

に結合するものの、リポソーム構造の崩壊は認められなかったことから、AMPH-B 含有の有無がリポソームの崩壊に影響することが示唆されているが、リポソームの崩壊過程にどのような因子が関与しているか詳細は不明である。

機構は、真菌表層に到達したリポソームが崩壊する機序とリポソームの崩壊に影響を及ぼす因子の解明の必要性について申請者の見解を尋ねた。

申請者は、真菌表層の本剤のリポソームが崩壊するメカニズムは、真菌に対する本剤の選択的な作用発現に関係するため、更に詳細な検討が必要であると考え、非臨床試験を継続実施中である。しかし、リポソームと真菌との相互作用に関する研究を含めて本剤のリポソーム構造の崩壊メカニズムに関する研究報告もないため、短期間にこれらを解明することは困難であると回答した。

機構は、本剤のリポソーム構造の崩壊機序に関する非臨床試験を今後も継続し、必要があれば得られた試験結果を医療現場に情報提供していく必要があると考える。

(2) リポソームの生体内での安定性について

機構は、炎症部位における本剤のリポソームの安定性について説明を求めた。

申請者は、以下のように回答した。

リポソームの構成成分として水素添加大豆リン脂質：コレステロール：ジステアロイルホスファチジルグリセロールナトリウム：AMPH-B をモル比 2 : 1 : 0.8 : 0.4 で配合した処方からなる本剤のリポソームの物理化学的性質として、 °C 付近までの生理的な温度条件下では相転移による膜の物性変化は認められない。炎症部位の pH は、正常部位より 0.5 程度低い 6.87 ~ 7.09 と報告されているが (J Oral Pathol 16: 36-44, 1987)、本剤のリポソームは酸性条件下において凝集するものの pH ではリポソームの凝集は認められないことから、物理的・化学的性質の面からリポソーム構造に与える影響は少ないと考える。

炎症部位で産生されるホスホリパーゼは、sn-2 位のエステル結合を切断するホスホリパーゼ A₂ が主であり、これにより sn-2 位のエステル結合が切断される可能性がある。しかしながら、分泌型ホスホリパーゼ A₂ により sn-2 位のエステル結合のみが切断されるため、AMPH-B と脂質成分の相互作用は維持されると考えられること、また国内臨床試験における慢性肝炎患者で認められた肝機能に関する有害事象はいずれも軽度であり、有害事象・副作用の発現率は、全症例での発現率と比較しても特に高いものではなかったことより、炎症部位において有害事象を誘発するほどのリポソーム構造の崩壊が起こる可能性は低いと推察される。

機構は、sn-2 位のエステル結合が切断されても本剤のリポソーム構造は維持されることを裏付ける試験結果は得られていないため、真菌感染症以外に基礎疾患として炎症性疾患を有する患者における本剤の安全性について市販後に情報収集していく必要があると考える。

(3) 血漿中 AMPH-B 濃度に影響を及ぼす因子

機構は、肝機能障害ラットでは本剤投与後の血漿中 AMPH-B の AUC_{0-∞} は正常動物の 4 倍以上昇していることから、肝機能障害を有する患者に本剤と使用した場合の安全性について市販後に情報収集していく必要があると考える。機構はこれを申請者に指示し、申請者はこれを了解した。

(4) 本剤の分布について

機構は、本剤はリポソーム構造のまま血管透過性の亢進した毛細血管より漏出すると申請者が説明している点について、正常動物と感染モデルにおいて本剤の分布に差異は認められているのか、尋ねた。

申請者は、以下のように回答した。

本剤投与後の臓器中 AMPH-B 濃度は全身感染モデルと正常動物との間に大きな差はないと報告されている (J Antimicrob Chemother 35: 509-519, 1995)。しかし、マウスの *Calbicans* 全身感染モデルに sulforhodamine 色素をリポソームに封入した本剤又は AMPH-B を含まない空リポソームを投与し、腎臓組織内分布を蛍光顕微鏡下で観察した結果、いずれも sulforhodamine の赤色蛍光が真菌感染部近傍に局在していたことから、リポソームは真菌感染マウスの感染部位近傍に局在することが示唆されている (「(i) 薬理試験成績」の項参照)。

機構は、本剤を投与した正常動物の肝臓、脾臓、肺、腎臓において AMPH-B の分布が認められており、真菌感染部位近傍以外にも AMPH-B はリポソーム型あるいは非リポソーム型として存在していると考え。したがって、本剤についても A*と同様に AMPH-B の毒性に注意していく必要があると考える。

(5) AMPH-B の代謝について

機構は、AMPH-B の代謝物が同定できなかった理由について説明を求めた。

申請者は、以下のように回答した。

AMPH-B の代謝反応は極めて進行しにくく、代謝物が生成するとしても量は多くないと推定されること、また [REDACTED] から、代謝物の同定には至らなかった。なお、AMPH-B に関しては多種類の製剤がこれまでに開発されているが、いずれも生体内での代謝反応に関しては報告されていない。

機構は、*in vitro* 代謝試験では AMPH-B の代謝物は検出されていないが、ラットでは本剤投与後の AMPH-B の総回収率は屍体を含めても 60%程度であったため、AMPH-B が代謝された可能性を含めて総回収率が低くなった理由について考察するように求めた。

申請者は、以下のように回答した。

回収率が低くなった理由としては、①AMPH-B やその代謝物の一部について、生体試料からの抽出率が低かった可能性、②AMPH-B の代謝物や分解物が、試験に用いた分析条件では検出できなかった可能性、③糞中 AMPH-B の測定値は定量限界未満であったものの、クロマトグラム上に AMPH-B のピークはいずれの測定時点でも検出され、定量限界以下ではあるものの測定した値を用いて累積排泄率を算出したために測定誤差が大きく、総回収率が低かった原因に一部寄与している可能が考えられるが、①～③のいずれの可能性の寄与が大きいかは不明である。

機構は、本剤投与後の AMPH-B の総回収率が低くなった理由は不明であり、AMPH-B の代謝について、文献を含めて今後も情報収集していく必要があると考える。

(iii) 毒性試験成績の概要

<提出された資料の概略>

(1) 単回投与毒性試験

単回投与毒性はラット及びイヌを用いて静脈内投与により検討された。

ラット (10、20、40、80mg/kg、bolus 投与) では、概略の致死量は雄で 80mg/kg、雌で 20～40mg/kg であった。雄 40mg/kg 以上投与群、雌 20mg/kg 以上投与群で自発運動減少等を認めしたが、生存動物ではこれらの症状は投与後 2 日以内に消失した。剖検では、死亡例で肝臓の退色等を認めしたが、生存例では特に異常を認めなかった。病理組織学的検査では、死亡例で肝臓の肝細胞壊死等を認め、生存例では膀胱の移行上皮細胞過形成等を認めた。

イヌ (1、4、12、40mg/kg、bolus 投与) では、概略の致死量は 40mg/kg を上回った。1mg/kg 投与群から、興奮、脱力等の症状が投与中あるいは投与直後に見られたが、殆どが投与後 30 分以内に消失した。肝臓に対しては 1mg/kg 以上投与群で AST の増加等、及び病理組織学的検査ではこれらに関連して、雄 4 及び 40mg/kg 投与群等で胆管増生等が認められ、肝細胞に対する障害性の影響が示唆された。腎臓に対しては 4mg/kg 以上投与群で尿細管の石灰沈着等が、脾臓に対しては 40mg/kg 投与群で泡沫細胞浸潤に関係すると思われる重量の高値が認められた。

イヌの bolus 投与にて低用量から認められた脱力等の所見は薬物濃度あるいは投与速度に起因したものと推測されたため、infusion による単回投与追加試験が実施された。1 及び 4mg/kg が 1 時間かけて単回投与された。4mg/kg 投与群でも投与中及び投与後に一般症状の異常は認められず、bolus 投与と比較して症状発現に差が認められた。腎臓への影響として、4mg/kg 投与群で尿量の増加等が認められたが、病理組織学的検査では異常を認めず、bolus 投与では 4mg/kg 以上投与群で腎臓の尿細管に軽微な石灰沈着が認められたことと比較すると、腎臓に対する影響としては大差のないものと考えられた。肝臓への影響として、1mg/kg 投与群から ALT、 γ -GTP の軽度な増加が認められたが、病理組織学的検査では異常を認めず、bolus 投与と比較して毒性の軽減が認められた。

(2) 反復投与毒性試験

反復投与毒性はラット及びイヌを用いて静脈内投与により検討された。

ラット 1 カ月間投与 (1、3、9、20mg/kg/日投与) では、雌 20mg/kg/日投与群に自発運動減少等の症状がみられ、投与 1～2 日目に 25 例中 12 例が死亡又は切迫殺された。雄 9mg/kg/日以上投与群に体重増加抑制がみられた。病理組織学的検査では、1mg/kg/日以上投与群で膀胱の移行上皮過形成等が認められた。肝臓には、雄 3 及び 9mg/kg/日投与群、雌 1mg/kg/日以上投与群で肝細胞壊死が認められた。肝細胞壊死は特に雌の 9mg/kg/日以上投与群で発現頻度が増加し、20mg/kg/日投与群の死亡及び切迫殺例では全例にみられ、これが死因と考えられた。血液生化学的検査では、雄 3 及び雌 9mg/kg/日以上投与群で本剤の含有成分であるコレステロールの影響と考えられるコレステロールの増加を認めた。血液学的検査では、雌 20mg/kg/日投与群で血小板数減少を認めた。また、リポソームのマクロファージによる貪食の結果と考えられる泡沫細胞の浸潤が、肝臓 (1mg/kg/日以上投与群) 等に認められ、これに関連して肝臓等の重量の高値も認められた。1mg/kg/日投与群から雌で肝細胞壊死、雌雄で膀胱移行上皮の過形成が見られたため、無毒性量は 1mg/kg/日未満と考えられた。

前述のラット 1 カ月間投与では、無毒性量が求められず、回復性の検討も実施されていなかったことから追加試験 (0.1、0.3、1、9mg/kg/日投与) が実施された。1mg/kg/日以上投与群

で BUN の増加等が認められたが、1mg/kg/日投与群より低用量については、毒性所見は認められなかったため、無毒性量は 0.3mg/kg/日と考えられた。回復性については、1mg/kg/日投与群で認められた変化は病理組織学的変化も含め、すべて 1 カ月の休薬により消失することが確認され、9mg/kg/日投与群での変化についても、尿中 NAG 増加等は程度が軽減し、その他の変化はすべて消失した。

ラット 6 カ月間投与 (0.03、0.3、3mg/kg/日投与) では、3mg/kg/日投与群で尿検査値の変動等、雄 3mg/kg/日投与群で γ -GTP 等の軽度な高値が認められた。0.3mg/kg/日以上投与群で泡沫細胞浸潤が肝臓等に認められ、これに関連して 3mg/kg/日投与群で肝臓等の重量の高値も認められた。また、血液学的検査で雄 0.3mg/kg/日以上投与群、雌 3mg/kg/日投与群にライソゾームの増加によるリンパ球内空胞の増加が認められた。以上の結果から、無毒性量は 0.03mg/kg/日と考えられた。回復性については、3mg/kg/日での変化について、腸間膜リンパ節の泡沫細胞浸潤は程度が軽減し、その他の変化はすべて消失した。

イヌ 1 カ月間投与 (0.25、1、4、8、16mg/kg/日投与) では、8mg/kg/日以上投与群で消瘦等の症状が認められ、飢餓による衰弱と体重減少が著しかった 16mg/kg/日投与群の全例及び 8mg/kg/日投与群の雄 3、雌 4 例を切迫殺とした。4mg/kg/日以上投与群で体重増加抑制及び摂餌量の減少が見られた。1mg/kg/日以上投与群で尿量増加、尿細管再生、クッパー細胞の空胞化、血小板数の減少等が認められた。8 及び 16mg/kg/日投与群の切迫殺の原因は腎不全及び飢餓による衰弱に関連するものであった。1mg/kg/日投与群から血小板数の減少、ならびに腎臓及び肝臓に影響が認められたため、無毒性量は 0.25mg/kg/日と考えられた。

イヌ 3 カ月間投与 (0.1、0.5、2.5mg/kg/日投与) では、0.5mg/kg/日以上投与群で口腔粘膜の蒼白等が認められたが、これらの症状は投与期間の初期に投与中あるいは投与直後から発現し、そのほとんどは 30 分前後で消失し、投与 4 週以降に異常は認められなかった。同投与群にて摂水量及び BUN の高値又は高値傾向、好塩基性尿細管、類洞細胞の空胞、脾臓の泡沫細胞の浸潤等が認められた。0.5mg/kg/日投与群から一般症状の変化等が認められたため、無毒性量は 0.1mg/kg と考えられた。

イヌ 9 カ月間投与 (0.03、0.3、1.5mg/kg/日投与) では、0.3mg/kg/日以上投与群で口腔粘膜の蒼白等が認められたが、これらの症状は投与期間の初期の投与中あるいは投与直後から発現し、その殆どは 15 分前後で消失し、投与 4 週以降に異常は認められなかった。0.3mg/kg/日以上投与群で尿量及び α 2-グロブリンの高値又は高値傾向、好塩基性尿細管、肝臓重量の高値傾向 (雄 0.3mg/kg/日以上投与群、雌 1.5mg/kg/日投与群)、脾臓等への泡沫細胞の浸潤等が認められた。0.3mg/kg/日投与群から一般症状の変化等が認められたため、無毒性量は 0.03mg/kg/日と考えられた。

(3) 遺伝毒性試験

遺伝毒性試験は、ネズミチフス菌及び大腸菌を用いた復帰突然変異試験、チャイニーズハムスター肺由来培養細胞を用いた染色体異常試験、マウス小核試験が実施されており、いずれの結果も陰性と考えられた。

(4) がん原性試験

ラット 6 カ月及びイヌ 9 カ月反復投与毒性試験にて、前がん病変を含め発がん性を疑う所見

は認められなかったこと等の理由から、本剤ががん原性を示すとは考え難く、がん原性試験は実施されなかった。

(5) 生殖発生毒性試験

生殖発生毒性試験はラット及びウサギを用いて静脈内投与により検討された。

ラット受胎能試験（5、10、15mg/kg/日投与）では、雌雄親動物の5mg/kg/日以上投与群で摂餌量の低下等が見られた。15mg/kg/日投与群では雌7例が死亡し、剖検で異常の見られた肝臓の病理組織学的検査でびまん性の肝細胞壊死を認めた。生殖能に対しては、10mg/kg/日以上投与群で性周期の異常（発情休止期の延長）及び黄体数の低値が認められたが、性周期の異常が見られた時期はほとんどの例で体重及び摂餌量に影響が見られた期間に一致しており、性周期の異常及び黄体数の低値は、一般状態の悪化及びホルモンの不均衡により引き起こされた可能性が示唆された。次世代に対しては、15mg/kg/日投与群で黄体数の低値に関連すると考えられる生存胚数の低値が認められた。以上より、親動物に対する一般毒性学的無毒性量は雌雄ともに5mg/kg/日未満、生殖に対する無毒性量は雄で15mg/kg/日、雌で5mg/kg/日、次世代に対する無毒性量は10mg/kg/日と考えられた。

ラット胚・胎児試験（5、10、15mg/kg/日投与）では、母動物の10mg/kg/日以上投与群で体重増加抑制及び摂餌量の低値ならびに帝王切開時の剖検にて肝臓の白色巣を認めた。生殖及び次世代については、本剤に起因する毒性所見が認められなかったことから、親動物に対する一般毒性学的無毒性量は5mg/kg/日、生殖及び次世代に対する無毒性量は15mg/kg/日と考えられた。

ウサギ胚・胎児試験（3、7、16mg/kg/日投与）では、母動物の7mg/kg/日投与群の2例及び16mg/kg/日投与群の11例で流早産が見られたが、7mg/kg/日以上投与群に摂餌量及び体重の低値が認められており、流早産した動物はいずれも無摂餌状態を呈していたことから、本剤の投与による体重及び摂餌量の低値に起因した二次的な変化であると考えられた。生殖及び次世代については、本剤に起因する毒性所見が認められなかったことから、親動物の一般毒性学的無毒性量及び生殖に対する無毒性量は3mg/kg/日、次世代に対する無毒性量は16mg/kg/日と考えられた。

ラット出生後試験（1、2.5、5mg/kg/日投与）では、母動物の2.5mg/kg/日及び5mg/kg/日投与群の各1例で分娩中の死亡が認められ、5mg/kg/日投与群では投与初期に体重増加抑制及び摂餌抑制も見られた。分娩においては、2.5mg/kg/日以上の投与群で分娩状態及び哺育行動の不良が認められ、少数例の母動物で全児死産及び出産率の低下が認められた。次世代では、2.5mg/kg/日以上の投与群で出生時の死亡に伴う出生児数及び出生率の低値傾向が認められたが、その後の成長、発育分化及び機能に投与の影響は見られなかった。これらの変化は母動物の周産期における状態の悪化によるものと考えられた。以上の結果から、親の一般毒性、生殖及び次世代に対する無毒性量は1mg/kg/日と考えられた。更に、5mg/kg/日の用量で胎児の器官形成期のみ投与し、その後、自然分娩させて、分娩・哺育への影響を追加検討したが、5mg/kg/日投与群でも母動物の死亡はなく、分娩及び哺育状態も良好であり、出産率にも影響はなかった。一方、体重増加は前述の試験と同様に投与初期に抑制され、投与期間中に摂餌抑制も認められたが、次世代に対しては出生児数等に影響は認められなかったことから、先の試験で認められた母動物の分娩中の死亡、分娩状態及び哺育行動の不良については、分娩という

生理的負荷がかかる周産期での投与に起因したものと考えられた。

(6) 局所刺激性試験

局所刺激性試験はウサギを用い、血管刺激性試験が検討された。本剤 2.0mg/mL 溶液をウサギの耳介後静脈に 1 日 2 回 8 日間投与し、その血管刺激性を生理食塩液及び陽性対照である 5% スルホプロモフタレインナトリウム注射液を投与した場合と比較した結果、本剤の刺激性は生理食塩液と同等であり、刺激性はないと考えられた。

(7) その他の毒性試験

抗原性試験はモルモット全身性アナフィラキシー反応 (ASA 反応) 及び受身皮膚アナフィラキシー反応 (PCA 反応) ならびにマウス-ラット PCA 反応が実施された。

モルモット抗原性試験では、週 1 回、合計 3 回、本剤を 1 及び 10mg/kg の割合で静脈内投与する群及び本剤の 10mg/kg を FCA と混合して皮下投与する群が設けられた。最終投与 2 週間後に本剤を静脈内投与して惹起した結果、全身性アナフィラキシー反応は陰性であった。最終投与 2 週間後に得られた血清を用いた受身皮膚アナフィラキシー反応では、静脈内投与した群は陰性であったが、本剤を FCA とともに皮下投与して感作した群の 5 例中 1 例の血清で陽性反応が認められた。リポソーム対照群では陽性反応は認められなかった。

マウス抗原性試験では、本剤を 1 及び 10mg/kg の割合で週 1 回、合計 4 回静脈内投与する群及び本剤 10mg/kg を水酸化アルミニウムゲルと混合して 3 週間隔で 2 回腹腔内投与する群を設けた。最終感作の 7 日後に感作マウスより得られた血清をラットに皮内投与して受身皮膚アナフィラキシー反応が実施された結果、陰性であり、マウスに対して IgE 産生能を有しなかった。

ラット併用投与毒性試験では、本剤の有効成分である AMPH-B と併用する時に注意を要する薬剤として抗悪性腫瘍剤、副腎皮質ホルモン剤、利尿剤あるいは免疫抑制剤があげられているため、その中からシスプラチン、塩酸ドキソルビシン、コハク酸ヒドロコルチゾンナトリウム、フロセミド及びタクロリムス、シクロスポリンを選択し本剤の臨床試験における最大量 (5mg/kg) とこれら薬剤のそれぞれの臨床用量あるいは最大耐量を SD 系雌ラットに併用静脈内投与し、その相互作用について検討された。また、本剤単独群及び各併用薬剤群では、本剤の薬効成分である AMPH-B の血漿中濃度が測定された (薬物動態の項参照)。本剤とシスプラチン併用群では、投与 2 日から赤色尿等がみられ、投与 4 日までに全例が死亡あるいは切迫殺された。また、本併用群では、体重の減少、尿管の拡張等が認められたが、本剤単独群には認められず、シスプラチン単独群にのみ見られた腎臓皮髄境界部の尿細管壊死の程度が併用投与により増強し、更に腎尿細管の拡張等が認められたことから、主たる死因はシスプラチンの腎臓に対する作用の増強と考えられた。それ以外の併用群では、塩酸ドキソルビシンあるいはシクロスポリン併用群で血漿中 AMPH-B 濃度の若干の高値が認められたが、これらの薬剤を含め、いずれも併用投与による毒性の増強作用は認められなかった。以上、本剤とシスプラチンの併用投与により、シスプラチンの毒性として腎臓に対する影響が増強したが、単剤投与でみられないような新たな毒性の発現はないものと考えられた。

<機構における審査の概略>

機構は、非臨床試験における本剤と A*との安全性プロファイルの違いについて申請者に尋ねた。申請者は、以下の回答をした。

A*は 1962 年に承認されており、本剤について実施した毒性試験と同水準の非臨床の安全性試験データはないため、A*と本剤の非臨床における毒性プロファイルを網羅的に比較することは困難であるが、本剤は承認申請のために必要な安全性試験を実施しており、本剤で見られた毒性所見について広く文献検索を実施し、当該所見に関する A*における毒性所見と比較検討した。その結果、致死量、腎毒性、肝毒性、血中コレステロール／リン脂質濃度、網内系の泡沫細胞浸潤、刺激性に関しては、本剤と A*との間で異なった毒性所見を示すと考えられたが、本剤が A*と比較して重篤な影響を及ぼすことを示唆するデータはなく、A*と比較して安全であると考えられた。さらに、本剤は臨床用量付近で見られる毒性所見についてはいずれも休薬による回復性が確認されている。また、抗原性については A*のデータはないが、本剤の非臨床のデータから抗原性を示唆する所見は得られていない。

機構は、A*と本剤では体内動態が異なるものと考えられることから、今回の製剤で集積しやすい組織や臓器に A*に比して重篤な毒性が生じていないかどうか申請者に尋ねた。申請者は、以下の回答をした。

ラットとイヌに本剤、A*をそれぞれ 1mg/kg で投与したときの臓器中 AMPH-B 濃度を比較すると、肝臓や脾臓といった細網内皮系の発達した臓器では、本剤投与時では A*に対して同等かそれ以上、腎臓では A*の方が高濃度であり、肺ではラットとイヌで一定の傾向がないという結果であった。また、ラット反復投与試験でも肝臓及び脾臓に AMPH-B が高濃度に分布することが確認されている。本剤はリポソーム製剤であり、その物理化学的特性から生体においては細網内皮系臓器に取り込まれ、そこで高濃度に分布し、その消失は緩やかであると考えられる。肝臓では、実質細胞による取り込みの他、クッパー細胞による取り込みが生じるため、高濃度に分布すると考えられる。本剤の高用量投与において肝臓への影響が認められているものの、A*と同質の影響であり、むしろリポソーム製剤にすることにより肝臓への毒性影響の程度は抑制されていると考えられた。すなわち、イヌの 1 カ月間反復投与のデータでは A*については 0.625mg/kg という低用量から肝細胞の変性が発現しているのに対して、本剤では死亡の認められた 16mg/kg においても肝細胞の変性等の傷害性変化を伴うものはなかった。また、1mg/kg 以上でクッパー細胞の空胞化・細胞質内封入体が用量に依存して認められるものの、この所見はリポソーム製剤のクッパー細胞による貪食を示す病理所見と考えられた。ラットにおける肝臓内分布試験の結果、肝臓への分布には主に非実質細胞が寄与していたことから（肝実質細胞寄与率：15～20%、非実質細胞寄与率：80～85%）、リポソームのクッパー細胞による貪食の寄与が大きいものと考えられ、肝臓中 AMPH-B の存在形態については、少なくとも投与後初期には、A*投与時の存在形態である非リポソーム型よりも細胞傷害性の低いリポソーム型のまま存在している割合が大きいものと推定される。また、本剤は反復投与によって毒性が増強されることはなく、リポソームの形態を保ったまま主として肝臓に貯留し、その後、徐々に排泄されるものと推定される。A*は重篤な腎機能障害のために投与用量が低く、同用量投与の比較はできないものの、A*に比して、肝毒性が強く発現することはないと考えられた。なお、ラットにおける A*投与は静脈内では実施されておらず、腹腔内投与との比較では本剤と同様の所見がみられている。

脾臓においてもマクロファージによる製剤の取り込みが生じるため、AMPH-B は高濃度に分布する。このマクロファージによる貪食は、組織学的には泡沫細胞浸潤として認められているが、この変化に伴う壊死や炎症等の障害性変化は認められなかった。更に、この泡沫細胞の存在による脾臓機能の低下を示唆する変化は認めていない。

腎臓においては、本製剤の糸球体メサンジウム細胞による取り込みを示唆する泡沫細胞が組織学的に認められたが、この所見は生理学的適応反応を示唆する変化である。AMPH-B 濃度は、A*と比較し本剤で低いものであり、かつリポソーム製剤とすることにより有効成分である AMPH-B の細胞傷害活性が減弱するため、腎毒性が軽減されるものと推察される。すなわち、イヌにおける反復投与毒性試験において、A*により誘発される BUN やクレアチニンなどの腎機能パラメータへの影響は1カ月間反復静脈内投与では0.625mg/kgから、3カ月間投与では0.6mg/kgでみられるのに対して、同程度の変化は本剤の1カ月間投与では4mg/kg以上、3カ月間投与では2.5mg/kgでしかみられていない。また、A*では腎臓の組織学的検査において尿細管の限局性壊死といった重篤な所見が1カ月間投与の0.625mg/kgからみられており、2.5mg/kgの投与ではこのために全身状態悪化を招き、投与2~3週目に全例切迫殺している。A*の0.6mg/kgの3カ月間投与では尿細管に同様な変化が認められ、7週間の休薬によっても回復性は認められなかった。一方、本剤の場合は3カ月間投与により好塩基性尿細管、尿細管の空胞化、拡張、鉍質沈着の頻度増加などが0.5mg/kgから認められたが、2.5mg/kgにおいても壊死などの重篤な変化はみられず、いずれも回復性変化であることが確認されている。死因となる腎不全を示唆するような重篤な所見は1カ月間反復投与により8mg/kg以上という高用量の場合にしかみられていない。更に、一般薬理試験において、A*がもたらす急性の腎機能低下が本剤では軽減されていることが示されている。本剤では低用量から、腎臓及び膀胱における移行上皮の過形成が認められているが、主成分である AMPH-B に起因することが確認されている。この変化は、いずれも細胞異型を伴わない単純過形成であり、投与の長期化による程度の増強ならびに結節性あるいは乳頭状過形成、乳頭腫等の腫瘍性病変への進行を示唆する所見はなく、かつ休薬により消失する可逆性の変化であった。以上、本製剤でみられている腎毒性は、基本的にはA*でみられる腎毒性と同質であり、その分布濃度の低さから、毒性は軽減されていると考えられる。

本剤はリンパ節を始め、他の網内系組織でもマクロファージによって取り込まれて長期間存在すると考えられる。ラット1カ月間及び6カ月間反復投与試験では副腎に、イヌ1カ月、6カ月、9カ月間反復投与試験では骨髄や小腸、大腸にもマクロファージの本剤の貪食による泡沫細胞浸潤が認められている。これら器官・組織においても本剤の集積に起因すると考えられる変化は認められず、組織への集積による重篤な毒性はないものと考えられる。

イヌ単回投与動態試験で、A*と比較し、肺への分布が高濃度に認められたが、本剤ではラット及びイヌの単回投与及び反復投与いずれの試験においても組織学的に本剤の集積を示唆する変化はなく、また障害性変化もなら認めなかった。なお、イヌ及びラットでみられた呼吸促迫や呼吸不規則といった症状については、一般薬理試験のイヌを用いた呼吸・循環器系への影響の検討より、infusion 投与と bolus 投与の比較から、急速静脈投与操作に関連してみられる影響と考えている。

以上より、本剤ではA*では認められていない泡沫細胞浸潤が認められているが、これらはいずれもリポソーム製剤とすることにより生じた網内系での処理機構を反映したものであり、生理学的適応反応と考えている。本剤の毒性試験において、肝臓及び腎臓への影響が認められている

ものの、これらはいずれも A*で認められている変化であること、本剤に比較して A*ではいずれもかなり低用量から影響が認められていることから、いずれの毒性も軽減されていると考えられる。

機構は、本剤はリポソーム化することにより毒性が軽減されるとあるが、臨床使用における本剤の投与量は AMPH-B の力価で A*の数倍投与することになっており、他方、回答中の毒性比較では A*に近い用量で毒性所見が発現している例もみられることから、臨床使用における A*と比較した本剤の安全域について申請者に尋ねた。申請者は、以下の回答をした。

A*の承認用量は 0.25~0.5mg/kg/日で最大 1.0mg/kg/日又は 1.5mg/kg/隔日まで投与可能とされているが、イヌにおいては臨床での 1 日最大用量を下回る 0.625mg/kg/日という投与量で主要な毒性として腎臓に影響がみられており、安全域はない。本剤もラット及びイヌを用いた反復投与試験において、A*とほぼ同様の 0.5mg/kg/日あるいは 1mg/kg/日といった投与量で腎臓や肝臓に影響が発現しており、本剤の臨床用量が 2.5~5mg/kg/日であることを鑑みると非臨床試験の無毒性量は臨床用量を下回っており、安全域はないと言わざるを得ない。本剤及び A*の毒性比較について、同一投与経路で比較可能と考えられたイヌの試験のうち、腎臓に発現した同質の毒性所見について考察した。本剤の反復投与により、低用量の 0.5mg/kg 投与から BUN の増加等が、1mg/kg 投与では尿比重の低下が、2.5mg/kg 投与では尿浸透圧の低下及び尿中 NAG の増加がみられ、更に 16mg/kg 投与では尿細管壊死が認められた。しかしながら 3 カ月間の反復投与において、最高用量の 2.5mg/kg 投与で発現した変化は、1.5 カ月 (6 週) 間の休薬によりいずれも回復性が確認されている。一方、A*では本剤の低用量と近接した 0.6mg/kg 投与により尿細管の壊死を含めてほぼ同様な変化が発現したが、7 週間の休薬によっても回復性がみられず、加えて、本剤では 3 カ月間投与が可能な 2.5mg/kg において A*では投与 2~3 週目に全身状態悪化により全例切迫殺されている。

したがって、本剤は A*と比較した場合、主要な副作用である腎毒性が軽度であるためより多くの量を投与することが可能になると考えられるが、上記のように本剤でも 16mg/kg といった大量の投与になると A*と同様の尿細管壊死等の重篤な腎毒性の発現が認められているため注意が必要である。一方、本剤の臨床用量は、2.5~5mg/kg/日であり、A*の臨床用量よりも数倍から 10 倍程度の投与量になるが、イヌの反復投与では、2.5~4mg/kg 投与において同投与量の A*よりも長期の投与が可能であり、さらに 2.5mg/kg では腎毒性が発現しても休薬による回復性が確認されているので、A*と比較して安全性上でのメリットになると考えられる。

機構は、臨床試験では低カリウム血症がみられているが、本剤による赤血球の障害は、血中カリウムの上昇を惹起するものであることから、ヒトにおいて低カリウム血症が発現する総合的な機序について申請者に尋ねた。申請者は、以下の回答をした。

A*では赤血球溶血や諸細胞からのカリウム漏出の可能性が報告されているため、本剤も同様の機序によって血中カリウムが上昇する可能性が考えられるが、ヒト赤血球を用いた *in vitro* における赤血球溶血性の検討試験から、本剤の溶血作用は A*より弱いと考えられ、動物実験においても溶血を示唆するような所見は認められなかった。また、国内臨床試験 (国内臨床試験 X01P21、D2101002) 合計においても有害事象「赤血球数減少」の発現率が 1.7% (118 例中 2 例) であることから、ヒトでこの機序を介した血中カリウムの上昇は起こる可能性は低いと考えられる。更

に、A*の動物への投与では腎機能への影響として RBF 及び GFR の減少や尿量及びカリウム排泄率の増加が認められており、本剤でもイヌの毒性試験で尿細管障害を示唆する変化や尿量増加が認められたことから、血中カリウムの低下は尿細管障害による電解質等の再吸収能の低下あるいはカリウム分泌の増加を介したものと考えられた。一方、本剤の臨床試験においては腎機能低下を示唆する所見として、「血中尿素増加」、「血中クレアチニン増加」、「β2 ミクログロブリン増加」が認められた。これらの所見はいずれも腎糸球体機能障害を示唆するものであり、尿細管障害を示唆するものではないが、動物では本剤による腎障害として糸球体機能障害と同時に尿細管障害も発現していることから、ヒトにおいても尿細管障害が発現している可能性が考えられる。以上のことから、詳細は明らかではないが、ヒトにおいて低カリウム血症が発現する機序として尿細管障害による再吸収能の低下あるいは分泌増加の可能性として考えられる。

以上、機構は申請者の回答を了承した。

機構は、本剤はリポソーム化することにより毒性が軽減されるとされているが、臨床使用では AMPH-B の力価で A*の数倍投与することになっており、安全域は無いと考えられることから、臨床使用にあたっては、A*と同等の注意が必要であると考えられる。

4. 臨床に関する資料

(i) 臨床薬物動態及び臨床薬力学試験成績の概要

<提出された資料の概略>

以下の記載においては、特に断りのある場合を除き、本剤の投与量は有効成分の AMPH-B 相当量を示し、生体試料中の AMPH-B 濃度はリポソーム型と非リポソーム型をあわせた総 AMPH-B 濃度を記載する。なお、生体試料中の AMPH-B 濃度はバリデーションされた HPLC 法又は LC/MS/MS 法により測定された。

(1) 成人深在性真菌症患者を対象とした国内第 I/II 相試験 (X01P21 試験)

23~73 歳の深在性真菌症患者 32 例に本剤 1~5mg/kg を 1 日 1 回原則 7 日~最長 21 日間静脈内投与し、投与 1 日目は本剤投与前、投与開始後 1 時間 (投与終了直後)、4、8 及び 24 時間後 (2 日目投与直前)、投与 3~5 日目のうちいずれか 1 日の投与直前、投与 7 日目は投与直前と投与終了直後 (投与開始後 1 時間) の血清中 AMPH-B 濃度が測定された。薬物動態解析対象は、初回投与開始 2 分後に呼吸困難等が発現したために以降の投与を中止した 1 例を除く 31 例とされた。血清中 AMPH-B 濃度の薬物動態パラメータは以下のとおりであった。

投与量	1mg/kg	2.5mg/kg	5mg/kg
症例数	13	9	9
C _{max} (µg/mL)	5.96±3.02	16.19±7.41	45.71±20.14
AUC ₀₋₂₄ (µg·h/mL)	55.5±39.0	138.5±56.4	390.3±223.2
AUC _{0-∞} (µg·h/mL)	64.8±45.8	175.2±84.2	442.5±269.7
t _{1/2} (h)	8.3±2.0	9.8±8.0	7.0±1.4
MRT (h)	11.3±3.2	13.7±12.4	9.9±1.9
CL (L/kg/h)	0.026±0.018	0.019±0.013	0.018±0.017
V _{dss} (L/kg)	0.30±0.25	0.21±0.13	0.18±0.16

平均値±標準偏差

反復投与中にトラフ時の血清中 AMPH-B 濃度の明らかな上昇が 2.5mg/kg 群及び 5mg/kg 群で各 2 例認められた。また、1mg/kg 群、2.5mg/kg 群及び 5mg/kg 群の 7 日目の C_{max} は、投与 1 日目より、それぞれ $177.99 \pm 77.49\%$ (9 例)、 $139.75 \pm 36.58\%$ (7 例) $122.09 \pm 34.12\%$ (8 例) 上昇した。

(2) 成人深在性真菌症患者を対象とした国内第 II 相試験 (D2101002 試験)

16~79 歳の深在性真菌症患者に本剤 1 日 1 回 2.5mg/kg (初回投与量) から、その後は必要に応じて 5 又は 1 mg/kg に増減可として、原則 3 週間~最長 12 週間静脈内投与し、投与 3 及び 7 日目、投与 2 週~最終投与までは投与開始 24 時間後に血清中 AMPH-B 濃度が測定された。また、一部の症例では、投与 1 日目に投与前、投与開始後 1 (投与終了直後)、4、8、24、48、168、336 時間及び最終投与終了 1 日後に、血漿中総 AMPH-B 濃度、血漿を限外ろ過した後のろ液中に非リポソーム型で存在する AMPH-B 濃度が測定され、AMPH-B の血漿蛋白結合率より血漿中の遊離型 AMPH-B 濃度が算出された。

安全性解析対象 86 例のうちトラフ時に薬物動態データが得られた症例は 78 例で、このうち 8 例 (10.3%) にトラフ時の血清中 AMPH-B 濃度の $20\mu\text{g/mL}$ 以上の上昇が認められた。累積投与量とトラフ値の推移には明らかな関連性は確認できず、トラフ値上昇の機序は不明であると考察されている。また、6 日間以上の投与でトラフ濃度の上昇が発現していたが、投与日数とトラフ濃度との関連性も不明であった。

血漿中 AMPH-B の存在形態の検討が行われた 8 例の 63 採血ポイントでは、血漿中総 AMPH-B 濃度の内訳として、リポソーム型 AMPH-B 濃度、蛋白結合型 AMPH-B 濃度 (非リポソーム型) 及び遊離 AMPH-B 濃度 (非リポソーム型) の割合は、各々 $89.1 \pm 15.1\%$ 、 $10.1 \pm 13.9\%$ 及び $0.8 \pm 1.1\%$ (平均値 \pm 標準偏差 : 遊離 AMPH-B 濃度の最大値 : 5.8%) であった。

(3) 健康成人男性を対象とした海外生物学的同等性第 I 相試験 (104-36 試験)

21~31 歳の健康成人男性を対象に 2 期クロスオーバーで本剤及び申請製剤と異なる製剤 1mg/kg を静脈内投与し、投与前、投与開始後 0.5、1 時間 (投与終了)、1.08、1.5、2、2.5、3、4、6、8、12、18、24、36 及び 48 時間に血清中 AMPH-B 濃度が測定された結果、 C_{max} 、 AUC_{0-48} 、 AUC_{inf} 、 $t_{1/2}$ 、CL 及び V_{ss} の平均値 \pm 標準偏差は、各々 $11.0 \pm 2.8\mu\text{g/mL}$ 、 $108.1 \pm 43\mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$ 、 $121.4 \pm 49\mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$ 、 $21.3 \pm 9.3\text{h}$ 、 $709.8 \pm 216\text{mL/h}$ 及び $15.1 \pm 5.3\text{L}$ であった。

(4) がん化学療法施行中又は骨髄移植の成人患者を対象とした海外第 I 相試験 (92-0022 試験)

14~64 歳のがん化学療法又は骨髄移植施行患者に本剤 1~7.5mg/kg を 1 日 1 回 3~14 日間投与し、初回及び最終投与日に投与前、投与終了直後 (投与開始後 1 時間)、投与開始後 1.08、1.25、1.5、2、3、4、6、8、12、24、72 (最終投与日のみ)、168 (最終投与日のみ)、336 時間 (最終投与日のみ) に血清中 AMPH-B 濃度が測定された結果は、以下のとおりであった。

		C _H (µg/mL)	AUC ₀₋₂₄ (µg·h/mL)	AUC _{inf} (µg·h/mL)	t _{1/2} (h)	CL (mL/kg/h)	Vd (L/kg)
1 mg/kg	n=8	7.3±3.8	27±14	32±15	10.7±6.4	39±22	0.58±0.40
	n=7	12.2±4.9	60±20	66±21	7.0±2.1	17±6	0.16±0.04
2.5 mg/kg	n=7	17.2±7.1	65±33	71±36	8.1±2.3	51±44	0.69±0.85
	n=7	31.4±17.8	197±183	213±196	6.3±2.0	22±15	0.18±0.13
5 mg/kg	n=12	57.6±21.0	269±96	294±102	6.4±2.1	21±14	0.22±0.17
	n=9	83.0±35.2	555±311	621±371	6.8±2.1	11±6	0.11±0.08
7.5 mg/kg	n=6	83.7±43.0	476±371	534±429	8.5±3.9	25±22	0.26±0.15
	n=4	62.4±17.7	382±148	417±155	6.9±0.9	20±7	0.20±0.07

各投与量 上段：初回投与日、下段：最終投与日

平均値±標準偏差

C_H: Highest concentration quantitated

各投与の24時間後のトラフ時の血清中 AMPH-B 濃度についても検討された結果、トラフ値の変動幅は大きいものの、平均トラフ濃度は比較的一定濃度に留まることが示され、本剤の反復投与による段階的な蓄積は示唆されないと考察されている。なお、7.5mg/kg 群を除き最終投与日の C_{max} 及び AUC は初回投与日を上回っていることから、本剤は蓄積性を有すると考察されている。

(5) 確定又は推定アスペルギルス症、その他糸状真菌感染症患者を対象とした海外臨床試験 (96-0-017 試験)

確定又は推定アスペルギルス症、その他糸状真菌感染症患者に本剤 7.5~15mg/kg を 1~99 日間静脈内投与し、初回、第 7 投与日及び最終投与日に本剤投与前、投与開始 2 時間後（投与終了直後）、本剤投与開始後 2.5、3、4、6、8、12、18、24、48（最終投与日のみ）、72（最終投与日のみ）及び 96（最終投与日のみ）時間に血清中 AMPH-B 濃度が測定された結果は、以下のとおりであった。なお、括弧内は薬物動態パラメータが算出された症例数とは異なる症例数を示す。

		C _H (µg/mL)	AUC ₀₋₂₄ (µg·h/mL)	AUC _{inf} (µg·h/mL)	t _{1/2} (h)	CL (mL/kg/h)	Vd (L/kg)	トラフ C (µg/mL)
7.5 mg/kg	n=8	75.9±58.4	692±834	815±1068	6.8±1.9	23±14	0.22±0.18	16.7±32.0 (7)
	n=6	115.1±104.9	1333±2153	1670±2868	6.0±0.8	15±11	0.14±0.10	56.4±103.4 (4)
	n=4	144.3±61.6	1286±973	1498±1040	6.5±3.4	11±13	0.08±0.08	—
10 mg/kg	n=8	119.6±69.8	1062±971	1188±1058	8.0±1.5	18±19	0.23±0.24	12.1±11.0
	n=6	164.7±119.7	1919±2056	2156±2221	8.4±2.6	12±12	0.16±0.17	30.3±31.1 (7)
	n=4	208.9±47.7	1944±592	2431±942	10.5±6.6	5±3	0.05±0.03	—
12.5 mg/kg	n=7	116.3±47.8	860±390	902±450	7.1±3.5	16±6	0.18±0.13	12.4±16.0 (6)
	n=5	147.4±69.2	1168±911	1292±1010	8.2±2.5	13±7	0.16±0.10	12.7±14.5 (5)
	n=1	754.8	13919	46558	48	0.3	0.07	—
15 mg/kg	n=11	105.1±30.9	554±174	685±252	9.0±3.1	25±8	0.33±0.12	10.1±16.2
	n=6	178.6±49.0	1152±617	1355±693	9.0±0.9	14±7	0.18±0.09	13.0±7.0 (7)
	n=2	231	2168	2300	8.5	9	0.14	—

各投与量 上段：初回投与日、中段：第 7 投与日、下段：最終投与日

平均値±標準偏差

7.5 mg/kg 群 40.4±9.5、10 mg/kg 群 38.1±10.2、12.5 mg/kg 群 47.6±12.6、15 mg/kg 群 45.5±8.5 (歳)