

パリエット[®]錠 10mg
パセトシン[®]カプセル, パセトシン[®]細粒,
パセトシン[®]錠 250
アモペニキシン[®]カプセル 250
クラリス[®]錠 200
クラリシッド[®]錠 200mg
サワシリン[®]カプセル, サワシリン[®]細粒,
サワシリン[®]錠 250

CTD 第2部 資料概要

2.4 非臨床試験の概括評価

エーザイ株式会社
協和醗酵工業株式会社
ニプロファーマ株式会社
大正製薬株式会社
アボット ジャパン株式会社
アステラス製薬株式会社

目次

2.4	非臨床試験の概括評価	1
2.4.1	非臨床試験計画概略	1
2.4.2	薬理試験	1
2.4.3	薬物動態試験	2
2.4.4	毒性試験	2
2.4.5	総括及び結論	9
2.4.6	参考文献	10

2.4 非臨床試験の概括評価

2.4.1 非臨床試験計画概略

胃内に生息する *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) が胃・十二指腸疾患に深く関与しており、*H. pylori* の除菌により胃・十二指腸潰瘍の再発が抑制されること、更にアモキシシリン (AMPC) 及びクラリスロマイシン (CAM) にプロトンポンプ阻害剤を併用する 3 剤併用療法が *H. pylori* 除菌率及び安全性で優れることが明らかとなっている。これは、*H. pylori* の除菌に用いられる抗菌薬の抗菌活性が胃酸の低 pH によって減弱するが、プロトンポンプ阻害剤によって胃酸分泌を抑えることにより胃内 pH が上昇することで抗菌薬の抗菌活性減弱が抑えられるためであると考えられている。

ラベプラゾールナトリウム (RPZ) は、エーザイ株式会社で合成・開発された化合物で、胃の壁細胞における胃酸分泌の最終段階に位置する H^+, K^+ -ATPase (プロトンポンプ) を阻害することにより強力な胃酸分泌抑制作用を発揮する抗潰瘍剤である。

今回、プロトンポンプ阻害剤である RPZ、抗菌薬である AMPC 及び CAM の 3 剤併用投与による *H. pylori* 除菌療法の申請に際して、非臨床上的有効性及び安全性を確認するため、以下の非臨床試験を実施した。

薬理試験：効力を裏付ける試験としては、*H. pylori* に対する *in vitro* 抗菌活性、*H. pylori* に対する AMPC と RPZ、CAM と RPZ 及び AMPC と CAM の *in vitro* における併用効果及びスナネズミ (*Mongolian gerbil*) の *H. pylori* 胃内感染モデルでの RPZ と抗菌薬 (AMPC + CAM) の併用投与による除菌効果を検討した。安全性薬理試験については、3 剤併用による毒性試験の結果、臨床試験における副作用報告及び各単剤の一般薬理試験の結果より、危惧すべき中枢神経系、心血管系及び呼吸系などへの作用を発現する可能性は低いと考えられたため実施しなかった。

薬物動態試験：非臨床の薬物動態試験として、ラット肝ミクロソームを用いた ^{14}C -RPZ の代謝に対する併用薬物 (AMPC 及び CAM) の影響についての検討を行った (2.7.2.2.1 参照)。

毒性試験：3 剤併用時の非臨床安全性評価として、「医薬品毒性試験法ガイドライン」に準拠して以下の試験を実施した。単回投与毒性試験は、げっ歯類としてラットを用い、非げっ歯類ではイヌの 1 週間用量設定試験の成績で代替した。また、反復投与毒性試験としては、本申請における臨床使用期間が 7 日間であることから、ラット及びイヌを用いた 4 週間反復投与毒性試験を実施した。遺伝毒性評価としては、CHO 細胞を用いる HGPRT 前進遺伝子突然変異試験及びマウスにおける 3 剤併用投与による小核試験を実施した。更に、ラットの 3 剤併用単回投与毒性試験で認められた遅発性の散瞳発現に対する薬剤の組合せを解明するため、RPZ/AMPC あるいは RPZ/CAM の 2 剤併用による単回投与毒性試験を実施した。投与経路は、臨床適用経路に準じていずれの薬剤も経口投与とした。なお、RPZ は胃酸で分解されやすいため、胃酸による影響を少なくし、生物学的利用率を高めるため、ラット及びマウスの試験では投与検体の媒体として重曹緩衝液を使用し、イヌの試験では臨床製剤である腸溶被膜錠を投与した。また、ラットにおける RPZ/AMPC あるいは RPZ/CAM の 2 剤併用による単回投与試験及びイヌの 1 週間用量設定試験以外の試験は GLP を遵守して実施した。

2.4.2 薬理試験

2.4.2.1 効力を裏付ける試験

2.4.2.1.1 *H. pylori* に対する *in vitro* 抗菌活性 (資料：4.2.1.1-1, 試験番号：V00005)

AMPC、CAM、メトロニダゾール (MNZ) の抗菌薬及び RPZ、ランソプラゾール (LPZ)、オメプラゾール (OPZ) のプロトンポンプ阻害剤の *H. pylori* の標準株及び臨床分離株に対する *in vitro* 抗菌活性を寒天平板希釈法^{1,2)}を用いて検討し、最小発育阻止濃度 (MIC) を測定した。*H. pylori* 標準株に対して AMPC 及び CAM はともに強い抗菌活性を示した。*H. pylori* 臨床分離株に対して AMPC 及び CAM の MIC₅₀ 値は、それぞれ 0.05 及び 0.10 µg/mL、MIC₈₀ 値は、それぞれ 0.10 及び 0.20 µg/mL であった。

2.4 非臨床概括評価

2.4.2.1.2 *H. pylori* に対する AMPC と RPZ ,CAM と RPZ 及び AMPC と CAM の *in vitro* における併用効果 (資料: 4.2.1.1-2, 試験番号: V01002)

H. pylori の標準株及び臨床分離株に対する 2 薬剤 (AMPC と RPZ ,CAM と RPZ 及び AMPC と CAM) による併用効果を交差力価測定法 (Checkerboard Titration Method)³⁾ を用いて検討した。抗菌活性は培地 pH が 5.5 及び 7.17 の 5% 綿羊脱繊維血液添加 Mueller Hinton agar 培地を用いた寒天平板希釈法で測定した。得られた薬剤単独時及び薬剤併用時の MIC 値から, Σ FIC 指数 (Fractional Inhibitory Concentration index) を算出した。*H. pylori* に対する CAM の抗菌活性は培地 pH の影響を受け, 中性領域 (pH 7.17) に比べ酸性領域 (pH 5.5) で減弱した。AMPC の抗菌活性については, pH 5.5 で pH 7.17 に比べて減弱したものの, 培地 pH の影響は CAM に比べて少なかった。AMPC と CAM の併用による抗菌活性には, いずれの pH 条件下でも相加作用又は相乗作用が認められたが, 拮抗作用は認められなかった。また, AMPC と RPZ 及び CAM と RPZ の併用においても, いずれの pH 条件下でも抗菌活性に相加作用又は相乗作用が認められたが, 拮抗作用は認められなかった。

2.4.2.1.3 Mongolian gerbil の *H. pylori* 胃内感染モデルでの RPZ と抗菌薬 (AMPC + CAM) の併用投与による除菌効果 (資料: 4.2.1.1-3, 試験番号: V01001)

H. pylori を胃内に感染させたスナネズミ (Mongolian gerbil) を用いて, RPZ と抗菌薬 2 剤 (AMPC + CAM) の 3 剤を併用投与したときの除菌効果を, 胃内生菌数を指標として, RPZ 単独投与時並びに抗菌薬 2 剤投与時の効果と比較検討した。RPZ (6 mg/kg, 1 日 2 回, 3 日間皮下投与) 及び AMPC と CAM (AMPC: 3 mg/kg, CAM: 0.80 mg/kg, 1 日 2 回, 3 日間経口投与) の 3 剤の併用投与群の胃内生菌数は, 対照群並びに抗菌薬 2 剤 (AMPC + CAM) 投与群と比較して有意 ($p < 0.05$) に低値を示した。また, RPZ と抗菌薬 2 剤の併用投与による相乗作用が認められ ($p < 0.05$), RPZ は抗菌薬 2 剤 (AMPC + CAM) による胃内生菌数減少作用を有意に増強させた。

2.4.2.2 副次的薬理試験

該当なし

2.4.2.3 安全性薬理試験

RPZ, AMPC 及び CAM の 3 剤併用による毒性試験の結果, 臨床試験における副作用報告及び各単剤の一般薬理試験の結果を基に 3 剤併用時の薬理的相互作用について考察した。その結果, 危惧すべき中枢神経系, 心血管系及び呼吸系などへの作用を発現する可能性は低いと考えられた。

2.4.3 薬物動態試験

ラット肝ミクロソームを用いて¹⁴C-RPZ の代謝に対する併用薬物 (AMPC 及び CAM) の影響を検討した。なお, 同一試験内においてヒト肝ミクロソームを用いた同様な検討を実施したため, 2.7.2.2.1 にその概要をまとめて示した。

血漿中の薬物濃度の定量には, RPZ については LC-MS/MS 法 (資料: 4.2.2.1-1, 試験番号: GB03010V, 資料: 4.2.2.1-2, 試験番号: GB03051V, 資料: 4.2.2.1-5, 試験番号: GB03011V, 資料: 4.2.2.1-6, 試験番号: GB03052V), AMPC は HPLC-UV 法 (資料: 4.2.2.1-3, 試験番号: GB03008V, 資料: 4.2.2.1-7, 試験番号: GB03009V), CAM は HPLC-ECD 法 (資料: 4.2.2.1-4, 試験番号: GB03015V, 資料: 4.2.2.1-8, 試験番号: GB03016V) を用いた。また, 肝ミクロソーム中の RPZ 及び RPZ 代謝物の存在比については, HPLC-RI 法を用いた。

2.4.3.1 代謝

2.4.3.1.1 RPZ の *in vitro* 代謝試験 ¹⁴C-RPZ の肝ミクロソームによる代謝生成に対する併用薬の影響 (資料: 5.3.2.2-1, 試験番号: AE-3655)

ラット肝ミクロソームにおける¹⁴C-RPZ の代謝に対する CAM 及び AMPC の影響を *in vitro* で検討した。同一試験内においてヒト肝ミクロソームを用いた同様な検討を実施したため, 2.7.2.2.1 にその概要を記載した。

2.4.4 毒性試験

RPZ, AMPC 及び CAM はいずれも, 既承認医療用医薬品として広く用いられており, いずれ

2.4 非臨床概括評価

も単剤としての安全性は確認されているが、今回、新たに3剤併用時の非臨床安全性評価として、「医薬品毒性試験法ガイドライン」に準拠して、3剤併用投与での単回投与毒性試験、反復投与毒性試験及び遺伝毒性試験を実施した。

単回投与毒性試験は、げっ歯類としてラットを用い、非げっ歯類ではイヌの1週間用量設定試験の成績で代替した。反復投与毒性試験としては、本申請における臨床使用期間が7日間であることから、ラット及びイヌを用いた4週間反復投与毒性試験を実施した。遺伝毒性評価として、CHO細胞を用いるHGPRT前進遺伝子突然変異試験及びマウスにおける3剤併用投与による小核試験を実施した。更に、ラットにおける3剤併用による単回投与毒性試験で認められた遅発性の散瞳発現における薬剤の組合せを解明するためにRPZ/AMPCあるいはRPZ/CAMの2剤併用による単回投与毒性試験を実施した。

投与経路は、臨床適用経路に準じていずれの薬剤も経口投与とした。

ラット及びイヌを用いた4週間反復投与毒性試験では、予めバリデートされた定量法を用いてトキシコキネティクスを実施した。

毒性試験に用いた被験物質については、RPZは、純度及び類縁物質等、原薬あるいは製剤の製造承認規格に合致したものを使用し、AMPC及びCAMについても、製造承認規格に合致した原薬を使用した。

ラットにおけるRPZ/AMPCあるいはRPZ/CAMの2剤併用による単回投与毒性試験及びイヌの1週間用量設定試験以外の試験はGLP基準を遵守して実施した。

なお、がん原性試験については、RPZのラットがん原性試験において、5 mg/kg以上でRPZの主薬効に起因する高ガストリン血症に伴う胃のカルチノイド腫瘍の発生が認められたが（「パリエット®錠 10mg」承認事項一部変更承認時資料概要 25 及び 34 頁参照）、AMPC及びCAMの遺伝毒性試験の成績からはがん原性を示唆する結果は得られていないこと、更には臨床での投与期間は7日間であることから、RPZ、AMPC及びCAMの3剤併用による試験は実施しなかった。

生殖発生毒性試験については、RPZ、AMPC、CAMがいずれも既承認医療用医薬品として広く用いられていることから、3剤併用投与による試験は実施しなかった。

また、臨床適用経路が経口投与であることから、局所刺激性試験は実施しなかった。

2.4.4.1 単回投与毒性（資料：4.2.3.1-1, 4.2.3.2-3, 試験番号：S98618, C-B118）

ラットにRPZ/AMPC/CAMの0/2000/1000 mg/kg、250/2000/1000 mg/kg及び500/2000/1000 mg/kgを単回経口投与した。

その結果、いずれの群においても死亡例は認められず、3剤併用単回投与した場合の概略の致死量は、500/2000/1000 mg/kgより大であった。3剤併用群では雌雄で茶褐色尿、雌で散瞳、尿道口周囲の汚れが認められ、500/2000/1000 mg/kgでは雌雄で活動性の低下及び流涎も認められた。また、いずれの投与群においても体重増加抑制及び摂餌量の減少、剖検時に盲腸肥大が散見された。以上、3剤併用投与時においては、遅発性の散瞳（投与2～6日）が雌において認められたが、回復性のある変化であった。

イヌにRPZ/AMPC/CAMの20/500/25 mg/kgを1週間反復経口投与した。CAMはRPZとAMPCの投与後、1時間（1群）あるいは2時間（2群）の間隔を置いてイヌに投与した。

その結果、全ての投与群で死亡は認められなかったが、嘔吐及び便の変化（軟便、粘液便、水様便）が認められた。嘔吐に対する影響は1群に比べ2群でより明確であった。嘔吐及び便の変化以外に認められた体重と摂餌量に対する影響は1群でより明確であったが、両群間で毒性に本質的な違いは認められなかった。

2.4.4.2 反復投与毒性（資料：4.2.3.2-1,2,4, 試験番号：S98012, S03010, B-5089）

表 2.4-1 に実施した4週間反復投与毒性試験の最高投与群におけるRPZ、AMPC及びCAMの用量を示した。

表 2.4-1 4 週間反復投与毒性試験の最高投与群での 3 剤の用量

動物種	試験番号	投与量 (mg/kg/day)		
		RPZ	AMPC	CAM
ラット(その1)	S98012	25	1000	50
ラット(その2)	S03010	25	400	125
イヌ	B-5089	20	500	25

ラットにおける 4 週間反復投与毒性試験(その1)では, RPZ/AMPC/CAM の 0/1000/50 mg/kg (AMPC+CAM 群), 1/1000/50 mg/kg (RPZ(L: 低用量)+AMPC+CAM 群), 5/1000/50 mg/kg (RPZ(M: 中間用量)+AMPC+CAM 群) 及び 25/1000/50 mg/kg (RPZ(H: 高用量)+AMPC+CAM 群) を 4 週間反復経口投与した。

その結果, 投与 2 週頃より, AMPC+CAM 群で流涎及び抗菌薬投与による腸内細菌叢の変化に起因すると考えられる軟便, 肛門周囲あるいは下腹部の汚れ, 摂餌量の増加及び盲腸の肥大が認められた。一方, RPZ(H)+AMPC+CAM 群の雌において, 体重及び摂餌量の減少などの栄養状態の悪化, 更にそれに伴う活動性の低下, 歩行失調, 下肢の不全麻痺といった一般状態の変化が認められた。そのため, 状態が悪化した個体を切迫屠殺するとともに, 同群の雌のみ投与 24 日以降投与を中止し, その後の経過を観察した。その結果, これらの所見は投与中止後全て速やかに消失した。切迫屠殺動物では, 一般状態の悪化に伴う諸変化の他, 大腿筋筋線維の萎縮及び壊死が, 投与を中止した動物では筋線維の再生像が認められた。一方, 中枢及び末梢神経系組織には病理組織学的変化は認められなかった。RPZ(H)+AMPC+CAM 群の雄では, 胸腺重量の減少, 腺胃部粘膜の過形成がみられたが, RPZ(L/M)+AMPC+CAM 群では毒性学的に意義のある変化は認められなかった。

上記試験において RPZ/AMPC/CAM の 25/1000/50 mg/kg 投与群の雌で一般状態の悪化とともに大腿筋の変化が認められた。そこで, AMPC 及び CAM の投与量を変えることによって, これらの所見が変わるかどうかを検討するために, 更に 3 剤のラットにおける 4 週間反復投与毒性試験(その2)を実施した。すなわち, ラットに RPZ の 5, 25 mg/kg, RPZ/AMPC/CAM の 0/400/125 mg/kg (AMPC+CAM 群), 5/400/125 mg/kg (RPZ(L)+AMPC+CAM 群) 及び 25/400/125 mg/kg (RPZ(H)+AMPC+CAM 群) を 4 週間反復経口投与した。

その結果, いずれの群においても死亡動物は認められなかった。RPZ の 25 mg/kg 投与により, AMPC 及び CAM の併用投与如何にかかわらず, 薬理作用に起因する腺胃部粘膜の過形成が認められた。AMPC+CAM 群では, 流涎, 軟便及び体重減少が認められるとともに, 著しい盲腸の肥大が認められた。これらの変化は, 大量の抗菌薬投与による腸内細菌叢の変化による二次的な変化であり, 血中脂質の低下, 尿中のケトン体・タンパク陽性例数の増加, 脂肪細胞(腸間膜, 乳腺)の萎縮, 肝, 心, 脾などの臓器重量の減少を伴っていたが, 脂肪細胞の萎縮は雄に比べ雌で明らかであった。3 剤併用投与群においても, 抗菌薬投与群と同様の変化が認められたが, RPZ(H)+AMPC+CAM 群の雌では栄養状態の悪化がやや強く, 大腿筋筋線維の軽度の萎縮が少数例に認められた。しかし, 先の試験に比べ AMPC の用量を減量することにより, 歩行失調や下肢の不全麻痺などの臨床症状は認められず, 筋症の程度も減弱した。RPZ の 5 mg/kg を併用した群においては, 3 剤併用投与により毒性が増強することはなかった。

イヌでは RPZ の 5, 20 mg/kg, RPZ/AMPC/CAM の 0/500/25 mg/kg (AMPC+CAM 群), 5/500/25 mg/kg (RPZ(L)+AMPC+CAM 群) 及び 20/500/25 mg/kg (RPZ(H)+AMPC+CAM 群) を 4 週間反復経口投与した。

その結果, RPZ を投与した群では, 抗菌薬の有無にかかわらず, RPZ 5 mg/kg 以上で便の変化(軟便, 粘液便, 水様便)が, RPZ 20 mg/kg では更に薬理作用に基づく胃粘膜の肥厚及び壁細胞の変性が認められ, RPZ(H)+AMPC+CAM 群においては嘔吐の頻度の増加も観察された。本試験において認められた変化は RPZ のイヌにおける毒性試験で既に報告されている変化(「ラベプラゾールナトリウム及びパリエット®錠 10mg, 20mg」承認時資料概要 113 及び 124~128 頁参照)と同様であり, 嘔吐の頻度の増加を除いて抗菌薬の併用によって増強されることはなかった。

ラットにおける RPZ/AMPC/CAM の 3 剤併用投与による 4 週間反復投与毒性試験(その2) 及びイヌにおける RPZ/AMPC/CAM の 3 剤併用投与による 4 週間反復投与毒性試験において, トキシコキネティクスを実施した。

2.4 非臨床概括評価

ラットにおいては、投与検体の媒体として重曹緩衝液を用いたにもかかわらず胃酸による分解の影響を強く受けた結果、RPZの C_{max} 及びAUCは腸溶製剤を用いたヒトでの値に比しても著しく低値であった。また、個体間のバラツキも大きかった。投与 28 日の C_{max} 及びAUCで、AMPC及びCAMでは 3 剤併用による影響はなかったが、RPZでは 3 剤併用によって血漿中濃度の低下がみられた。イヌでは、投与 28 日の C_{max} 及びAUCにおいて、薬剤併用投与による血漿中濃度への影響はみられなかった。3 剤併用時の臨床での最大用量（RPZ/AMPC/CAM：20/750/400 mg/man/回，40/1500/800 mg/man/day）時のPM群における曝露量とラット及びイヌにおける 4 週間反復投与毒性試験（投与 28 日）における最高投与量での曝露量を幾何平均値で比較すると（表 2.4-2），ラットにおいては，RPZ，AMPC，CAMの C_{max} は，0.03，3.41～3.98，2.46～2.49 倍，AUCは 0.003～0.004，2.97～3.37，1.56～1.64 倍であり，イヌでは，RPZ，AMPC，CAMの C_{max} は，それぞれ，2.20～2.27，5.73～6.31，1.47～1.53 倍，AUCは，0.53～0.98，3.25～5.33，0.90～1.50 倍であり，AMPC及びCAMの曝露量はラット，イヌともに臨床最大量における曝露量を上回っているか同程度であったものの，RPZについては，高用量である 25 mg/kgにおいてもラットでは臨床最大量における曝露量を下回った。しかしながら，ラットの曝露量でも，RPZの薬理作用に基づく胃の病理組織学的変化や毒性が発現すること，また，イヌにおいてもRPZの曝露量は， C_{max} で 2 倍以上，AUCでは約 1/2 から 1 倍であり，この曝露量で胃の病理組織学的変化が認められていることから，3 剤併用投与における安全性は評価し得るものと判断された。

2.4 非臨床概括評価

表 2.4-2 臨床試験及び毒性試験における 3 剤の用量と曝露量 (AUC^a) 比較

RPZ

動物種	投与量 (mg/kg)	性	C _{max} (ng/mL)	C _{max} 比	AUC (ng·hr/mL)	AUC 比
ラット ¹	25	雄	32.46 ± 31.53	0.034/0.056	22.13 ± 20.29	0.004/0.012
		雌	29.77 ± 13.94	0.031/0.052	16.69 ± 6.79	0.003/0.009
イヌ ²	20	雄	2154 ± 1107	2.272/3.727	5073 ± 2392	0.975/2.716
		雌	2085 ± 1399	2.199/3.607	2763 ± 843	0.531/1.480
ヒト ³	0.4*	男性	948.050/578.020	1/1	5200.796/1867.486	1/1

AMPC

動物種	投与量 (mg/kg)	性	C _{max} (µg/mL)	C _{max} 比	AUC (µg·hr/mL)	AUC 比
ラット ¹	400	雄	27.28 ± 4.82	3.41/2.63	147.3 ± 18.4	2.97/2.83
		雌	31.83 ± 4.27	3.98/3.07	167.4 ± 17.7	3.37/3.21
イヌ ²	500	雄	45.90 ± 15.50	5.73/4.43	264.5 ± 78.6	5.33/5.08
		雌	50.55 ± 12.10	6.31/4.88	161.2 ± 52.6	3.25/3.09
ヒト ³	15*	男性	8.005/10.355	1/1	49.610/52.110	1/1

CAM

動物種	投与量 (mg/kg)	性	C _{max} (µg/mL)	C _{max} 比	AUC (µg·hr/mL)	AUC 比
ラット ¹	125	雄	4.902 ± 1.093	2.46/2.11	43.68 ± 6.23	1.56/1.25
		雌	4.950 ± 1.593	2.49/2.13	45.93 ± 15.40	1.64/1.31
イヌ ²	25	雄	3.040 ± 2.083	1.53/1.31	42.15 ± 34.45	1.50/1.20
		雌	2.921 ± 0.980	1.47/1.26	25.17 ± 14.60	0.90/0.72
ヒト ³	8*	男性	1.990/2.327	1/1	28.050/35.004	1/1

- 1 ラット4週間反復投与試験 (試験番号: S03010) における RPZ/AMPC/CAM の 25/400/125 mg/kg 群の投与 28 日のデータ (n=4/群性)
 2 イヌ4週間反復投与試験 (試験番号: B-5089) における RPZ/AMPC/CAM の 20/500/25 mg/kg 群の投与 28 日のデータ (n=3/群性)
 3 ヒト3剤併用体内動態試験 (試験番号: E3810-J081-201) における RPZ/AMPC/CAM の 20/750/400 mg/man/回のデータ (PM群 (n=4) /EM群 (n=15)), ヒトは1日2回投与のため, この表では AUC_{0-12h} を2倍した値をヒトの AUC として示し, ラット, イヌのデータと比較した。

^a RPZのAUC: ヒト 0-12時間, イヌ 0-8時間, ラット 0-2時間

^a AMPCのAUC: ヒト 0-12時間, イヌ 0-24時間, ラット 0-24時間

^a CAMのAUC: ヒト 0-12時間, イヌ 0-23時間, ラット 0-24時間

*: mg/kg/回

C_{max}及びAUCの値は, 平均値 (±標準偏差) を示す。

C_{max}比, AUC比: 動物/ヒト(対PM群 / 対EM群)

2.4.4.3 遺伝毒性 (資料: 4.2.3.3.1-1, 4.2.3.3.2-1, 試験番号: 6824-133, S04053)

CHO細胞を用いた HGPRT 前進遺伝子突然変異試験で, AMPC及びCAMによるRPZの遺伝子突然変異誘発作用の増強を検討した。その結果, S9 mix存在下及び非存在下において, RPZ単剤, AMPC及びCAMの2剤併用, 及びRPZ, AMPC及びCAMの3剤併用による遺伝子突然変異誘発作用は認められず, AMPC及びCAMによるRPZの遺伝子突然変異誘発作用の増強は認められなかった。

また, 雄マウスに RPZ/AMPC/CAM の 125/500/500 mg/kg, 250/1000/1000 mg/kg, 500/2000/2000 mg/kg, 750/2000/2000 mg/kg を2日間反復経口投与し, 骨髄における染色体異常誘発作用の有無を小核試験により検討した。その結果, 3剤併用の最高用量でも骨髄における染色体異常誘発作用はみられなかった。

2.4.4.4 がん原性試験

平成11年11月1日 医薬審第1607号「医薬品のがん原性試験に関するガイドラインについて」では, 臨床での使用が少なくとも6ヵ月以上継続されるような医薬品においてはがん原性試験の実施が求められているが, 本申請では RPZ/AMPC/CAM の3剤併用による *H. pylori* 除菌のため

2.4 非臨床概括評価

の臨床使用期間は7日間である。したがって、RPZ、AMPC及びCAMの3剤併用によるがん原性試験は実施しなかった。なお、RPZのラットにおけるがん原性試験では、5 mg/kg以上でRPZの主薬効に起因する高ガストリン血症に伴う胃のカルチノイド腫瘍の発生が認められたが（「パリエット®錠 10mg」承認事項一部変更承認時資料概要 25 及び 34 頁参照）、マウスにおけるがん原性試験ではがん原性を示唆する結果は得られなかった（「ラベプラゾールナトリウム及びパリエット®錠 10mg、20mg」承認時資料概要 116 頁、153-158 頁参照）。また、AMPC及びCAMのがん原性試験成績はないが、遺伝毒性試験ではがん原性を示唆する結果は得られなかった。

2.4.4.5 生殖発生毒性試験

RPZ、AMPC、CAM はいずれも既承認医療用医薬品として広く用いられており、3剤併用投与による生殖発生毒性試験の成績を提出することは不要と考えた。

なお、国外で実施されたCAM単剤でのラットにおける催奇形性試験（2.6.6.8.5.3.4 参照）において母動物に毒性が認められる高用量（150 mg/kg）において胎児の発育抑制及び催奇形性が認められていることから、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の使用上の注意を確認する様、RPZの添付文書における「使用上の注意」の「2. 重要な基本的注意」の項にその旨を記載し、注意喚起を行う。更に、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ていることから、RPZの添付文書における「使用上の注意」の「9. その他の注意」の項にその旨を記載し、注意喚起を行う。

2.4.4.6 局所刺激性試験

臨床適用経路が経口投与であることから、局所刺激性試験は実施しなかった。

2.4.4.7 その他の毒性（資料：4.2.3.7.7-1、試験番号：S98624）

ラットにおけるRPZ/AMPC/CAMの3剤併用投与による単回投与毒性試験において、3剤併用投与群の雌でのみ投与2～6日に散瞳が認められた。この遅発性の散瞳の発現原因となる薬剤の組み合わせを確認するため、雌ラットにRPZ/AMPCの250/2000 mg/kgあるいはRPZ/CAMの250/1000 mg/kgのそれぞれ2剤を単回経口投与し検討した。

その結果、RPZとAMPCを併用投与した群において、投与2～4日に遅発性の散瞳が認められたが、RPZとCAMを併用投与した群においては認められなかった。以上より、RPZ/AMPC/CAMの3剤併用投与による単回投与毒性試験で認められた遅発性の散瞳はRPZとAMPCの併用に起因したものと考えられた。

2.4.4.8 所見の考察及び安全性の評価

(1) 単回投与における遅発性の散瞳

RPZのラットにおける経口投与による単回投与毒性試験（ラベプラゾールナトリウム及びパリエット®錠 10mg、20mgの承認時添付資料二-1：第4部4.3.2.6.6-1参照）において、致死量（雄：1431 mg/kg、雌：1024 mg/kg）以上の高用量で、散瞳が雌雄で投与後15分から3時間まで認められた。一方、新たに実施したラットの3剤併用による単回投与毒性試験において、RPZの250あるいは500 mg/kg、AMPCの2000 mg/kg、CAMの1000 mg/kgを併用投与した雌で遅発性の散瞳が認められた。また、RPZ/AMPCの250/2000 mg/kgで散瞳は発現したものの、RPZ/CAMの250/1000 mg/kgでは発現しなかったことから、遅発性の散瞳はRPZとAMPCの併用によるものであることが示唆された。

このラットでみられた散瞳は、明らかな回復性がみられ、3剤併用による4週間反復投与毒性試験のRPZの毒性発現用量（25 mg/kg）に比べて10倍と高い用量において認められた所見であり、低い曝露量から毒性が発現するラットの特性、更にラットに比べ高い曝露量のイヌでもRPZ/AMPC/CAMの20/500/25 mg/kgの投与量で散瞳は認められなかったことを考慮すると、臨床で散瞳が発現する可能性は極めて低いものと考えられる。なお、これまでに実施された3剤併用による臨床試験において、散瞳の発現は報告されていない（2.7.4.2参照）。

(2) ラット反復投与における大腿筋の筋症の発現

ラットの4週間反復投与毒性試験において、3剤併用の高用量群(投与用量:RPZ/AMPC/CAMの25/1000/50 mg/kg(その1)、25/400/125 mg/kg(その2))の雌のみに、大腿筋の筋線維の萎縮あるいは壊死(筋症:myopathy)が認められた。この筋症は病理組織学的に中枢及び末梢神経系に影響を伴っておらず、また、投与を中止することにより速やかな回復性が認められた。

4週間反復投与毒性試験(その1)では、RPZの併用如何にかかわらず、抗菌薬投与による腸内細菌叢の変化に起因すると考えられる軟便、肛門周囲あるいは下腹部の汚れ、摂餌量の増加、盲腸の肥大及び重量の増加が認められたが、3剤併用の高用量群の雌では、体重及び摂餌量の減少などの栄養状態の悪化、更に活動性の低下、下肢の不全麻痺、歩行失調といった一般状態の変化が筋症に伴って認められた。4週間反復投与毒性試験(その2)では、RPZの併用如何にかかわらず、抗菌薬投与による腸内細菌叢の変化に伴う二次的な変化として、軟便、体重減少、盲腸の肥大が認められるとともに、血中脂質の低下、尿中のケトン体・タンパク陽性例数の増加、脂肪細胞(腸間膜、乳腺)の萎縮、肝、心、脾などの臓器重量の減少を伴っていたが、3剤併用の高用量群の雌では、脂肪細胞の萎縮の程度を含め栄養状態の悪化の程度は雄に比べ強く認められた。しかし、試験(その1)でみられた歩行失調や下肢の不全麻痺などの臨床症状は認められず、また、筋症も軽度であった。

一般的に神経切断、神経筋接合ブロック、廃用、栄養不良等が骨格筋に影響を及ぼすことはよく知られている。栄養不良による筋症(nutritional myopathy)は、ラットやウサギなどの動物においてタンパク⁴⁾、ビタミンE^{5,6)}、コリン⁷⁾、メチオニン⁸⁾、ヨード⁹⁾、カリウム¹⁰⁾、マグネシウム¹¹⁾などが欠乏した餌を与えることによって実験的に発生することが報告されている。特にラットは骨格筋障害を引き起こす種々の実験的な栄養の不均衡に感受性が高く、タンパク欠乏食で飼育したラットでは後肢の脱力、筋硬直、筋線維の壊死を引き起こすこと、また、タンパク欠乏食を通常の餌に戻すと回復性が認められることが報告されている^{8, 12)}。

したがって、今回実施した4週間反復投与毒性試験(その1及びその2)の3剤併用の高用量群の雌で認められた筋症は、上述した特定の成分の欠乏症を含め、栄養不良による筋肉の変化と極めて類似した病態と考えられた。

ラットの4週間反復投与毒性試験(その1)及び(その2)における大腿筋の筋症の程度及び臨床症状の違いについては、両試験ともRPZの高用量は25 mg/kgと同様であることから、併用した抗菌薬、特にAMPCの用量の違いによるものと考えられた。すなわち、4週間反復投与毒性試験(その1)におけるAMPC、CAMの用量がそれぞれ1000 mg/kg、50 mg/kgであるのに対して、試験(その2)では、それぞれ400 mg/kg、125 mg/kgであった。CAMの用量を増量した試験(その2)では、大腿筋の筋症の程度は軽減し、また随伴する臨床症状がみられなかったことから、AMPCの併用用量の低下が、これらの所見の減弱に関連していることが明らかとなった。

以上、4週間反復投与試験における3剤併用の高用量群の雌ラットで認められた歩行失調や下肢の不全麻痺などの臨床症状及び骨格筋の筋症については、特に栄養状態が悪化した雌で認められたことから、腸内細菌叢の変化に伴う栄養状態の悪化に加えRPZとAMPCの併用による栄養代謝異常が関連した二次的な変化(nutritional myopathy)と判断された。これらの所見は、高用量群の雌のラットにおいてのみ認められ、雄ラット及びRPZ曝露量の高いイヌではみられていないこと、薬物投与の中止により速やかに回復したこと、中枢及び末梢神経系には病理組織学的に何ら変化は認められないことから、臨床において発現する可能性は極めて低いものと判断された。なお、これまでに実施された3剤併用による臨床試験において、同様の所見は報告されていない(2.7.4.2参照)。

(3) イヌ反復投与における嘔吐の頻度増加

イヌにおける3剤併用の高用量群(投与用量:RPZ/AMPC/CAMの20/500/25 mg/kg)で嘔吐の頻度増加が認められた。表2.4-3に各群の嘔吐の発生頻度をまとめた。嘔吐の発生頻度・例数は、雌雄とも投与1週間が最も多い傾向であったが、3剤併用の高用量群の雌では明らかに増加していた。しかし、3剤併用の高用量群の雌を含め、全ての投与群で投与2週以降減少する傾向がみられた。したがって、3剤併用の高用量群でみられた嘔吐の頻度の増加は投与期間が長くなるに従って減弱するもので、投与期間の延長に伴って増強することはなかった。なお、これまでに実

施された3剤併用による臨床試験において、有害事象としての嘔吐や嘔気の発現は高頻度にみられていない(2.7.4.2 参照)。

表 2.4-3 イヌの4週間反復投与毒性試験における嘔吐の発現頻度

群	性	1~7日	8~14日	15~21日	22~28*日	合計	
対照群	雄	0	3(1)	0	0	3	5
	雌	1(1)	0	0	1(1)	2	
RPZ(L)群	雄	7(2)	2(1)	1(1)	0	10	15
	雌	0	1(1)	1(1)	3(2)	5	
RPZ(H)群	雄	4(2)	0	0	0	4	14
	雌	9(3)	0	0	1(1)	10	
AMPC+CAM群	雄	1(1)	0	0	0	1	5
	雌	3(2)	1(1)	0	0	4	
RPZ(L)+AMPC+CAM群	雄	8(2)	2(1)	2(1)	0	12	14
	雌	1(1)	0	1(1)	0	2	
RPZ(H)+AMPC+CAM群	雄	7(3)	2(2)	1(1)	0	10	42
	雌	16(3)	7(2)	7(3)	2(2)	32	

(資料：4.2.3.2-4のTable1~4より抜粋し改変)

観察期間における累積の発現例数，カッコ内は3例中の発現例数

*雌は22~29日

(4) 反復投与における胃の変化

AMPC及びCAMの併用投与如何にかかわらず4週間反復投与毒性試験において、ラットでは、RPZの25 mg/kg投与群で薬理作用に起因する腺胃部粘膜の過形成が、また、イヌでは、RPZの20 mg/kg投与群で胃粘膜の肥厚及び壁細胞の変性が認められた。これらの胃の変化は、RPZのラット及びイヌの反復投与毒性試験(ラベプラゾールナトリウム及びパリエット®錠 10mg, 20mgの承認時資料概要 121~133 頁参照)でも認められており、RPZの薬理作用である胃酸分泌抑制に基づく変化と考えられた。

2.4.5 総括及び結論

プロトンポンプ阻害剤であるRPZと、抗菌薬であるAMPC及びCAMの3剤併用療法は、*H. pylori*に対する除菌の適応追加を意図して開発された。

*In vitro*試験において、AMPC及びCAMはともに*H. pylori*標準株及び臨床分離株のいずれに対しても強い抗菌活性を示した。臨床分離株に対するAMPC及びCAMのMIC₈₀値は、それぞれ0.10及び0.20 µg/mLであった。臨床最大用量(RPZ/AMPC/CAM：20/750/400 mg/man/回, 40/1500/800 mg/man/day)におけるAMPC及びCAMのC_{max}はそれぞれ10.024 及び2.098 µg/mLであることから、臨床的に十分な効果を示すものと考えられた。

*H. pylori*胃内感染モデル(スナネズミ)において、RPZ単独投与群では胃内*H. pylori*生菌数に影響を与えなかったが、AMPC及びCAMの2剤併用群では有意な胃内生菌数減少作用が認められた。更に、RPZと抗菌薬2剤(AMPC及びCAM)の3剤併用投与群では併用投与による相乗作用が認められ、RPZは抗菌薬2剤による胃内生菌数減少作用を有意に増強させた。3剤併用による胃内*H. pylori*生菌数減少作用の増強機序としては、RPZが胃壁細胞のH⁺,K⁺-ATPaseを阻害して胃酸分泌反応を抑制することにより、胃内pHを上昇させた結果、胃内でのAMPC及びCAMの抗菌活性が強く発揮されるようになったものと推察された。

安全性薬理については3剤併用による試験を実施していないが、RPZ、AMPC及びCAMの3剤併用による毒性試験の結果、臨床試験における副作用報告及び各単剤の一般薬理試験の結果を基に3剤併用時の薬理的相互作用について考察し、危惧すべき中枢神経系、心血管系及び呼吸系などへの作用を発現する可能性は低いと考えられた。

RPZ、AMPC及びCAMの3剤併用によるラット経口単回投与毒性試験において、死亡は認められず、概略の致死量は、RPZ/AMPC/CAMの500/2000/1000 mg/kgより大であり、3剤併用による致死量の低下は認められなかった。遅発性の散瞳が、3剤併用投与群の雌で認められたが、一過性かつ回復性の変化であった。イヌの1週間反復経口投与試験では、RPZ/AMPC/CAMの

20/500/25 mg/kg において死亡は認められなかった。

3 剤併用によるラット 4 週間経口反復投与毒性試験において、雌の最高投与群（投与量（RPZ/AMPC/CAM）：25/1000/50 mg/kg, 試験（その1）, 25/400/125 mg/kg, 試験（その2））で、大腿筋の筋症が認められたが、抗菌薬投与による腸内細菌叢の変化に伴う栄養状態の悪化に起因する二次的な変化（nutritional myopathy）と考えられた。また、AMPC の投与量を減少することによって、随伴する歩行失調、下肢の不全麻痺などの臨床症状は認められず、大腿筋の筋症の程度も減弱した。これ以外、新たな毒性の発現や毒性の増強は認められなかった。

イヌ 4 週間経口反復投与毒性試験において、3 剤併用高用量群（20/500/25 mg/kg）で嘔吐の頻度の増加が認められたが、それ以外、新たな毒性の発現や毒性の増強は認められなかった。

これらのラットにおける 3 剤併用による単回及び反復投与毒性試験の高用量群で認められた諸変化及びイヌでの 3 剤併用による反復投与毒性試験における高用量群の嘔吐の頻度増加はいずれも臨床上問題となる可能性は低いと判断された。また、それぞれの薬剤に起因するそれら以外に認められた変化はいずれも軽度な変化であり、3 剤併用による毒性の増強はなかった。

3 剤併用によるラット及びイヌ 4 週間経口反復投与毒性試験のトキシコキネティクス検査では、RPZ（イヌ）及び AMPC, CAM（ラット及びイヌ）の C_{max} 及び AUC などの薬物動態パラメータにおいて、薬剤併用による影響はみられなかった。また、曝露量はラットでの RPZ 以外、いずれの薬剤についてもほぼ臨床最大用量の曝露量を超えていた。一方、ラットにおける RPZ の曝露量は、単剤群より併用群で低い傾向がみられ、投与検体の媒体として重曹緩衝液を用いたにもかかわらず胃酸による分解の影響を強く受け著しく低値であった。しかし、ラットにおいて RPZ では曝露量が十分にヒトをカバーしているとは言えないものの曝露自体は確認されており、RPZ の薬理作用に起因する胃の形態変化も認められた。

CHO 細胞を用いる HGPRT 前進遺伝子突然変異試験においても、S9 mix 存在下及び非存在下のいずれにも 3 剤併用による遺伝子突然変異誘発作用は認められなかった。更に、マウスにおける小核試験でも、3 剤併用の最高用量でも骨髄における染色体異常誘発作用は認められなかった。

なお、3 剤併用による生殖発生毒性試験は実施していないが、RPZ 及び AMPC には催奇形性は認められていないものの、CAM においては国外で実施された催奇形性試験で母動物（ラット）に毒性が認められる高用量（150 mg/kg）において胎児の発育抑制及び催奇形性が認められていることから、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 の使用上の注意を確認する様、RPZ の添付文書における「使用上の注意」の「2. 重要な基本的注意」の項にその旨を記載し、注意喚起を行う。また、RPZ, AMPC 及び CAM 併用投与によるラット 4 週間反復投与毒性試験（4.2.3.2-1, 4.2.3.2-2 参照）で雌でのみ認められた栄養状態の悪化に基づくと考えられる筋症や一般状態の変化については、3 剤併用投与による胚・胎児発生試験を実施した場合、母動物に対する非特異的な影響が胎児の発育にも影響を与え、毒性が増強される可能性が考えられるため、RPZ, AMPC, CAM の添付文書における「使用上の注意」の「6. 妊婦、産婦、授乳婦等への投与」の項にその旨を記載し、注意喚起を行う。更に、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ていることから、RPZ の添付文書における「使用上の注意」の「9. その他の注意」の項にその旨を記載し、注意喚起を行う。

以上の非臨床試験の結果より、RPZ, AMPC 及び CAM の 3 剤併用による *H. pylori* 除菌に対する有効性及び安全性は担保しうるものと考えられた。

2.4.6 参考文献

- 1) 日本化学療法学会．最小発育阻止濃度（MIC）測定法再改訂について. Chemotherapy 1981; 29: 76-9. (4.3.2.4-1)
- 2) 日本細菌学会教育委員会．病原細菌の分離・同定と病原因子の検索，ヘリコバクター・ピロリ菌の検索．日本細菌学雑誌 1996; 51: 1070 - 89. (4.3.2.4-2)
- 3) Krogstad DJ, Moellering RC Jr. Antimicrobial combinations. In: Lorian V, editor. Antibiotics in laboratory medicine. 2nd ed. Baltimore: Williams and Wilkins; 1986. 537-95. (4.3.2.4-3)
- 4) Oldfors A, Mair WGP, Sourander P. Muscle changes in protein-deprived young rats. A morphometrical, histochemical and ultrastructural study. J Neurol Sci 1983; 59: 291-302. (4.3.2.4-4)

2.4 非臨床概括評價

- 5) Olcott HS. The paralysis in the young of vitamin E deficient female rats. *J Nutr* 1938; 15: 221-5. (4.3.2.4-5)
- 6) Chen LH, Lin C-T. Some enzymatic changes associated with pathological changes in rats with long-term vitamin E deficiency. *Nutr Rep Int* 1980; 21: 387-95. (4.3.2.4-6)
- 7) Hove EL, Copeland DH. Progressive muscular dystrophy in rabbits as a result of chronic choline deficiency. *J Nutr* 1954; 53: 391-405. (4.3.2.4-7)
- 8) Cummins AG, Duncombe VM, Bolin TD, Davis AE. Reversible nutritional myopathy with myotonia in the protein-deficient rat given methionine. *Aust J Exp Biol Med Sci* 1985; 63(pt.2): 127-37. (4.3.2.4-8)
- 9) Rosman NP, Schapiro MB, Haddow JE. Muscle weakness caused by an iodine-deficient diet: Investigation of a nutritional myopathy. *J Neuropathol Exp Neurol* 1978; 37: 192-211. (4.3.2.4-9)
- 10) Corbett AJ, Pollock M. Experimental potassium depletion myopathy. *J Neurol Sci* 1981; 49: 193-206. (4.3.2.4-10)
- 11) Heggveit HA. Myopathy in experimental magnesium deficiency. *Ann N Y Acad Sci* 1969; 162: 758-65. (4.3.2.4-11)
- 12) McDonald MM, Hamilton BF. 13. Skeletal Muscle. In: Boorman GA, editors. *Pathology of Fischer Rat*. New York: Academic Press; 1990. p. 193-207. (4.3.2.4-12)