

二. 毒性

総 括

オメプラゾール（以下、OPZ と略す）、クラリスロマイシン（以下、CAM と略す）及びアモキシシリン（以下、AMPC と略す）はそれぞれ既承認薬であり、その安全性についてはいずれも非臨床的及び臨床的にこれまで多くの検討が行われている。今回の申請にあたり、2 剤及び 3 剤併用投与時の安全性を非臨床的に検討するため、新医療用配合剤の承認申請の際に求められる毒性試験法に準じて、各単剤、2 剤併用投与及び 3 剤併用投与での単回及び反復投与毒性試験を実施した他、3 剤併用投与での小核試験も実施した。また、OPZ、CAM 及び AMPC 各剤の単独投与時の毒性試験成績について、承認時資料からその要約をまとめた。実施した試験の一覧を表ニ-1 に示す。

併用投与時の安全性

単回投与毒性

ラットに OPZ 500 mg/kg、CAM 1000 mg/kg 及び AMPC 2000 mg/kg を単独あるいは併用（OPZ+CAM、OPZ+AMPC 及び OPZ+CAM+AMPC）で単回経口投与した。死亡はいずれの群にもみられなかった。OPZ 及び CAM 単独投与群、OPZ+CAM 及び OPZ+CAM+AMPC 併用投与群で自発運動の低下又は体重増加抑制がみられたが、いずれも一過性で、併用による所見の増悪もみられなかった。

反復投与毒性

1. 2 剤併用（OPZ、CAM）投与試験

ラットに OPZ 2.5 mg/kg、CAM 50、200 mg/kg を 4 週間単独又は併用（CAM 50 mg/kg+OPZ 及び CAM 200 mg/kg+OPZ）経口投与した。2 剤併用投与群で認められた毒性所見は流涎、摂餌量の減少、摂水量の増加、白血球数の増加、アルブミンの減少に伴う A/G 比の低下、肝臓重量の増加の他、多核肝細胞、肝臓の巣状壊死で、いずれも CAM 単独投与においても認められる所見であり、併用による顕著な増強は認められなかった。

2. 3 剤併用（OPZ、CAM、AMPC）投与試験

ラットに OPZ 10 mg/kg、CAM 200 mg/kg、AMPC 375 mg/kg を 4 週間単独又は併用（OPZ+CAM、OPZ+AMPC 及び OPZ+CAM+AMPC）経口投与した。OPZ+CAM 又は OPZ+AMPC の 2 剤併用投与群で認められた毒性所見は、体重及び摂餌量の減少、A/G 比の低下、トリグリセライド及びリン脂質の減少、尿蛋白の増加、肝臓重量の増加、盲腸の拡張、大腸で粘膜の肥厚及び細胞浸潤あるいは杯細胞の減少、多核肝細胞、肝小葉間胆管上皮細胞の空胞化及び壊死で、いずれも CAM 又は AMPC 単独投与においても認められており、2 剤併用による

顕著な増強は認められなかった。3 剤併用投与群では、2 剤併用投与群で認められた所見のうちトリグリセライド減少の増強、盲腸拡張の出現頻度の増加がみられたほか、対照群、OPZ 及び CAM 単独投与群及び OPZ+CAM 併用投与群で散見された大腸粘膜表層面の不整化の出現頻度が増加した。これらは、抗菌剤の総投与量が多いこと又は作用機序の異なる 2 種の抗菌剤の作用が加算された結果と考えられ、併用により毒性所見が著明に増強されたり、予期し得ない新たな毒性所見が認められることはなかった。

イヌに OPZ 5 mg/kg, CAM 25 mg/kg, AMPC 500 mg/kg を 4 週間単独又は併用（OPZ+CAM, OPZ+AMPC 及び OPZ+CAM+AMPC）経口投与した。本試験で認められた所見は、OPZ 投与によって発現することが知られている胃重量の増加、胃の膨大などの変化のみであり、3 剤併用によりこの所見が増強されることはなく、新たな毒性の発現もみられなかった。

遺伝毒性

マウスを用いた小核試験では、最高用量である各剤 2000 mg/kg までの 3 剤併用投与で骨髄細胞に染色体異常誘発作用はみられなかった。

表二-1 毒性試験一覧

試験項目	動物種 性別	投与経路, 期間	投与量 (mg/kg/日)	成 績	実施施設
単回投与毒性					
	ラット 雌雄	経口, 単回	OPZ;500, CAM;1000, AMPC;2000 OPZ+CAM; 500+1000, OPZ+AMPC; 500+2000, OPZ+CAM+AMPC; 500+1000+2000	単独及び併用 投与で死亡は みられなかつ た。	
反復投与毒性					
	ラット 雌雄	経口, 4 週間	OPZ;2.5, CAM;50, CAM;200 OPZ+CAM; 2.5+50 OPZ+CAM; 2.5+200	併用投与によ る顕著な毒性 の増強及び予 期し得ない毒 性所見はみら れなかった。	
	ラット 雌雄	経口, 4 週間	OPZ; 10, CAM; 200, AMPC; 375 OPZ+CAM; 10+200 OPZ+AMPC; 10+375 OPZ+CAM+AMPC; 10+200+375		
	イヌ 雌雄	経口, 4 週間	OPZ; 5, CAM; 25, AMPC; 500 OPZ+CAM; 5+25 OPZ+AMPC; 5+500 OPZ+CAM+AMPC; 5+25+500		
遺伝毒性					
小核 試験	マウス 雄	経口, 2 日間	OPZ+CAM+AMPC: 500+500+500, OPZ+CAM+AMPC: 1000+1000+1000, OPZ+CAM+AMPC: 2000+2000+2000	陰性	

1. 単独投与時の安全性の要約

OPZ, CAM 及び AMPC 各剤の単独投与時の安全性について, から
単回投与毒性, 短期反復投与毒性, 生殖発生毒性及び遺伝毒性試験の成績を以下の表にまとめた。

1) オメプラゾール

表ニ-2 OPZ の毒性試験一覧

試験項目	動物種系統	投与経路, 期間	投与量 (mg/kg/日)	成績
単回投与毒性				
マウス CD-1		経口, 単回	1339~4000	LD ₅₀ 値 : ♂♀ ; >2000 mg /kg, 主要所見 ; 自発運動量の減少, 眼瞼下垂, うずくまり姿勢, 呼吸緩徐, 腹臥位, 赤褐色尿, 刺激に対する反応性の消失, 体温低下
		皮下, 単回	100, 2000	LD ₅₀ 値 : ♂♀ ; >2000 mg /kg, 主要所見 ; 異常なし
		腹腔内, 単回	100~2000	LD ₅₀ 値 : ♂ ; 1429~2000 mg /kg, ♀ ; 1020 mg /kg, 主要所見 ; 自発運動量の減少, 眼瞼下垂, うずくまり姿勢, 呼吸緩徐, 腹臥位, 赤褐色尿, 刺激に対する反応性の消失, 体温低下, 肺のうっ血
ラット CD		経口, 単回	1339~4000	LD ₅₀ 値 : ♂♀ ; >2000 mg /kg, 主要所見 ; 自発運動量の減少, 眼瞼下垂, 閉眼, うずくまり姿勢, 呼吸緩徐, 腹臥位, 刺激に対する反応性の消失, 体温低下, 流涙, 赤褐色尿, 回腸及び盲腸粘膜表層部のうっ血, 出血及び粘膜下組織への好中球浸潤
		皮下, 単回	100, 2000	LD ₅₀ 値 : ♂♀ ; >2000 mg /kg, 主要所見 ; 異常なし
		腹腔内, 単回	100~2000	LD ₅₀ 値 : ♂ ; 919 mg /kg, ♀ ; 615 mg /kg, 主要所見 ; 自発運動量の減少, 眼瞼下垂, 閉眼, うずくまり姿勢, 呼吸緩徐, 腹臥位, 刺激に対する反応性の消失, 体温低下, 流涙, 肺のうっ血
イヌ ビーグル		経口, 単回	300~1200	致死量 : ♂♀ ; 600~1200 mg /kg, 主要所見 ; 流涎, 嘔吐, 呼吸数減少, 腹臥, 頭部振戦, 瞳孔反射の抑制及び痙攣, 肺の出血及びうっ血水腫
反復投与毒性				
ラット CD		経口, 13 週間反復	0.016~500	主要所見 : 0.4 mg/kg 以上 : 胃の ECL 細胞の肥大・増殖, 2 mg/kg 以上 : 胃重量増加, 8 mg/kg 以上 : 副腎球状層の淡染色性細胞の増加, 胃主細胞分泌顆粒の好酸性化と胃重量増加, 32 mg/kg 以上 : 肝重量の増加 無毒性量 : 2 mg/kg
イヌ ビーグル		経口, 13 週間反復	0.5~50	主要所見 : 5 mg/kg 以上 : よろめき歩行, 胃重量増加, 胃粘膜皺襞の増大, 胃壁細胞の空胞化及び胃主細胞の減少, 50 mg/kg : 総コレステロール及びリン脂質値の増加 無毒性量 : 0.5 mg/kg

表ニ-2 OPZ の毒性試験一覧（つづき-1）

試験項目	動物種系統	投与経路，期間	投与量 (mg/kg/日) 又は濃度	成績
生殖発生毒性				
Seg I	ラット CD	経口 雄：交配前 9 週 ～交配期間中 雌：交配前 2 週 ～妊娠 7 日	3.2～320	主要所見： 320mg/kg：親動物の体重増加抑制 無毒性量：32 mg/kg（親動物の一般毒性）， 320 mg/kg（親動物の生殖能，胎児）
Seg II		経口 妊娠 7～17 日	3.2～320	主要所見： 320mg/kg：親動物の体重増加抑制 無毒性量：32 mg/kg（親動物の一般毒性）， 320 mg/kg（親動物の生殖能，胎児，出生児）
	ウサギ NZW	経口 妊娠 6～18 日	6.9～138	主要所見： 27.6mg/kg 以上：母動物の体重増加抑制，胎児の死亡吸収 胚率の増加 無毒性量：6.9 mg/kg（親動物の一般毒性・生殖能，胎児）
Seg III	ラット CD	経口 妊娠 17 日～分娩 後 21 日	3.2～320	主要所見： 320mg/kg：親動物の体重増加抑制，新生児の授乳期間中の 体重増加抑制 無毒性量：32 mg/kg（親動物の一般毒性・生殖能，出生児）
遺伝毒性				
復帰変異原性 試験	サルモネラ，大腸菌 <i>in vitro</i>	156～5000 μg/7° レート	陰性	
マウスリンフォーマ tk 試験	マウスリンパ腫細胞 <i>in vitro</i>	4.69～400 μg/mL	陰性	
ヒトリンパ球染色 体異常試験	ヒトリンパ球 <i>in vitro</i>	86.3～691 μg/mL	陰性	
マウス染色体異常 試験	マウス NMRI	経口，単回	1036	陰性
マウス小核試験	マウス CD-1	経口，2 回	250～2500	陰性

2) クラリスロマイシン

表ニ-3 CAM の毒性試験一覧

試験項目	動物種系統	投与経路, 期間	投与量 (mg/kg/日)	成 績
単回投与毒性				
マウス ICR	静脈内, 単回	132～266	LD ₅₀ 値 : ♂ ; 173 mg /kg, ♀ ; 195 mg /kg, 主要所見 ; 鎮静, 呼吸数の減少, 眼瞼下垂	
	経口, 単回	1500～3990	LD ₅₀ 値 : ♂ ; 2740 mg /kg, ♀ ; 2700 mg /kg, 主要所見 ; 鎮静, 呼吸数の減少, 体温下降, 眼瞼下垂, 肝臓及び腎臓の軽度な散在性の壊死性変化及び消化管の出血	
	皮下, 単回	3200～5000	LD ₅₀ 値 : ♂ ♀ ; >5000 mg /kg, 主要所見 ; 皮膚 (投与部位) の壊死, 炎症像	
	腹腔内, 単回	400～1443	LD ₅₀ 値 : ♂ ; 1030 mg /kg, ♀ ; 850 mg /kg, 主要所見 ; 鎮静, 呼吸数の減少, 体温下降, 眼瞼下垂, 肝臓及び腎臓の軽度な散在性の壊死性変化及び消化管の出血	
ラット Wistar	経口, 単回	1800～4788	LD ₅₀ 値 : ♂ ; 3470 mg /kg, ♀ ; 2700 mg /kg, 主要所見 ; 鎮静, 呼吸数の減少, 体温下降, 眼瞼下垂, 肝臓及び腎臓の軽度な散在性の壊死性変化及び消化管の出血	
	皮下, 単回	3200～5000	LD ₅₀ 値 : ♂ ♀ ; >5000 mg /kg, 主要所見 ; 皮膚 (投与部位) の壊死, 炎症像	
	腹腔内, 単回	500～1330	LD ₅₀ 値 : ♂ ; 669 mg /kg, ♀ ; 753 mg /kg, 主要所見 ; 鎮静, 呼吸数の減少, 体温下降, 肝臓及び腎臓の軽度な散在性の壊死性変化及び消化管の出血	
イヌ ビーグル (♂)	経口, 単回	1250～5000	嘔吐のため致死量不明 (5000 mg /kg まで死亡なし) 主要所見 ; 嘔吐及び胃粘膜の充血	
反復投与毒性				
ラット Wistar	経口, 28 日間反復	12.5～800	主要所見 ; 50 mg/kg 以上 : 盲腸重量の増加 200 mg/kg 以上 : GOT, GPT 活性の上昇, 肝臓重量の増加, 多核肝細胞及び肝細胞壊死 800 mg/kg : 死亡, 体重増加抑制, 摂餌量減少, 軽度貧血, 尿潜血, 腎臓重量の増加, 腎尿細管上皮の腫大, 皮質尿細管の壊死 無毒性量 : 50 mg/kg	
イヌ ビーグル	経口, 28 日間反復	6.25～400	主要所見 ; 25 mg/kg 以上 : 嘔吐, 流涙, 結膜充血 100 mg/kg 以上 : 肝臓の胆管周囲炎, 胆嚢粘膜上皮の増生, 腎尿細管上皮の萎縮, 胃底腺細胞の萎縮 400 mg/kg : 死亡, 体重減少, 摂餌量減少, GPT, GOT, ALP 活性の上昇, 総ビリルビンの増加及び貧血 無毒性量 : 6.25 mg/kg	

表二-3 CAM の毒性試験一覧（つづき-1）

試験項目	動物種系統	投与経路，期間	投与量 (mg/kg/日) 又は濃度	成績
生殖発生毒性				
Seg I	ラット Wistar	経口 雄：交配前 60 日～交配期間中 雌：交配前 14 日～妊娠 7 日	10～125	主要所見； 125 mg/kg：親動物に体重増加抑制及び摂餌量の減少 無毒性量：35 mg/kg（親動物の一般毒性）， 125 mg/kg（親動物の生殖能，胎児）
Seg II	ラット Wistar	経口 妊娠 7～17 日	10～160	主要所見； 160 mg/kg：母動物の体重増加抑制及び摂餌量減少，胎児死亡率増加傾向及び発育抑制，出生児の体重増加抑制 無毒性量：40 mg/kg（親動物，胎児，出生児）
	ウサギ NZW	経口 妊娠 6～18 日	10～125	主要所見； 125 mg/kg：母動物の摂餌量減少及び体重増加抑制傾向 無毒性量：35 mg/kg（親動物の一般毒性）， 125 mg/kg（親動物の生殖能，胎児）
	マウス ¹⁾ CD-1	経口 妊娠 6～15 日	15～1000	主要所見； 1000 mg/kg：母動物の体重増加抑制，胎児の発育抑制及び口蓋裂の発生頻度の増加
	ラット ²⁾ SD	経口 妊娠 6～15 日	15～150	主要所見； 50 mg/kg：母動物の体重増加抑制傾向 150 mg/kg：母動物の体重増加抑制及び摂餌量減少，胎児の発育抑制及び心血管系の異常
	サル ³⁾ カニクイ	経口 妊娠 20～50 日	35～70	主要所見； 70 mg/kg：母動物の体重増加抑制，胎児の低体重（1/9 例）
Seg III	ラット Wistar	経口 妊娠 17 日～分娩後 21 日	10～160	主要所見； 160 mg/kg：母動物の体重増加抑制及び摂餌量の減少，出生児の一過性の体重増加抑制 無毒性量：40 mg/kg（親動物，出生児）
遺伝毒性				
復帰変異原性試験	サルモネラ，大腸菌	<i>in vitro</i>	0.4～100 µg/プレート	陰性
突然変異誘発頻度試験	サルモネラ	<i>in vitro</i>	200～5000 µg/mL	陰性
培養細胞染色体異常試験	CHL 株， <i>in vitro</i>		0.04～0.2 mg/mL	倍数性異常：軽度の陽性
マウス小核試験	マウス ICR	腹腔内	110～500	陰性

1)：海外での成績

2)：海外での成績

3)：海外での成績

3) アモキシシリン

表ニ-4 AMPC の毒性試験一覧

試験項目	動物種系統	投与経路, 期間	投与量 (g/kg/日)	成績
単回投与毒性				
	マウス dd	経口, 単回	25	LD ₅₀ 値 : ♂♀ ; >25 g /kg, 主要所見 ; 一過性の鎮静, 肝細胞の空胞化
		皮下, 単回	20	LD ₅₀ 値 : ♂♀ ; >20 g /kg, 主要所見 ; 一過性の鎮静, 肝細胞の空胞化
		腹腔内, 単回	♂ : 3.3~8.2 ♀ : 2.1~5.2	LD ₅₀ 値 : ♂ ; 6.41 g /kg, ♀ ; 3.59 g /kg, 主要所見 ; 鎮静, 横臥, 被毛の粗剛, 脾臓の細網細胞増生及び髄外造血, 肝細胞の空胞化, クッパー細胞の腫大及び増生, 核水腫, 腎糸球体の虚脱, 腎尿細管上皮の空胞化, 小腸粘膜カール
	ラット Wistar	経口, 単回	15	LD ₅₀ 値 : ♂♀ ; >15 g /kg, 主要所見 ; 一過性の鎮静, 肝細胞の空胞化
		皮下, 単回	8	LD ₅₀ 値 : ♂♀ ; >8 g /kg, 主要所見 ; 一過性の鎮静, 肝細胞の空胞化
		腹腔内, 単回	♂ : 2.46~6.00 ♀ : 1.97~3.84	LD ₅₀ 値 : ♂ ; 3.75 g /kg, ♀ ; 2.87 g /kg, 主要所見 ; 鎮静, 横臥, 被毛の粗剛, 脾臓の細網細胞の増生, 肝うつ血, 肝細胞の空胞化, クッパー細胞の腫大, 核水腫, 腎糸球体内皮細胞の核濃縮, 尿細管上皮の拡張及び空胞化, 胸腺細胞の崩壊物
	ウサギ 日本白色種	経口, 単回	12.5	LD ₅₀ 値 : ♂♀ ; >12.5 g /kg, 主要所見 ; 食欲の低下, 下痢
反復投与毒性				
	ラット Wistar	経口, 1 カ月間反復	0.4~4	主要所見 ; 0.4 g/kg 以上 : 盲腸の膨満及び重量の増加, 1.9 g/kg 以上 : 飲水量の増加及び軟便傾向 4 g/kg : 飲水量の増加に伴う尿量の増加
生殖発生毒性				
Seg.II	マウス ICR	経口 妊娠 7~13 日	0.4~4	催奇形性なし
	ラット Wistar	経口 妊娠 7~13 日	0.4~4	催奇形性なし

2. 併用投与時の安全性

2 剤及び 3 剤併用時の安全性について、新医療用配合剤の承認申請の際に求められる毒性試験法に準じて、各単剤、2 剤併用投与及び 3 剤併用投与での単回及び反復投与毒性試験を実施した他、3 剤併用投与での小核試験も実施した。

1) 単回投与毒性

(1) OPZ+CAM+AMPC 併用によるラット単回投与毒性試験

1 群雌雄各 5 例の SD 系ラットに OPZ 500 mg/kg, CAM 1000 mg/kg, AMPC 2000 mg/kg を単独又は併用 (OPZ+CAM, OPZ+AMPC 及び OPZ+CAM+AMPC) 単回経口投与し、14 日間観察を行った。結果を表ニ-5 に示した。

用量設定の根拠：投与量は、経口単回投与試験における最大用量とされる 2000 mg/kg を上限とし、単独投与で死亡がみられず、かつ推定臨床用量より十分に高い用量 (約 60～600 倍) として、OPZ は 500 mg/kg, CAM は 1000 mg/kg, AMPC は 2000 mg/kg を設定した。

結果：雌雄いずれの投与群においても死亡はみられず、致死量は単独、2 剤及び 3 剤併用のいずれの場合にも OPZ は 500 mg/kg, CAM は 1000 mg/kg, AMPC は 2000 mg/kg を超えるものと推定された。

いずれの投与群においても、雄動物の一般状態に異常はみられなかった。雌では、OPZ 単独投与群で投与 4 時間後に赤褐色尿の排泄及び自発運動の低下が 1 例に、OPZ+CAM 併用投与群では、投与 6 時間後に赤褐色尿の排泄が 1 例、尿の付着と考えられる下腹部被毛の汚れが投与翌日に 2 例、OPZ+AMPC 併用投与群では、投与 4 及び 6 時間後に赤褐色尿の排泄が各 1 例にみられた。自発運動の低下及び赤褐色尿の排泄は、投与翌日には回復し、下腹部被毛の汚れについても投与 4 日後には消失した。なお、赤褐色尿は OPZ の単回投与毒性試験においてもみられているが、潜血反応は陰性であり、OPZ あるいはその代謝物の尿中排泄によることが報告されていることから¹⁾、毒性変化とは考えなかった。

体重では、雌雄とも投与翌日から 2 日後あるいは 3 日後にかけて一時的な増加抑制が CAM を投与した単独、2 剤併用及び 3 剤併用群で認められた。しかし、これら 3 群間で増加抑制の程度に明らかな差は認められなかった。

観察期間終了後の剖検では、いずれの動物にも異常は認められなかった。

以上、ラットに推定臨床用量の約 60～600 倍の OPZ, CAM 及び AMPC を併用単回経口投与したとき、併用投与による新たな毒性の発現及び増強は認められなかった。

1) 中村 優ほか、Omeprazole のラットにおける亜急性毒性試験, 応用薬理, 1988, 36, 377-400

表ニ-5 ラット 3 剤併用単回投与毒性試験

動物種（系統・週齢）	ラット（SD 系・6 週齢）				
投与経路，溶媒	経口，OPZ：0.5 %メチルセルロース，CAM：5 %アラビノゴム， AMPC：0.5 %カルメロースナトリウム				
動物数	各群♂5 ♀5				
群	投与量（mg/kg）			成績	
	OPZ	CAM	AMPC	死亡数	一般状態
対照群 ¹⁾	0	0	0	0	異常なし
OPZ	500	—	—	0	赤褐色尿（♀1）， 自発運動低下（♀1）
CAM	—	1000	—	0	一般状態（体重）：一時的な体重 増加抑制（♂♀）
AMPC	—	—	2000	0	異常なし
OPZ+CAM	500	1000	—	0	赤褐色尿（♀1）， 下腹部被毛の汚れ（♀2）， 一時的な体重増加抑制（♂♀）
OPZ+AMPC	500	—	2000	0	赤褐色尿（♀2）
OPZ+CAM +AMPC	500	1000	2000	0	一般状態（体重）：一時的な体重 増加抑制（♂♀）

（ ）内は発現例数と性別，1)：0.5 %メチルセルロース，5 %アラビノゴム及び 0.5 %カルメロースナトリウムを投与

(2) OPZ+CAM+AMPC 併用による非げっ歯類を用いた単回投与毒性試験

OPZ，CAM の各単剤の単回投与毒性試験がイヌを用いて実施されていたことから，イヌを用いた試験の実施を検討したが，以下の理由から試験を実施しなかった。

表ニ-6 に示したように，OPZ，CAM はともに嘔吐が主たる所見として観察されており，CAM においては嘔吐のために致死量が明らかになっていない。また，反復投与毒性試験の成績から，OPZ では 5 mg/kg から¹⁾，CAM では 25 mg/kg から既に嘔吐が確認されて²⁾おり，被検薬を高用量投与し，その後の一般状態の変化を確認するという急性毒性の評価という観点で見た場合，妥当な種ではないと判断した。

1) 長島吉和ほか，Omeprazole のビーグル犬における 13 週間経口投与亜急性毒性試験とその回復試験，*応用薬理*，1988，36，209-229

2) 阪川隆司ほか，TE-031 の毒性研究（第 6 報）イヌの急性および亜急性毒性試験，*基礎と臨床*，1988，22，1453-1483

表二-6 各単剤で実施した非ゲッ歯類の単回経口投与毒性試験

薬物名	動物種	投与用量	成績
OPZ	イヌ	300～1200 mg/kg	致死量：♂♀；600～1200 mg/kg, 主要所見；流涎，嘔吐，呼吸数減少，腹臥，頭部振戦， 瞳孔反射の抑制及び痙攣，肺の出血及びうっ血水腫
CAM	イヌ	1250～5000 mg/kg	嘔吐のため致死量不明（5000 mg/kg まで死亡なし） 主要所見；嘔吐及び胃粘膜の充血
AMPC	ウサギ	12.5 g/kg	LD ₅₀ 値：♂♀；>12.5 g/kg, 主要所見；食欲の低下，下痢

イヌ以外の非ゲッ歯類の使用の可能性についても以下のように検討した。

AMPC 単剤では，ウサギを用いて単回投与毒性試験を実施しているが，ウサギについては，医薬品非臨床試験ガイドライン解説に記載されているように，一般毒性についてのデータの蓄積が少ない，臨床症状の解釈が容易でないなどの問題点があり，単回投与毒性試験で用いる種としては現在推奨されていないことから¹⁾，妥当な種ではないと判断した。また，イヌ以外の非ゲッ歯類で広く安全性試験に用いられ，背景データの豊富な動物種としてサルを使用することも考えられるが，CAM のサルにおける亜急性毒性試験においてイヌと同様に嘔吐が認められていることから²⁾，より高い用量を投与する単回投与毒性試験においても嘔吐が発現すると考えられ，妥当な種ではないと判断した。また，OPZ，CAM 及び AMPC 各剤の単独投与でのサルの単回投与毒性試験成績がないために，サルにおけるこれらの薬剤の単回投与毒性プロファイルは明らかになっていない。このため，併用投与によって毒性所見が顕著に増強されないか，また，新たな毒性所見が発現しないかどうかを検証するためには，併用投与の試験に先立ち，OPZ，CAM 及び AMPC 各剤単独のサルを用いた単回投与毒性試験を実施し，サルでの毒性プロファイルを明らかにした上で，各剤の至適用量を選定する必要も生じる。

OPZ，CAM 及び AMPC はそれぞれ既承認薬であり，各単剤での安全性については非臨床的にも臨床的にも確認されている。よって，3 剤併用単回投与時の安全性を非臨床的に検討する目的は，併用投与することで，各剤で既知の毒性所見が顕著に増強されないかどうか，また，新たな毒性所見が発現しないかどうかを検証することである。表二-7 に示したように，ラットにおいては嘔吐が認められず，また，これら単剤の単回投与毒性試験成績を非ゲッ歯類の単回投与毒性試験成績と比較した場合，非ゲッ歯類で認められた呼吸数の減少，腹臥及び消化管の障害等の主要所見の質的なものは，概ねラットの成績においても検出されており，非ゲッ歯類での併用投与による影響については，ラットを用いた 3 剤併用単回投与試験の成績である程度の補完が可能であろうと考えられた。

1) 厚生省薬務局審査課監修，医薬品非臨床試験ガイドライン解説 1997，薬事日報社，pp. 11, 132, 1997

2) Chesterman, H.ほか，TE-031 の毒性研究（第 8 報）サルの亜急性毒性試験，基礎と臨床，1988，22，1502-1532

表ニ-7 各単剤で実施したラットの単回経口投与毒性試験

薬物名	投与用量	成績
OPZ	1339～4000 mg/kg	LD ₅₀ 値：♂♀；>2000 mg/kg, 主要所見；自発運動量の減少，眼瞼下垂，閉眼，うずくまり姿勢，呼吸緩徐，腹臥位，刺激に対する反応性の消失，体温低下，流涙，赤褐色尿，回腸及び盲腸粘膜表層部のうっ血，出血及び粘膜下組織への好中球浸潤
CAM	1800～4788 mg/kg	LD ₅₀ 値：♂；3470 mg/kg, ♀；2700 mg/kg, 主要所見；鎮静，呼吸数の減少，体温下降，眼瞼下垂，肝臓及び腎臓の軽度な散在性の壊死性変化及び消化管の出血
AMPC	15 g/kg	LD ₅₀ 値：♂♀；>15 g/kg, 主要所見；一過性の鎮静，肝細胞の空胞化

また，3 剤併用投与によるマウスの小核試験では，経口単回投与試験における最大用量とされる 2000 mg/kg¹⁾ を各剤 1 日 1 回，2 日間併用投与した群においても，投与前，投与直後，投与 2 時間後及び剖検日に行った一般状態の観察で異常はみられず，各投与日及び剖検日に実施した体重推移にも異常は認められなかった。

以上，各単剤での安全性については非臨床的にも臨床的にも確認されていること，本 3 剤併用療法は既に世界において広く臨床使用されていること，並びにラットの 3 剤併用単回投与試験及びマウスの 3 剤併用小核試験の一般状態の成績で，3 剤併用投与による顕著な毒性の増強がみられていないことなどから，非ゲッ歯類の試験成績はないが，ヒトにおいて 3 剤併用単回投与時に顕著な毒性の増強がみられる可能性は低いと考えられた。

2) 反復投与毒性

(1) OPZ+CAM 併用によるラット 4 週間反復投与毒性試験

1 群雌雄各 10 例のラットに OPZ 2.5 mg/kg, CAM 50, 200 mg/kg を 4 週間単独又は併用 (CAM 50 mg/kg+OPZ 及び CAM 200 mg/kg+OPZ) 経口投与し，反復投与毒性を検討した (表ニ-8)。用量設定の根拠：投与量は CAM については反復投与毒性試験での無毒性量である 50 mg/kg 及び毒性発現量である 200 mg/kg を設定した。OPZ については，CAM との臨床用量比が 20:1 と推定され，また反復投与毒性試験での無毒性量が 2 mg/kgであることを考慮し，2.5 mg/kg に設定した。

結果：投与期間を通じて，いずれの投与群にも死亡は認められず，CAM 単独及び OPZ 併用の各投与群で流涎が雌雄各 1～4 例にみられた以外，一般状態及び体重推移に異常はみられなかった。

摂餌量の減少が CAM 200 mg/kg 単独及び OPZ 併用投与群の雌雄でそれぞれ認められた。しかし，投与 12 日以降には有意な減少はみられず，摂餌量の変動は単独，併用投与とも同程度であった。摂水量の増加が CAM 50 mg/kg 単独及び OPZ 併用投与群の雄，CAM 200 mg/kg

1) 厚生省薬務局審査課監修，医薬品非臨床試験ガイドライン解説 1997，薬事日報社，pp. 13, 1997

単独及び OPZ 併用投与群の雌雄で認められた。CAM 50 mg/kg+OPZ 併用投与群の雌でも対照群と比較して摂水量に有意差がみられているが、同群の投与前値 (26.3 ± 4.1 mL/日) と差がなく、薬剤投与に起因した変化ではないと考えられた。

血液学的検査では、白血球数の増加が CAM 200 mg/kg 単独及び OPZ 併用投与群の雌で、リンパ球比の減少が CAM 200 mg/kg 単独投与群の雄で認められたが、いずれも併用による変化の増強は認められなかった。

血液化学的検査では、アルブミンの減少に伴う A/G 比の低下が CAM 200 mg/kg 単独及び OPZ 併用投与群の雌雄で、カリウムの増加が CAM 200 mg/kg 単独及び OPZ 併用投与群の雌雄、CAM 50 mg/kg+OPZ 併用投与群の雌で、カルシウムの増加が CAM 200 mg/kg 単独及び OPZ 併用投与群の雄で、無機リンの増加が CAM 200 mg/kg+OPZ 併用投与群の雄でみられた。カリウムの変動は軽度であり、カルシウム及び無機リンについても関連する器官及び組織に異常は認められず、毒性学的意義の無い変化と考えられた。アルブミンの減少に伴う A/G 比の低下については併用による顕著な増強は認められなかった。

尿検査では、尿量の増加が CAM 50 mg/kg+OPZ 併用投与群の雌を除く全ての CAM 投与群で、また、尿量の増加に伴い、CAM 200 mg/kg 単独投与群及び CAM 50 mg/kg+OPZ 併用投与群の雄及び CAM 200 mg/kg+OPZ 併用投与群の雌では尿比重の減少も認められた。この他、クロールの減少が CAM 200 mg/kg 単独投与群の雄でみられた。尿量の増加及び尿比重の減少は、摂水量の増加に関連した変化であり、クロールの減少についても血漿中クロール値に変動がみられず、腎の組織にも異常がみられていないことから、ともに毒性学的意義の無い変化と考えられた。

臓器重量では心臓重量の減少、肝臓及び腎臓重量の増加が CAM 200 mg/kg 単独及び OPZ 併用投与群の雌雄でみられ、心臓重量の減少は CAM 50 mg/kg+OPZ 併用投与群の雌で、腎重量の増加は CAM 50 mg/kg+OPZ 併用投与群の雄でも認められた。この他、甲状腺重量の増加が CAM 200 mg/kg+OPZ 併用投与群の雄で、脾臓重量の増加が同群の雌で、精巣上体重量の増加が CAM 50 mg/kg+OPZ 併用投与群でみられた。しかし、肝臓を除きこれらの臓器の組織所見に異常はみられず、いずれも毒性学的意義の無い変化と考えられた。肝重量についても併用による顕著な増強は認められなかった。

眼科学的検査及び剖検で異常は認められなかった。

病理組織学的検査では、CAM 200 mg/kg 単独及び OPZ 併用投与群で多核肝細胞がみられ、CAM 200 mg/kg+OPZ 併用投与群では肝臓の巣状壊死が 1 例みられた。これらの変化は、CAM の反復投与毒性試験¹⁾で同様に観察されていることから、CAM に起因した変化と考えられた。

被験物質の血漿中濃度の成績から、CAM についてはいずれの用量群においても全身的曝露

1) 大島 隆ほか、TE-031 の毒性研究 (第 4 報) ラットの亜急性毒性試験, *Chemotherapy*, 1988, 36 (S3), 289-310

が確認され、併用及び反復投与による影響はみられなかった。OPZ についても単独投与群では全身の曝露が確認された。一方、CAM との併用投与群では投与初日には OPZ の全身の曝露が確認されたが、反復投与により血漿中濃度は著明に低下した。

以上、2 剤併用投与群で認められた毒性所見は流涎、摂餌量の減少、摂水量の増加、白血球数の増加、アルブミンの減少に伴う A/G 比の低下、肝臓重量の増加、多核肝細胞、肝臓の巣状壊死で、いずれも CAM 単独投与においても認められる所見であり、併用による顕著な増強は認められなかった。

表ニ-8 ラット 2 剤併用 4 週間反復投与毒性試験

動物種,系統,週齢	ラット・SD 系・6 週齢					
投与経路・方法, 溶媒	1 日 1 回, 4 週間連続経口投与, OPZ : 0.5 %メチルセルロース, CAM : 5 %アラビノゴム, 対照群では, 0.5 %メチルセルロース及び 5 %アラビノゴムを投与					
投与群	対照群	OPZ	CAM	CAM	OPZ+CAM	OPZ+CAM
投与量 (mg/kg/日)		2.5	50	200	2.5+50	2.5+200
動物数	♂:10 ♀:10	♂:10 ♀:10	♂:10 ♀:10	♂:10 ♀:10	♂:10 ♀:10	♂:10 ♀:10
死亡数	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
一般状態	—	—	流涎♂:1 ♀:2	流涎♂:4 ♀:1	流涎♂:3 ♀:1	流涎♂:4 ♀:3
体重 (g) ♂	343±28	341±21	354±19	332±25	349±20	339±29
(投与 28 日) ♀	221±18	226±15	225±13	212±9	226±11	217±15
摂餌量 (g/日) ¹⁾ ♂	20.6±1.8	21.7±1.8	21.2±1.5	17.1±1.5**↓	21.0±1.8	17.3±1.6**↓
♀	16.1±1.3	16.6±1.1	15.5±1.0	11.9±1.2**↓	15.0±1.0	12.7±1.3**↓
摂水量 (mL/日) ²⁾ ♂	26.0±3.6	28.9±3.1	31.3±3.9* ↑	31.1±4.8* ↑	31.5±4.4** ↑	30.8±2.7* ↑
♀	21.7±3.5	22.8±2.4	24.7±2.5	29.0±9.4# ↑	26.3±4.2# ↑	28.5±7.0# ↑
血液学的検査						
白血球 (10 ³ /mm ³) ♀	69±21	67±17	72±17	98±18** ↑	77±15	90±14* ↑
リンパ球比 (%) ♂	88.4±3.5	87.7±5.2	88.6±4.2	84.1±3.4* ↓	90.2±2.7	86.0±2.4
血液化学的検査						
アルブミン (g/dL) ♂	2.83±0.10	2.76±0.19	2.79±0.13	2.64±0.07** ↓	2.77±0.19	2.66±0.15* ↓
♀	2.83±0.23	2.74±0.13	2.68±0.14	2.56±0.12** ↓	2.74±0.10	2.52±0.13** ↓
A/G 比 ♂	0.78±0.04	0.77±0.08	0.74±0.04	0.69±0.03** ↓	0.75±0.07	0.68±0.06** ↓
♀	0.81±0.05	0.79±0.03	0.76±0.06	0.73±0.04** ↓	0.81±0.05	0.72±0.03** ↓
カリウム (mEq/L) ♂	3.22±0.13	3.34±0.29	3.34±0.13	3.46±0.19* ↑	3.36±0.15	3.51±0.25** ↑
♀	3.12±0.21	3.26±0.22	3.13±0.27	3.41±0.21* ↑	3.43±0.32* ↑	3.44±0.21* ↑
カルシウム (mg/dL) ♂	10.42±0.24	10.47±0.31	10.64±0.25	10.77±0.21* ↑	10.66±0.31	10.85±0.21** ↑
無機リン (mg/dL) ♂	7.22±0.80	7.67±0.49	7.44±0.37	7.62±0.66	7.73±0.66	7.98±0.38* ↑
尿検査						
尿量 (mL/16h) ♂	8.0±1.8	11.1±2.8	13.1±4.2 ↑	13.6±4.7 ↑	14.9±6.3 ↑	13.6±6.3 ↑
♀	8.0±2.3	9.6±3.3	13.7±6.1 ↑	10.5±2.5 ↑	9.3±3.0	12.1±3.0 ↑
尿比重 ♂	1.053±0.004	1.046±0.006	1.044±0.006	1.040±0.008* ↓	1.040±0.008* ↓	1.042±0.009
♀	1.048±0.007	1.043±0.008	1.038±0.010	1.039±0.006	1.042±0.010	1.035±0.004* ↓
クロール (mEq/16h) ♂	1.78±0.30	1.85±0.18	1.87±0.25	1.41±0.20* ↓	1.81±0.18	1.63±0.28
眼科学的検査	—	—	—	—	—	—
剖検	—	—	—	—	—	—

— : 特記すべき所見なし, ↑ : 増加, ↓ : 減少, 平均±標準偏差,

1) : ♂は投与 1-4 日, ♀は投与 1-5 日の値, 2) : ♂は投与 4-8 日, ♀は投与 1-5 日の値

*:P<0.05, **:P<0.01 (対 対照群, Dunnett 検定), #:P<0.05 (対 対照群, Dunnett 型順位検定)

表ニ-8 ラット 2 剤併用 4 週間反復投与毒性試験 (つづき-1)

投与群	対照群	OPZ	CAM	CAM	OPZ+CAM	OPZ+CAM
投与量 (mg/kg/日)		2.5	50	200	2.5+50	2.5+200
臓器重量						
甲状腺 (絶対:mg)♂	17.3±2.7	17.3±3.3	16.8±3.2	19.1±2.6	18.7±2.0	20.2±2.9
(相対: mg%)	5.58±0.82	5.59±0.93	5.30±0.97	6.46±0.77	5.99±0.62	6.67±0.98*↑
心臓 (絶対: g) ♂	1.01±0.11	0.94±0.09	0.99±0.07	0.87±0.06**↓	0.96±0.08	0.90±0.10*↓
(相対: g%)	0.32±0.01	0.31±0.01	0.31±0.02	0.30±0.02**↓	0.31±0.02	0.30±0.02**↓
(絶対: g) ♀	0.72±0.06	0.72±0.07	0.68±0.04	0.61±0.02**↓	0.68±0.05	0.63±0.05**↓
(相対: g%)	0.36±0.02	0.34±0.02	0.34±0.03	0.32±0.01**↓	0.33±0.02*↓	0.32±0.01**↓
肝臓 (絶対: g) ♂	9.7±0.9	9.8±1.2	10.4±1.1	10.7±1.1	10.5±0.9	11.1±1.5*↑
(相対: g%)	3.12±0.20	3.18±0.23	3.28±0.23	3.60±0.18**↑	3.36±0.24	3.64±0.28**↑
(絶対: g) ♀	6.0±0.6	6.1±0.6	6.3±0.4	6.4±0.5	6.2±0.5	6.6±0.6
(相対: g%)	2.95±0.20	2.92±0.13	3.07±0.16	3.35±0.18**↑	3.00±0.13	3.37±0.20**↑
脾臓 (絶対: g) ♀	0.46±0.06	0.51±0.07	0.46±0.08	0.49±0.08	0.46±0.05	0.53±0.05
(相対: g%)	0.23±0.03	0.24±0.04	0.22±0.03	0.26±0.03	0.22±0.02	0.27±0.02**↑
腎臓 (絶対: g) ♂	0.97±0.09	0.97±0.06	1.02±0.09	1.01±0.09	1.04±0.09	1.04±0.10
[右腎] (相対: g%)	0.31±0.01	0.31±0.02	0.32±0.02	0.34±0.02**↑	0.33±0.02*↑	0.34±0.02**↑
(絶対: g) ♀	0.67±0.05	0.70±0.05	0.67±0.05	0.70±0.05	0.69±0.06	0.70±0.07
(相対: g%)	0.33±0.03	0.34±0.02	0.33±0.02	0.36±0.02**↑	0.34±0.02	0.36±0.02*↑
精巣上体(絶対: g)	0.34±0.03	0.36±0.02	0.35±0.03	0.34±0.03	0.37±0.02*↑	0.35±0.03
[右側] (相対: g%)	0.11±0.01	0.12±0.01	0.11±0.01	0.12±0.01	0.12±0.01	0.11±0.01
病理組織検査	—	—	—	多核肝細胞:♂4	—	多核肝細胞:♂2 肝臓の巣状壊死:♂1
C _{max} ¹⁾						
OPZ (ng/mL)	・	2.05	・	・	2.18	8.38
CAM (μg/mL)	・	・	1.44	6.08	1.62	4.87
AUC _{0-24hr} ¹⁾						
OPZ (ng·hr/mL)	・	NE	・	・	NE	NE
CAM (μg·hr/mL)	・	・	11.50	65.16	16.03	69.90
C _{max} ²⁾						
OPZ (ng/mL)	・	5.78	・	・	<5	<5
CAM (μg/mL)	・	・	1.63	4.79	1.75	4.97
AUC _{0-24hr} ²⁾						
OPZ (ng·hr/mL)	・	NE	・	・	NE	NE
CAM (μg·hr/mL)	・	・	12.95	58.12	13.70	54.39

—: 特記すべき所見なし, ↑: 増加, ↓: 減少, 平均±標準偏差, NE: データなし, ・: 実施せず

*:P<0.05, **:P<0.01 (対 対照群, Dunnett 検定)

1): 投与初日の成績 (雄のみ, n=4), 2): 投与 28 日の成績 (雄のみ, n=4)

(2) OPZ+CAM+AMPC 併用によるラット 4 週間反復投与毒性試験

1 群雌雄各 10 例のラットに OPZ 10 mg/kg, CAM 200 mg/kg, AMPC 375 mg/kg を 4 週間単独又は併用 (OPZ+CAM, OPZ+AMPC 及び OPZ+CAM+AMPC) 経口投与し, 反復投与毒性を検討した (表ニ-9)。

用量設定の根拠: 投与量は臨床での推定併用比率及び各被験物質単独の反復投与における無毒性量を参考にし, 推定臨床用量の 10 倍以上に相当する OPZ 10 mg/kg, CAM 200 mg/kg, AMPC 375 mg/kg を設定した。

結果：投与期間を通じて、いずれの投与群にも死亡は認められず、一般状態にも異常はみられなかった。

体重増加抑制が CAM を投与したすべての群の雄及び AMPC 単独群の雄で、摂餌量の減少が CAM を投与したすべての群の雌雄、AMPC 単独群及び OPZ+AMPC 併用群の雄でそれぞれ認められた。しかし、これら体重及び摂餌量の変動は単独、併用投与とも同程度であった。

血液学的検査では、フィブリノーゲン量の増加が CAM 単独群、AMPC 単独群及び 3 剤併用群の雄で認められたが、いずれも軽度な変動であり、併用による影響は認められなかった。

血液化学的検査では、A/G 比の低下が CAM を投与したすべての群の雌雄でみられたが、総蛋白量には変動はなく、併用による影響も認められなかった。また、トリグリセライド及びリン脂質の減少が CAM を投与したすべての群の雄で認められ、トリグリセライドの変化は 3 剤併用群で強かった。これら脂質系の変化は抗菌剤による腸内細菌叢の変動が、栄養吸収の変調をもたらしたことに起因したと考えられており^{1, 2)}、トリグリセライドの変化が 3 剤併用群で強かったのは、CAM 及び AMPC の抗菌作用が相加された結果と考えられた。なお、OPZ+CAM 併用群の雌ではリン脂質の増加 (150 ± 18 mg/dL) がみられているが、OPZ 及び CAM 単独群、3 剤併用群とも増加はみられず、施設背景データ範囲内 (149 ± 29 mg/dL, $n=169$) の変動であることから、OPZ+CAM 併用投与に起因したものではないと考えられた。

尿検査では尿蛋白、ウロビリノーゲン、ケトン体の増加が CAM を投与したすべての群の雌でみられ、3 剤併用群ではウロビリノーゲンの増加が雄でもみられた。その他、ナトリウム量の減少が OPZ 単独群以外の群の雄でみられた。尿蛋白、ウロビリノーゲン、ケトン体の増加は CAM 投与に起因する変化と考えられたが、ウロビリノーゲンについては、尿中及び血中ビリルビン値に変動がみられていないこと、ケトン体については軽度の変化であり、他に栄養障害を示唆する所見もないことから、ともに毒性所見と判断しなかった。また、尿蛋白については、併用による変化の増強はみられなかった。一方、ナトリウム量の減少は 3 剤併用群で大きかった。抗菌剤の経口投与時には、腸内細菌叢の変化に伴い盲腸拡張がみられるが、この盲腸の拡張によりナトリウムイオンが盲腸内に滞留し、尿中排泄量が減少することが知られている^{2, 3)}。よって、ナトリウム量の減少が 3 剤併用群で大きかったのは、盲腸の拡張の頻度が 3 剤併用群で高かったことに起因すると考えられた。しかし、いずれの群も血清ナトリウム量には変化がみられず、毒性学的意義は低いと考えられた。

-
- 1) 枝長正修ほか、Sodium (2S,5R,6R)-3,3-dimethyl-6-[(R)-2-[3-(methylsulfonyl)-2-oxo-1-imidazolidinecarboxamido]-2-phenylacetamido]-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptane-2-carboxylate (Mezlocillin) の毒性研究 (第 1 報) 急性毒性と静脈内投与亜急性および慢性毒性、*応用薬理*, 1979, 17, 513-533
 - 2) 竹内雅也ほか、Cefuroxime axetil (CXM-AX) のラットにおける経口投与亜急性毒性試験、*Chemotherapy*, 1986, 34 (S5), 72-100
 - 3) 小野寺威ほか、合成抗菌剤 DL-8280 のラットにおける 4 週間経口亜急性毒性、*Chemotherapy*, 1984, 32 (S1), 1091-1104

臓器重量では肝臓重量の増加がCAM単独群の雌及びOPZ+CAM併用群の雌雄にみられた。CAMを単独あるいは併用投与した群では、組織所見として肝小葉間胆管上皮細胞の空胞化、壊死及び多核肝細胞がみられており、肝臓への影響が示唆されたが、併用による変化の増強はみられなかった。

剖検では盲腸の拡張が対照群及びOPZ単独群を除く群でみられたが、3剤併用群で最も高い頻度であった。病理組織学的検査では、大腸（盲腸、結腸、直腸）で粘膜の肥厚、細胞浸潤あるいは杯細胞の減少が主としてAMPCを投与した群にみられ、また、対照群、OPZ及びCAM単独投与群及びOPZ+CAM併用投与群で散見された大腸粘膜表層面の不整化の出現頻度が3剤併用群で高かった。抗菌剤の経口投与時には、前述のように腸内細菌叢の変化に伴い盲腸拡張及び盲腸粘膜の肥厚を主とした変化がみられることが報告されており¹⁾、本試験でみられた大腸における形態変化も、腸内細菌叢の変化に関連したものと考えられた。3剤併用群で粘膜表層面の不整化の出現頻度が高かった原因については、CAM併用によって腸内細菌叢の変動がAMPC単独投与の場合と異なったことに起因すると考えられた。しかし、いずれの群でも粘膜の変性・壊死などの障害を示す所見はみられず、その影響は軽度であると考えられた。

被験物質の血漿中濃度の成績から、いずれの用量群においても全身的曝露が確認されたが、OPZについては、CAMとの併用反復投与により血漿中濃度は低下した。その原因を明らかにするために、本試験で用いたラットの肝臓を一部採取し、肝薬物代謝酵素活性及びin vitroにおけるOPZ代謝速度を測定した。その結果、CAMを投与した全ての群でOPZ代謝が1.5～3倍に増加しており、OPZ血漿中濃度低下の原因は、CAM投与によるOPZ代謝の亢進に起因したものと考えられた（p.147：「②肝薬物代謝酵素活性及びOPZ代謝（in vitro）に対する反復投与の影響」の項参照）。なお、このような現象はラットでのみ観察される特異的なものであった。

以上、ラットにOPZ、CAM及びAMPCを4週間反復経口投与したとき、OPZ+CAM、OPZ+AMPCの2剤併用投与で認められた所見は、CAM又はAMPC単独投与でも認められた所見であり、3剤併用投与群では、2剤併用投与群で認められた所見のうちトリグリセライド減少の増強、盲腸拡張の出現頻度の増加がみられたほか、対照群、OPZ及びCAM単独投与群及びOPZ+CAM併用投与群で散見された大腸粘膜表層面の不整化の出現頻度が増加した。これらは、抗菌剤の総投与量が多いこと又は作用機序の異なる2種の抗菌剤の作用が加算された結果と考えられ、併用により毒性所見が著明に増強されたり、予期し得ない新たな毒性所見が認められることはなかった。

1) 滝田節郎ほか、L-105のラットにおける他抗生剤との4週間併用毒性試験、薬理と治療、1988、16、4119-4130

表ニ-9 ラット 3 剤併用 4 週間反復投与毒性試験

動物種・系統 ・週齢	ラット・SD 系・6 週齢						
投与経路・方法、 溶媒	1 日 1 回、4 週間連続経口投与、 OPZ : 0.5 %メチルセルロース、CAM : 5 %アラビノゴム、AMPC : 0.5 %カルメロースナトリウム 対照群では、0.5 %メチルセルロース、5 %アラビノゴム及び 0.5 %カルメロースナトリウムを投与						
投与量 (mg/kg/日)	OPZ : 10, CAM : 200, AMPC : 375						
投与群	対照群	OPZ	CAM	AMPC	OPZ +CAM	OPZ +AMPC	OPZ +CAM +AMPC
動物数	♂10, ♀10	♂10, ♀10	♂10, ♀10	♂10, ♀10	♂10, ♀10	♂10, ♀10	♂10, ♀10
死亡数	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
一般状態	—	—	—	—	—	—	—
体重 ♂ (投与 3 日:g) ♀	246±6 180±13	245±10 181±10	234±5**↓ 183±10	236±6**↓ 188±10	231±6**↓ 184±12	244±7 185±8	235±5**↓ 181±9
摂餌量 ♂ (投与 3 日:g) ♀	28±2 19±2	28±2 19±1	23±2**↓ 16±2**↓	21±2**↓ 18±2	21±2**↓ 14±2**↓	25±3*↓ 17±2	20±1**↓ 15±1**↓
血液学的検査 フィブリノーゲン ♂ (mg/dL) ♀	250±18 233±36	252±23 218±22	281±25#↑ 244±31	288±41↑ 244±51	275±27 244±25	262±18 208±23	291±13##↑ 230±24
血液化学的検査 A/G 比 ♂ ♀	0.82±0.04 0.94±0.06	0.84±0.07 0.94±0.04	0.72±0.06**↓ 0.81±0.07**↓	0.81±0.04 0.91±0.10	0.72±0.06**↓ 0.81±0.04**↓	0.88±0.06 0.94±0.08	0.72±0.06**↓ 0.81±0.05**↓
トリカルセライト ♂ (mg/dL) ♀	99±38 36±10	107±64 40±17	64±16↓ 35±8	98±42 44±10	53±9##↓ 43±7	93±30 35±6	32±8##↓ 32±6
リン脂質 ♂ (mg/dL) ♀	112±7 127±23	113±17 144±24	86±15**↓ 120±10	105±17 128±12	92±15*↓ 150±18*↑	104±16 130±25	82±16**↓ 115±16
尿検査 蛋白 ウロビリノーゲン ケトン体 ナトリウム ♂ (mEq/24h) ♀	— — — 1.77±0.39 0.83±0.60	— — — 1.51±0.78 0.83±0.44	↑(♀) ↑(♀) ↑(♀) 1.06±0.42#↓ 0.57±0.19	— — — 1.08±0.37#↓ 0.67±0.31	↑(♀) ↑(♀) ↑(♀) 1.16±0.49#↓ 0.86±0.30	— — — 1.10±0.18##↓ 0.61±0.18	↑(♀) ↑(♂♀) ↑(♀) 0.83±0.38##↓ 0.38±0.15
眼科学的検査	—	—	—	—	—	—	—
剖検 (♂10 ♀10)	♂ ♀	♂ ♀	♂ ♀	♂ ♀	♂ ♀	♂ ♀	♂ ♀
盲腸の拡張	0 0	0 0	5 0	1 0	8 0	2 2	10 9
臓器重量 肝臓 (絶対:g) ♂ (相対:g%) (絶対:g) ♀ (相対:g%)	12.27±1.18 3.16±0.18 7.14±1.16 2.91±0.14	12.91±1.89 3.17±0.24 7.05±0.77 2.93±0.16	11.68±1.53 3.37±0.28 7.51±0.84 3.22±0.17**↑	12.34±1.27 3.11±0.17 7.12±0.66 2.95±0.16	12.32±1.23 3.51±0.22**↑ 7.81±0.59 3.28±0.17**↑	11.92±1.35 3.05±0.19 6.89±0.66 2.95±0.18	11.00±0.93 3.11±0.16 7.15±0.70 2.99±0.13

— : 特記すべき所見なし, ↑ : 増加, ↓ : 減少, () 内は性別, 平均±標準偏差

*:P<0.05, **:P<0.01 (対 対照群, Dunnett 検定), #:P<0.05, ##:P<0.01 (対 対照群, Dunnett 型順位検定)

表ニ-9 ラット 3 剤併用 4 週間反復投与毒性試験（つづき-1）

投与量(mg/kg/日)	OPZ : 10, CAM : 200, AMPC : 375													
投与群	対照群		OPZ		CAM		AMPC		OPZ +CAM		OPZ +AMPC		OPZ +CAM +AMPC	
病理組織検査	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
粘膜表層面の不整														
化														
：盲腸	0	1	0	2	0	2	0	0	0	1	0	0	7	10
：結腸	0	0	0	2	0	1	0	0	0	0	0	0	9	10
：直腸	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8	1
粘膜の肥厚														
：盲腸	0	0	0	0	1	0	9	5	1	0	5	9	0	0
：直腸	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0
粘膜の細胞浸潤														
：盲腸	2	0	0	0	1	0	10	9	2	2	7	7	0	2
：結腸	0	0	0	0	0	1	8	8	0	0	8	6	0	0
：直腸	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	2	0	0	0
杯細胞の減少														
：結腸	0	0	0	0	0	0	9	7	0	0	10	10	8	5
肝小葉間胆管上														
皮														
：細胞空胞化	0	0	0	0	10	10	0	0	10	10	0	0	10	9
：細胞壊死	0	0	0	0	2	1	0	0	1	3	0	0	1	0
多核肝細胞	0	0	0	0	4	3	0	0	4	3	0	0	5	2
$C_{max}^{1)}$														
OPZ (ng/mL)	・		246.7		・		・		70.1		161.9		64.6	
CAM(μg/mL)	・		・		3.55		・		3.41		・		3.07	
AMPC(μg/mL)	・		・		・		16.9		・		16.0		10.6	
$AUC^{1)}$														
OPZ (ng・hr/mL)	・		62.0		・		・		27.5		49.2		18.0	
CAM (μg・hr/mL)	・		・		41.0		・		38.5		・		37.7	
AMPC(μg・hr/mL)	・		・		・		74.5		・		84.7		52.2	
$C_{max}^{2)}$														
OPZ (ng/mL)	・		382.8		・		・		32.1		213.7		26.1	
CAM(μg/mL)	・		・		3.07		・		4.17		・		5.03	
AMPC(μg/mL)	・		・		・		15.1		・		11.0		13.0	
$AUC^{2)}$														
OPZ (ng・hr/mL)	・		84.7		・		・		3.5		79.5		6.6	
CAM (μg・hr/mL)	・		・		42.2		・		41.7		・		44.5	
AMPC(μg・hr/mL)	・		・		・		43.7		・		70.3		77.7	

1) 投与初日の成績, OPZ:AUC_{0-1hr}, CAM, AMPC: AUC_{0.5-24hr}, (雄のみ, n=3)2) 投与 28 日の成績, OPZ:AUC_{0-1hr}, CAM, AMPC: AUC_{0.5-24hr}, (雄のみ, n=3)

・ : 実施せず

(3) OPZ+CAM+AMPC 併用によるイヌ 4 週間反復投与毒性試験

1 群雌雄各 3 例のイヌに OPZ 5 mg/kg, CAM 25 mg/kg, AMPC 500 mg/kg を 4 週間単独又は併用 (OPZ+CAM, OPZ+AMPC 及び OPZ+CAM+AMPC) 経口投与し, 反復投与毒性を検討した (表ニ-10)。

用量設定の根拠: OPZ は, イヌの 13 週間反復投与毒性試験¹⁾で, 嘔吐及び胃の病理学的変化等がみられ, かつヒトでの血中濃度を上回ることが予想される 5 mg/kg を設定した。CAM

1) 長島吉和ほか, Omeprozole のビーグル犬における 13 週間経口投与亜急性毒性試験とその回復試験, 応用薬理, 1988, 36, 209-229

はイヌの4週間反復投与毒性試験¹⁾で、嘔吐、流涙及び結膜充血がみられ、ヒトでの血中濃度を上回ることが予想される25 mg/kgを設定した。AMPCは、推定臨床用量より十分高い用量（約15倍）として500 mg/kgを設定した。

結果：投与期間を通じて、いずれの投与群にも一般状態に異常はみられず、死亡も認められなかった。

体重、摂餌量、摂水量、尿検査、血液学的検査、血液化学的検査、眼科学的検査、心電図及び病理組織学的検査で被験物質投与に起因する変化は認められなかった。

OPZ投与に起因する変化として、胃重量の増加がOPZ単独投与群の雄及びOPZ+AMPC併用投与群の雌雄でみられ、両群では胃の膨大も観察された。しかし、胃の組織学的変化は認められず、その影響は軽度なものと考えられ、併用による増悪もみられなかった。

被験物質の血漿中動態パラメータは、表ニ-10に示した。いずれの用量群においても全身的曝露が確認され、血漿中の被験物質濃度は、OPZ、CAM及びAMPC濃度とも併用及び反復投与による顕著な変動はみられなかった。なお、本試験の投与28日目における各被験物質のC_{max}をヒトの推定臨床用量におけるC_{max}（p.169：表へ-22参照）と比較すると、OPZで約3.3～5.2倍、CAMで約1.9倍、AMPCで約5.5～7.7倍の曝露量であった。

以上、イヌにOPZ、CAM及びAMPCを4週間反復経口投与したとき認められた所見は、OPZ投与によって発現することが知られている胃重量の増加、胃の膨大などの変化のみであり、3剤併用によりこの所見が増強されることはなく、新たな毒性の発現もみられなかった。

1) 阪川隆司ほか、TE-031の毒性研究（第6報）イヌの急性および亜急性毒性試験、*基礎と臨床*、1988、22、1453-1483

表二-10 イヌ 3 剤併用 4 週間反復投与毒性試験

動物種・系統・週齢	イヌ・ビーグル・6 カ月齢						
投与経路（投与方法）、 溶媒	1 日 1 回，4 週間連続経口投与， OPZ：0.5 %メチルセルロース，CAM，AMPC：ゼラチンカプセル 対照群では，0.5 %メチルセルロース及びゼラチンカプセルを投与						
投与量（mg/kg/日）	OPZ：5，CAM：25，AMPC：500						
投与群	対照群	OPZ	CAM	AMPC	OPZ +CAM	OPZ +AMPC	OPZ +CAM +AMPC
動物数	♂3，♀3	♂3，♀3	♂3，♀3	♂3，♀3	♂3，♀3	♂3，♀3	♂3，♀3
死亡数	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
一般状態	—	—	—	—	—	—	—
体重（増加量:kg） ¹⁾	♂ 0.8±0.3 ♀ 0.5±0.4	♂ 0.6±0.4 ♀ 0.7±0.2	♂ 0.9±0.2 ♀ 0.7±0.5	♂ 1.0±0.2 ♀ 0.7±0.3	♂ 0.9±0.2 ♀ 0.5±0.3	♂ 0.9±0.5 ♀ 0.8±0.4	♂ 0.5±0.2 ♀ 0.4±0.2
摂餌量（g/日） （投与 4 週）	♂ 300±0 ♀ 300±0	♂ 300±0 ♀ 287±23	♂ 300±0 ♀ 283±30	♂ 294±10 ♀ 300±0	♂ 300±0 ♀ 285±26	♂ 300±0 ♀ 300±0	♂ 291±16 ♀ 296±7
摂水量（mL/日） （投与 4 週）	♂ 733±174 ♀ 833±64	♂ 810±66 ♀ 697±191	♂ 770±151 ♀ 603±164	♂ 727±203 ♀ 630±252	♂ 723±110 ♀ 587±119	♂ 757±45 ♀ 713±57	♂ 677±71 ♀ 587±142
血液学的検査	—	—	—	—	—	—	—
血液化学的検査	—	—	—	—	—	—	—
尿検査	—	—	—	—	—	—	—
眼科学的検査	—	—	—	—	—	—	—
心電図	—	—	—	—	—	—	—
剖検（雌雄各 3 例） 胃の膨大	♂ ♀ 0 0	♂ ♀ 1 0	♂ ♀ 0 0	♂ ♀ 0 0	♂ ♀ 0 0	♂ ♀ 1 1	♂ ♀ 0 0
臓器重量							
胃（絶対:g）♂	103.1±10.2	124.5±26.6↑	102.5±11.1	87.6±13.5	111.2±11.9	135.5±18.8↑	97.3±7.6
（相対:g%）♂	1.15±0.03	1.43±0.21↑	1.10±0.08	0.97±0.07	1.26±0.09	1.48±0.22*↑	1.15±0.11
（絶対:g）♀	89.0±19.5	99.5±12.8	92.3±25.8	81.9±5.8	87.8±10.9	126.4±22.7↑	96.7±11.4
（相対:g%）♀	1.10±0.11	1.19±0.06	1.11±0.16	1.00±0.13	1.09±0.13	1.44±0.16*↑	1.23±0.11
病理組織検査	—	—	—	—	—	—	—
C _{max} ²⁾ （μg/mL）							
OPZ	・	3.26	・	・	3.01	2.32	2.59
CAM	・	・	3.79	・	3.00	・	5.40
AMPC	・	・	・	44.0	・	42.3	31.5
AUC ²⁾ （μg・hr/mL）							
OPZ	・	3.45	・	・	2.82	2.08	2.51
CAM	・	・	34.1	・	38.4	・	64.4
AMPC	・	・	・	235.2	・	228.1	181.6
C _{max} ³⁾ （μg/mL）							
OPZ	・	3.62	・	・	3.52	3.14	4.11
CAM	・	・	3.96	・	3.90	・	5.23
AMPC	・	・	・	51.9	・	40.5	44.0
AUC ³⁾ （μg・hr/mL）							
OPZ	・	4.10	・	・	3.53	4.09	4.01
CAM	・	・	43.6	・	48.6	・	60.3
AMPC	・	・	・	320.8	・	233.6	152.4

—：特記すべき所見なし，↑：増加，*：P<0.05（対 対照群，Dunnett 検定），平均±標準偏差，・：実施せず

1)：投与 0～4 週の増加量，2) 投与初日の成績，AUC_{0-24hr}，（雌雄合算）

3) 投与 28 日の成績，AUC_{0-24hr}，（雌雄合算）

3) 生殖発生毒性

OPZ 及び AMPC 単剤に催奇形性は認められていないが（表ニ-2, 4）, CAM 単剤では外国で実施された催奇形性試験において、親動物に毒性が現れる高用量で催奇形性及び胎児の発育抑制が認められている（表ニ-3）ため、妊婦又は妊娠している可能性のある婦人に対しては、本 3 剤併用療法においても CAM の使用上の注意を遵守する必要がある。

3 剤併用の生殖発生毒性試験については、3 剤併用の反復投与毒性試験において併用による毒性の増強や、新たな毒性発現が認められていないことを考慮し（p.85：「2. 2）反復投与毒性」の項参照）実施しなかった。

なお、他のプロトンポンプインヒビター（ランソプラゾール）, CAM 及び AMPC の 3 剤併用投与による生殖発生毒性試験では、母動物での毒性の増強とともに胎児の発育抑制の増強が報告されたことから¹⁾, OPZ の添付文書においても「その他の注意」の項にその旨を記載し、注意喚起を行う。

4) 遺伝毒性

マウスを用いた小核試験

ddY 系雄マウスを用い、OPZ, CAM 及び AMPC の 3 剤（各被験物質の投与量：500, 1000 及び 2000 mg/kg）を 2 日間併用経口投与して、最終投与後 24 時間に骨髓塗抹標本作製し、小核を有する多染性赤血球の出現頻度の増加を指標とした染色体異常誘発性を検討した。陽性対照群にはマイトマイシン C（投与量：1.0 mg/kg）を単回腹腔内投与した。結果を表ニ-11 に示した。

用量設定の根拠：投与可能な最大量とされる 2000 mg/kg を各々の被験物質の最高用量とし、公比 2 で 1000 及び 500 mg/kg を設定した。

結果：各投与群とも、一般状態及び体重には被験物質投与の影響は認められなかった。

骨髓塗抹標本の観察では、多染性赤血球の出現頻度及び小核を有する多染性赤血球の出現頻度に、溶媒対照群と各投与群間の有意差は認められなかった。一方、陽性対照群での小核を有する多染性赤血球の出現頻度は、溶媒対照群に比べ有意に上昇した。

1) タケプロン®カプセル添付文書、武田薬品工業株式会社、2000 年 9 月改訂（第 4 版）

表ニ-11 マウスを用いた小核試験

動物種, 系統, 週齢, 性	マウス, Slc:ddY, 8 週齢, 雄				
動物数	6 匹/群				
投与経路, 溶媒	経口, OPZ : 0.5 %メチルセルロース, CAM : 5 %アラビノコーム, AMPC : 0.5 %カルメロースナトリウム 溶媒対照群では, 0.5 %メチルセルロース, 5 %アラビノコーム及び 0.5 %カルメロースナトリウムを投与				
投与回数	2 回 (1 日 1 回 2 日間)				
標本作製時期	最終投与 24 時間後				
試験群構成	溶媒対照	マイトマイシン C	OPZ+CAM+AMPC		
投与量 (mg/kg/日)	—	1.0	500+500+500	1000+1000+1000	2000+2000+2000
全赤血球に対する多染性赤血球出現頻度 (%) ¹⁾	67.6±6.27	70.6±2.94	61.2±5.26	60.9±6.02	63.6±4.84
小核を有する多染性赤血球出現頻度 (%) ²⁾	0.05±0.08	2.95±0.69	0.15±0.10	0.20±0.18	0.13±0.20
判定 ³⁾	陰性	陽性	陰性	陰性	陰性

1) : 全赤血球 1000 個に対する出現頻度 (%) : 平均値±標準偏差

2) : 多染性赤血球 1000 個に対する出現頻度 (%) : 平均値±標準偏差

3) : Kastenbaum & Bowman の検定 (p<0.05) による判定

標本染色法 : メイグリュンワルド及びギムザ染色

以上, マウスに OPZ, CAM 及び AMPC の 3 剤を併用経口投与したとき, マウス骨髄細胞に染色体異常誘発作用は認められず, 併用による遺伝毒性の発現はないと考えられた。

5) 毒性試験で用いた用量の妥当性に関する考察

国内第Ⅲ相試験及び毒性試験で用いられた OPZ, CAM, AMPC 各剤の 1 回投与用量と混合比を表ニ-12 に示した。

表ニ-12 臨床試験及び毒性試験で用いられた 3 剤の用量と配合比

試験	OPZ	CAM	AMPC	混合比(OPZ:CAM:AMPC)
国内第Ⅲ相試験 [#]	20 mg	400 mg	750 mg	1 : 20 : 37.5
	20 mg	500 mg	1000 mg	1 : 25 : 50
単回投与毒性試験	500 mg/kg	1000 mg/kg	2000 mg/kg	1 : 2 : 4
ラット反復投与毒性試験	10 mg/kg	200 mg/kg	375 mg/kg	1 : 20 : 37.5
イヌ反復投与毒性試験	5 mg/kg	25 mg/kg	500 mg/kg	1 : 5 : 100
小核試験	500 mg/kg	500 mg/kg	500 mg/kg	1 : 1 : 1
	1000 mg/kg	1000 mg/kg	1000 mg/kg	
	2000 mg/kg	2000 mg/kg	2000 mg/kg	

#: 用法用量で設定した 1 回投与量; OPZ 20 mg, CAM 400 mg, AMPC 750 mg

OPZ, CAM 及び AMPC はそれぞれ既承認薬であり, 各単剤での安全性についてはいずれも非臨床的及び臨床的にこれまで多くの検討が行われ, 確認されている。よって, 3 剤併用

投与時の安全性を非臨床的に検討するにあたっては、併用投与することで、各剤で既知の毒性所見が顕著に増強されないかどうか、また、新たな毒性所見が発現しないかどうかを検証することを主たる目的として毒性試験を実施すべきであろうと考えた。このためには、各剤の用量が何らかの毒性所見を発現する用量もしくは臨床予定用量に比して十分高い用量を用い、併用投与における影響を評価することが必要であろうと判断した。

上記の判断を基に、毒性試験の用量を設定したが、国内第Ⅲ相試験で設定されている3剤の混合比（OPZ：CAM：AMPC＝1：20：37.5又は1：25：50）と、ラット反復投与毒性試験を除く毒性試験で用いた混合比は結果的に異なるものとなった。以下に用量設定根拠を記述するとともに、安全性試験の妥当性について記述した。

(1) 単回投与毒性試験

単回投与毒性試験の投与量は、経口単回投与試験における最大用量とされる2000 mg/kgを上限とし、単独投与で死亡がみられず、かつ推定臨床用量より十分に高い用量（約60～600倍）として、OPZは500 mg/kg、CAMは1000 mg/kg、AMPCは2000 mg/kgを設定した。

仮に単回経口投与時の上限とされる2000 mg/kg¹⁾を各剤の最大用量とし、用法用量で決められた3剤の混合比（OPZ：CAM：AMPC＝1：20：37.5）で最大用量を投与しようとする、OPZ 53 mg/kg、CAM 1067 mg/kg、AMPC 2000 mg/kgの設定となる。AMPC及びCAMは概ね投与した用量と対応するが、OPZのLD50値は>2000 mg/kgであり、500 mg/kgまで投与した13週間反復投与毒性試験においても死亡はみられていない（p.77：表ニ-2参照）ことを考慮すると、OPZ 53 mg/kgの用量は単回投与毒性試験の用量としては低いと考えられた。

今回設定した用量で、2000 mg/kgを単独投与したAMPCでは異常はみられなかったが、OPZ及びCAM単独群ではそれぞれ、自発運動の低下あるいは一時的な体重増加抑制等が観察されており、併用投与による単独投与での所見の増強や、新たな所見の有無についての確認をするという目的は達せられていると考えている。

(2) 反復投与毒性試験

前述の如く、OPZ、CAM及びAMPCはそれぞれ既承認薬であり、各単剤での反復投与時の安全性についてはいずれも高用量まで投与した検討が行われている（表ニ-13）。よって、3剤を併用で反復投与した時の安全性を非臨床的に検討するにあたっては、併用投与することで、既知の毒性所見が顕著に増強されないか、また、新たな毒性所見が発現しないかどうかを検証することを主たる目的として毒性試験を実施すべきであろうと考えた。

1) 厚生省薬務局審査課監修，医薬品非臨床試験ガイドライン解説 1997，薬事日報社，pp. 13, 1997

表ニ-13 各単剤で実施した反復投与（亜急性毒性）試験

薬物名	動物種，投与期間	投与用量
OPZ	ラット，13 週間 イヌ，13 週間	0.016～500 mg/kg 0.5～50 mg/kg
CAM	ラット，28 日間 イヌ，28 日間	12.5～800 mg/kg 6.25～400 mg/kg
AMPC	ラット，1 カ月	400～4000 mg/kg

併用による影響を単回投与で確認する際に，単剤で LD_{100} となる用量を併用投与してしまうと，併用の影響が確認できないのと同様に，反復投与においても単剤で顕著な毒性変化が発現する用量を用いた場合，併用投与群でみられる毒性変化が単剤のみに起因したものか，或いは併用投与に影響しているのかの判断が容易ではなく，併用投与による影響を見落とすことが懸念された。以上のことから，各剤の用量は，軽度の毒性兆候が認められる用量又は臨床予定用量に比して十分高い用量を用い，併用投与における影響を評価することが必要であろうと判断した。

① ラット反復投与毒性試験

投与量は臨床での推定併用比率及び各被験物質単独の反復投与における無毒性量を参考にし，推定臨床用量の 10 倍以上高い OPZ 10 mg/kg，CAM 200 mg/kg，AMPC 375 mg/kg を設定した。OPZ 10 mg/kg は，単剤における無毒性量の 5 倍，CAM は 4 倍に相当する用量であり，AMPC は盲腸の膨満及び重量の増加がみられる用量に相当しており，用量として妥当と判断するとともに，臨床での推定併用比率に合わせる事が可能であった。

本試験における 3 剤併用投与時の曝露量と，臨床での血中濃度との比較を表ニ-14 に示した。

表ニ-14 ラットの 3 剤併用反復投与毒性試験における各剤の曝露量と臨床での血中濃度との比較

薬物名	ヒトの血中濃度との比（倍） ¹⁾	
	C_{max}	AUC
OPZ ²⁾	≤0.1 倍	<0.1 倍
CAM	1.1～1.8 倍	1.6～1.9 倍
AMPC	1.9～2.3 倍	1.9～2.9 倍

1)：ヒトの投与量（mg/日）：OPZ/CAM/AMPC: 40/800/1500（p.169：表へ-22）

2)：単独投与群では C_{max} （246.7～382.8 ng/mL）で 0.3～0.5 倍，AUC（62.0～84.7 ng・hr/mL）で <0.1 倍

CAM 及び AMPC は臨床用量での曝露量と同等又はそれ以上であり，また単剤で毒性所見も散見されていることから，併用投与の影響を評価する用量として妥当であったと考えられた。

OPZ については，臨床用量における曝露量と比較すると低く，OPZ 及び CAM の 2 剤併用時及び 3 剤併用時には，CAM との併用による影響を受け単独投与時よりも OPZ の曝露が更

に低くなった。CAM と併用投与すると OPZ の曝露が減少する現象は、イヌの反復投与毒性試験やヒトにおいては認められておらず、ラット特有の現象であると考えられ(p.94:表ニ-10, p.157:表ニ-12) , ラットに CAM を投与した全ての群で OPZ 代謝が 1.5~3 倍に増加していることから、CAM 投与による OPZ 代謝の亢進に起因したものと考えられた (p.147:「② 肝薬物代謝酵素活性及び OPZ 代謝 (in vitro) に対する反復投与の影響」の項参照)。このように、ラット反復投与毒性試験における OPZ の曝露量はヒトの血中曝露量に比して低く、本試験の成績のみをもって、ヒトでの安全性を全て担保することは困難であると考えられた。しかしながら、以下の点を総合的に検討することにより、OPZ, CAM 及び AMPC の 3 剤併用療法ヒトにおける安全性の推察は可能であると考えている。

OPZ, CAM 及び AMPC はそれぞれ既承認薬であり、各単剤での安全性についてはいずれも非臨床的及び臨床的にこれまで多くの検討が行われ、確認されている。よって、3 剤併用投与時のヒトでの安全性を非臨床的に確認すべき点は、併用投与することで各剤で既知の毒性所見が顕著に増強されないかどうか、また、新たな毒性所見が発現しないかどうかを検証することである。

本試験で用いた OPZ の用量は前述のように OPZ を 13 週間反復投与した試験の結果を基に設定した (p.77:表ニ-2)。すなわち、0.4 mg/kg 以上の投与で胃の ECL 細胞の肥大・増殖、2 mg/kg 以上の用量で胃重量の増加、8 mg/kg 以上の用量で副腎球状層の淡染色性細胞の増加及び胃主細胞分泌顆粒の好酸性化がみられ、無毒性量は薬理作用に基づく影響を除いて他に変化の認められなかった 2 mg/kg であったことから、無毒性量の 5 倍に相当し、毒性用量を超える 10 mg/kg を併用反復投与試験の用量として設定した。今回の反復投与試験の投与期間は 1 カ月であるが、上記のように 2 mg/kg 以上の用量で胃重量の増加がみられていることから、OPZ 投与に関連する変化がラットにおいて発現すると考えられる 10 mg/kg で試験を実施することで、3 剤併用投与の影響を検討した。結果的には今回の試験では OPZ 10 mg/kg 投与で胃重量の増加等の変化が観察されなかったが、10 mg/kg がこれらの変化の発現用量の閾値に近かったためと考えられた。ラットの反復投与毒性試験においては、OPZ の血中曝露量がヒトの血中曝露量に比して低かったが、OPZ 投与がラットに対して影響を与えると考えられる用量としては、10 mg/kg は必ずしも極めて低い用量ではないと推察される。従って、OPZ の曝露量が低い場合、ヒトの曝露量における併用投与影響を評価することは困難であるが、併用投与の影響の可能性の有無を示唆する一つの情報としては、本試験を評価することは可能であろうと考えられた。本試験の結果では、OPZ 併用により CAM, AMPC の毒性を著しく増強しておらず、3 剤併用により毒性の著しい増強はみられなかった。

また、3 剤併用投与による影響は、ラットのほか、イヌにおいても検討しており、イヌの 3 剤併用反復投与毒性試験における投与量 (OPZ 5 mg/kg, CAM 25 mg/kg, AMPC 500 mg/kg) は推定臨床用量に比して高く、曝露量についても臨床用量での曝露量と同等もしくはそれ以上であった。認められた所見は OPZ 反復投与によって発現することが知られている胃重量の増加、胃の膨大等の変化のみであり、3 剤併用によりこれらの所見が増強されることもなかった。

国内第 I 相試験においては、3 剤併用では 1 日最高 OPZ 40 mg, AMPC 2000 mg 及び

CAM1000 mg までの用量が健康成人男子（延べ被験者数 48 例）に単回又は 7 日間経口反復投与されているが、下痢等の消化器症状、臨床検査値異常変動が一過性にみられたのみで、ほとんどの症例で処置を必要とせずに消失し、その忍容性に特に問題はないと判断されている。臨床試験において自他覚症状で最も多く認められた下痢も、抗菌剤（CAM 又は AMPC）の単独投与で知られているものであり、3 剤併用により特に増強されることもないことが示されている。

この他、1 日最高 OPZ 40 mg、AMPC 2000 mg 及び CAM 1000 mg までの用量を 1 週間投与した国内第Ⅲ相試験、日本人に 1 日最高 OPZ 40 mg、AMPC 1500 mg 及び CAM 800 mg までの用量を、スウェーデン人に OPZ 40 mg、AMPC 2000 mg 及び CAM 1000 mg を 1 週間投与したスウェーデン・日本国際多施設共同試験、1 日最高 OPZ 40 mg、AMPC 2000 mg 及び CAM 1000 mg を 1 週間投与した MACH1 試験など、国内外で臨床試験が実施されているが、これら何れの試験も、下痢等の消化器症状や味覚障害等がみられるものの、その忍容性に特に問題はないと判断されている。また、遺伝多型により OPZ のヒトでの曝露量は大きく変動するが、3 剤併用投与時のヒトの安全性には OPZ の曝露量の変動の影響はみられていない（p.182：「② 安全面での考察」の項）。

以上のように、ラット、イヌの 3 剤併用投与試験成績に加え、単剤の毒性試験成績、ヒトでの安全性の情報及び薬物動態プロファイルから総合的に判断することによって、本 3 剤併用療法で設定された用法用量でヒトが服用した時の安全性は推察されていると考えられた。

② イヌ反復投与毒性試験

OPZ は、イヌの 13 週間反復投与毒性試験¹⁾で、嘔吐及び胃の病理学的変化等が 5 mg/kg でみられ、かつヒトでの血中濃度を上回ることが予想されたため、5 mg/kg を設定した。CAM はイヌの 4 週間反復投与毒性試験²⁾で、嘔吐、流涙及び結膜充血がみられ、ヒトでの血中濃度を上回ることが予想される 25 mg/kg を設定した。AMPC は、推定臨床用量より十分高い用量（約 15 倍）として 500 mg/kg を設定した。

本試験における 3 剤併用投与時の曝露量と、臨床での血中濃度との比較を表ニ-15 に示した。OPZ、CAM 及び AMPC はいずれも臨床用量での曝露量と同等もしくはそれ以上であった。

このように、投与した用量は臨床予定用量に比して高く、曝露量についても臨床用量での曝露量と同等もしくはそれ以上であり、かつ、併用投与の影響を過度の毒性変化によって見落とすことのない条件下で検討していることから、用いた用量は妥当であったと考えられた。

1) 長島 吉和ほか、Omeprazole のビーグル犬における 13 週間経口投与亜急性毒性試験とその回復試験、*応用薬理*, 1988, 36, 209-229

2) 阪川隆司ほか、TE-031 の毒性研究（第 6 報）イヌの急性および亜急性毒性試験、*基礎と臨床*, 1988, 22, 1453-1483

表ニ-15 イヌの3剤併用反復投与毒性試験における各剤の曝露量と臨床での血中濃度との比較

薬物名	ヒトの血中濃度との比 (倍) ¹⁾	
	C _{max}	AUC
OPZ	3.3～5.2 倍	0.9～1.4 倍
CAM	1.9 倍	2.6～2.8 倍
AMPC	5.5～7.7 倍	5.6～6.7 倍

1) : ヒトの投与量 (mg/日) : OPZ/CAM/AMPC: 40/800/1500 (p.169 表へ-22)

臨床での混合比に合わせた場合の問題点を以下に示す。

OPZ を 5 mg/kg とした場合、用法用量で決められた混合比で残りの CAM 及び AMPC の用量を設定すると、CAM は 100 mg/kg、AMPC は 187.5 mg/kg となる。しかしながら、CAM についてはイヌの 4 週間反復投与毒性試験で、嘔吐が 25 mg/kg 以上でみられており (p.79 : 表ニ-3) , OPZ でも嘔吐の所見がみられていることを考慮すると、100 mg/kg の用量を用いることで嘔吐に起因した 3 剤の全身曝露の低下が懸念された。CAM を 25 mg/kg とし、残りの OPZ 及び AMPC を設定した場合は、OPZ の用量が 1.25 mg/kg となり、単剤のイヌの 13 週間反復投与毒性試験における無毒性量 0.5 mg/kg に近づきすぎるため、用量的に適切ではないと考えられた。AMPC を基準に混合比に準じて設定した場合も、187.5 mg/kg 以上の用量では、OPZ 及び CAM の用量が高くなりすぎ、上述のように嘔吐の懸念や、単剤の毒性が強くなりすぎて、用量としては妥当ではないと考えられた。

本試験の一般症状は特記すべき所見無しとしているが、嘔吐が対照群を含む各群で散見されており、発現例数としては薬剤投与群で高かった (表ニ-16) 。しかしながら、これらの嘔吐が低頻度 (週 1～2 回) であったことから毒性変化とはとらえなかった。また、CAM 及び AMPC の投与量が OPZ を用いたイヌの 3 剤併用反復投与毒性試験と同じであるランソプラゾールを用いたイヌの 3 剤併用反復投与毒性試験¹⁾ においても嘔吐が観察され、投与期間を通じてほぼ連日嘔吐した動物も認められていることから CAM 及び AMPC の投与量をこれ以上に設定することは妥当ではないと考えられた。

表ニ-16 イヌの3剤併用反復投与毒性試験における嘔吐の発現例数

	対照群	OPZ	CAM	AMPC	OPZ+CAM	OPZ+AMPC	OPZ+CAM+AMPC
動物数	雄 3 雌 3	雄 3 雌 3	雄 3 雌 3	雄 3 雌 3	雄 3 雌 3	雄 3 雌 3	雄 3 雌 3
嘔吐を示した動物	雄 1 雌 1	雄 2 雌 3	雄 1 雌 2	雄 2 雌 1	雄 2 雌 3	雄 2 雌 2	雄 3 雌 2

1) タケプロンカプセル、アモリンカプセル及び細粒、パセトシンカプセル及び錠、サワシリンカプセル及び錠、アモピシリンカプセル、ワイドシリン細粒、アモキシシリンカプセル「トーフ」、クラリス錠及びクラリシッド錠、ヘリコバクター・ピロリ感染の効能・効果及び用法・用量の一部変更申請：新薬承認情報集 平成 12 年 No.41 (財) 日本薬剤師研修センター

以上のように、本試験においては、3 剤の混合比が臨床の比率と結果的に異なったが、併用投与での影響を検討するという目的の用量としては妥当であったと考えられた。

なお、イヌの嘔吐の懸念を払拭するために、イヌ以外の非ゲッ歯類で広く安全性試験に用いられ、また背景データの豊富な動物種としてサルを用いた反復投与毒性試験が考えられるが、CAM のサルにおける亜急性毒性試験においてもイヌと同様に嘔吐が発現しており¹⁾、特にサルを用いることの有用性はないと判断した。また、OPZ 及び AMPC 各剤の単独投与でのサルの亜急性毒性試験成績がないために、サルにおけるこれらの薬剤の毒性プロファイルは明らかになっていない。このため、併用投与によって毒性所見が顕著に増強されないか、また、新たな毒性所見が発現しないかどうかを検証するためには、併用投与の試験に先立ち、OPZ 及び AMPC 各剤単独のサルを用いた反復投与毒性試験を実施し、サルでの毒性プロファイルを明らかにした上で、OPZ 及び AMPC 各剤の至適用量を選定する必要がある。前述のように、OPZ、CAM 及び AMPC は医薬品として承認され、ヒトで永く使用されてきており、また、イヌの 3 剤併用反復投与毒性試験の評価が可能であると考えられることから、再度単剤の反復投与毒性の評価に立ち返ってから併用投与の影響を評価することは不要であると考えた。

(3) 小核試験

小核試験では、投与可能な最大量とされる 2000 mg/kg までを各々の被験物質の最高用量として動物に併用投与し、染色体誘発作用の有無を確認した。

小核試験においても、単回投与毒性試験と同様、用量の上限は 2000 mg/kg とされているため²⁾、用法用量で決められた混合比で最大量投与できるよう、OPZ、CAM 及び AMPC の用量を設定すると、OPZ 53 mg/kg、CAM 1067 mg/kg、AMPC 2000 mg/kg となり、OPZ の用量が小核試験の用量としては極めて低い用量になってしまう。このため、投与可能な最大量とされる 2000 mg/kg までを各々の被験物質の最高用量として動物に併用投与し、染色体誘発作用の有無を確認した本試験成績をもって併用投与での影響を評価することには問題がないと考えられた。

1) Chesterman, H.ほか, TE-031 の毒性研究 (第 8 報) サルの亜急性毒性試験, *基礎と臨床*, 1988, 22, 1502-1532

2) 厚生省薬務局審査課監修, 医薬品非臨床試験ガイドライン解説 1997, *薬事日報社*, pp. 46, 1997