定試験

#### 1) マウス 90 日間強制経口投与用量設定試験

ICR 系マウス（1 群雌雄各 10 匹）に 35, 75, 150, 300 及び 600 mg/kg を 90 日間強制経口投与した。

その結果，300 mg/kg 群の雄 5 例及び雌 4 例，600 mg/kg 群の雄全例及び雌 9 例が死亡又は全身状態悪化のため切迫屠殺された。これらの多くは投与 12 ~ 13 週目に認められた。

150 mg/kg 以上の投与群では体重増加量の減少（雌雄とも 20 % 以上）がみられた。摂餌量には異常はみられなかった。

血液学的検査では，75 mg/kg 以上の投与群で用量依存的な赤血球数，Hb 及び Ht の減少がみられた。35 mg/kg 群でも赤血球数の減少がみられた。また，150 mg/kg 以上の投与群では血小板数の増加，300 mg/kg 群では網赤血球比，MCH 及び MCV の増加がみられた。300 mg/kg 群の雄及び 600 mg/kg 群の雌の 1 ~ 2 例で好中球の増加がみられた。

臓器重量では，150 mg/kg 以上の投与群で脾重量の増加，300 mg/kg 群の雄で肝重量の増加が認められた。また，150 mg/kg 以上の投与群の雄では有意差はみられないものの精巣重量の減少傾向がみられ，病理組織学的な変化と関連していると考えられた。その他，300 mg/kg 群の雄では心重量の増加がみられた。

剖検では異常はみられなかった。病理組織学的検査では，精巣及び精巣上体のみ観察したが，150 mg/kg 以上の投与群で精上皮の変性，精巣上体の精子の減少及び変性が認められた。

#### 2) ラット 90 日間強制経口投与用量設定試験

SD 系ラット（1 群雌雄各 10 匹）にリバビリンの 20, 40, 80, 150 及び 200 mg/kg を 90 日間強制経口投与した。

その結果，150 mg/kg 群の雌 1 例，200 mg/kg 群の雄 3 例及び雌 1 例が投与 16 ~ 86 日目に死亡又は全身状態悪化のため切迫屠殺された。

生存例では，150 及び 200 mg/kg 群に痂皮，びらん及び脱毛がみられた。これらの所見は投与初期からみられ，投与の継続に伴って発生頻度の増加が認められた。痂皮は主に口部周囲及び頸背部，びらんは尾部及び肩部にみられた。200 mg/kg 群の少数例では投与 9 ~ 13 週目に四肢及び眼の蒼白化がみられた。

80 mg/kg 以上の投与群では体重増加量の減少（雌雄とも 10 % 以上）がみられた。摂餌量及び眼科学的検査では異常は認められなかった。

血液学的検査では，40 mg/kg 以上の投与群で用量依存的な赤血球数，Hb 及び Ht の減少がみられた。80 mg/kg 群の雌及び 150 mg/kg 以上の投与群の雌雄では血小板数の増加及び白血球数の減少がみられ，200 mg/kg 群では赤血球形態異常がみられた。

血液化学的検査では、150 mg/kg 群の雌及び 200 mg/kg 群で K の増加がみられた。また、200 mg/kg 群の雄では ALT の増加傾向、雌雄では AST の増加傾向がみられたが、いずれも有意差はみられなかった。

臓器重量では、200 mg/kg 群に心臓及び脾臓の重量増加がみられた。

剖検では、異常はみられなかった。

病理組織学的検査は 200 mg/kg 群の精巣及び精巣上体についてのみ観察したが、異常は認められなかった。

#### (4) がん原性試験についての追加情報

マウス及びラットのがん原性試験の結果から、リバビリンのヒトでの発癌の可能性は極めて低いと考えられた。これらのがん原性のデータ及び結論は、EU における C 型肝炎患者のリバビリンとインターフェロン  $\alpha$ -2b の併用療法の審査で受け入れられた。しかし、FDA の審査では、マウス及びラットのがん原性試験の高用量（各 75 及び 40 mg/kg）は最大耐量（MTD）に達していないと判断され、承認後に追加試験を実施することが要求された。

## 6. その他の毒性

### (1) 依存性

リバピリンの反復投与試験（本資料概要 217 頁）において，休薬後の摂餌量及び行動等に禁断症状を示唆する変化は認められなかったことから実施しなかった。

### (2) 抗原性

モルモットにおける能動的全身性アナフィラキシー（ASA）試験及び受身皮膚アナフィラキシー（PCA）試験を実施した。

投与量は，感作及び惹起とも，本薬の推定臨床投与量 13 mg/kg（ヒト体重を 60 kg 超とした場合 800 mg/日）の 1.8 倍である 24 mg/kg とした。

結果は表二 - 38 に示した。

モルモットにおける ASA 試験及び PCA 試験はいずれも陰性であり，本薬が抗原性を示す可能性は低いと判断された。

表二 - 38 モルモット抗原性試験

群	感作方法 <sup>a)</sup> (感作用量, 投与経路)	惹起方法 (惹起用量, 投与経路)	陽性例数 / 検査動物数	
			ASA試験	PCA試験
1	生理食塩液 (皮下)	リバピリン (24mg/kg, 静脈内)	0/5	0/5
2	リバピリン (24mg/kg, 皮下)	リバピリン (24mg/kg, 静脈内)	0/5	0/5
3	リバピリン+FCA/FIA <sup>b)</sup> (24mg/kg, 皮下)	リバピリン (24mg/kg, 静脈内)	0/5	0/5
4	OVA+FCA/FIA <sup>b)</sup> (4mg/kg, 皮下)	OVA (10mg/kg, 静脈内)	5/5	5/5

FCA : Freund's complete adjuvant, FIA : Freund's incomplete adjuvant, OVA : Ovalbumin

a) : 1週間間隔で3回投与した。

b) : 1回目はFCA, 2, 3回目はFIAと共に投与した。