

リファブチン

ミコブティン[®]カプセル 150 mg

医薬品製造販売承認申請資料

第2部（モジュール2）

概要（サマリー）

2.4 非臨床に関する概括評価

ファイザー株式会社

目 次

2.4.1	非臨床試験計画概略	5
2.4.2	薬理試験.....	6
2.4.3	薬物動態試験	16
2.4.4	毒性試験.....	21
2.4.5	参考文献一覧	33

略号・用語の定義一覧

略号・用語	省略していない表現又は用語の定義
ALT	alanine aminotransferase
AST	aspartate aminotransferase
AUC _{0-∞}	ゼロから無限時間まで外挿した血漿中薬物濃度-時間曲線下面積
CFU	colony forming unit
C _{max}	血漿中薬物の最高濃度
CYP	チトクローム P450
ED ₅₀	50%有効用量
ED ₇₀	70%有効用量
FIC	fractional inhibiting concentration
LD ₅₀	50%致死用量
MBC	minimum bactericidal concentration：最小殺菌濃度
MIC	minimum inhibitory concentration：最小発育阻止濃度
T _{max}	血漿中薬物の最高濃度到達時間
t _{1/2}	消失半減期

2.4.1 非臨床試験計画概略

リファブチンは、広範囲な抗菌スペクトルを有するリファマイシン系の経口抗菌薬であり、*Mycobacterium tuberculosis* 及び *Mycobacterium avium* complex 等の抗酸菌に対して有効である。リファブチンの化学名は (9*S*,12*E*,14*S*,15*R*,16*S*,17*R*,18*R*,19*R*,20*S*,21*S*,22*E*,24*Z*)-6,18,20-Trihydroxy-14-methoxy-7,9,15,17,19,21,25-heptamethyl-1'-(2-methylpropyl)-5,10,26-trioxo-3,5,9,10-tetrahydrospiro[9,4-(epoxypentadeca[1,11,13]trienimino)-2*H*-furo[2',3':7,8]naphtho[1,2-*d*]imidazole-2,4'-piperidine]-16-yl acetate であり、構造式を以下に示す。

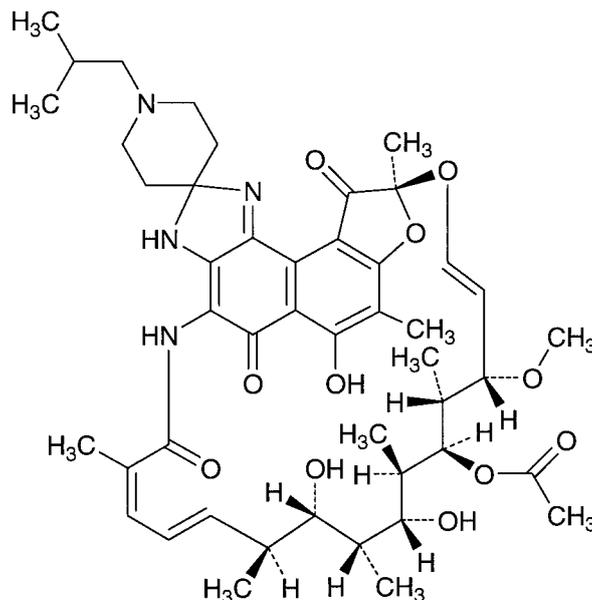


図 1 リファブチンの構造式

リファブチンの薬理試験として、効力を裏付ける試験、薬力学的薬物相互作用試験及び安全性薬理試験（一般薬理試験）を実施した。

リファブチンの非臨床薬物動態試験は、毒性試験に使用したマウス、ラット、ウサギ及びサルを用いて実施した。

リファブチンの毒性試験は、臨床適用経路である経口投与で実施した。単回投与毒性試験は、マウス、ラット、イヌ及びサルを用いた。反復投与毒性試験は、ラット、サル及びヒトの経口 13 週間毒性試験並びにマウス、ラット及びサル経口 52 週間毒性試験を実施し、一部の試験では回復性についても検討した。また、*in vitro* 及び *in vivo* の遺伝毒性試験、マウス及びラットのがん原性試験、ラット及びウサギの生殖発生毒性試験を実施した。

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 作用機序（資料番号：4.2.1-Ref 38）

In vitro 試験において、リファブチンは *Escherichia coli* のウリジン取り込みを抑制し、*E. coli* 及び *Bacillus subtilis* から抽出した DNA 依存性 RNA ポリメラーゼの活性を阻害した^{参考文献1)}。このことから、リファブチンはリファンピシンと同様に RNA ポリメラーゼに作用し、RNA 合成を阻害することで抗菌活性を発揮すると考えられる。

さらに、リファブチンは 5 µg/mL で、リファンピシン耐性 *Mycobacterium tuberculosis* の DNA へのチミジンの取り込みを阻害した。細胞内移行性^{注1)}及び C_{max} ^{注2)}を考慮すると、リファブチンは、標準的な臨床用量において、細胞内増殖リファンピシン耐性 *Mycobacterium tuberculosis* に対しては、その DNA 依存性 RNA ポリメラーゼの阻害に加えて、DNA 合成も阻害する可能性があることが示唆された。

2.4.2.1.2 *In vitro* 抗菌活性

2.4.2.1.2.1 標準株に対する MIC（資料番号：4.2.1-Ref 26）

各種グラム陽性菌及び陰性菌に対するリファブチンの抗菌活性を寒天平板希釈法又は液体希釈法で測定した（表 1）。

表 1 標準株に対する MIC

菌株	MIC (µg/mL)	
	リファブチン	リファンピシン
<u>グラム陽性菌</u>		
<i>Staphylococcus aureus</i> 209P	0.005	0.0025
<i>Staphylococcus aureus</i> Smith	0.03	0.015
<i>Staphylococcus aureus</i> PV1	0.06	0.03
<i>Streptococcus foecalis</i> ATCC 8043	0.5	0.25
<u>グラム陰性菌</u>		
<i>Escherichia coli</i> B	2.5	2.5
<i>Escherichia coli</i> Ginetta	5	2.5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 2598	>20	2.5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> RHO9	5	5
<i>Proteus mirabilis</i> 525	5	1.25
<i>Proteus vulgaris</i>	1.25	1.25
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 10031	2.5	2.5
<i>Salmonella tyhimurium</i> F7	2.5	2.5

（出典：資料番号 4.2.1-Ref 26, Table1）

グラム陽性菌に対するリファブチンの MIC は、*Staphylococcus aureus* に対して 0.005～0.06 µg/mL、*Streptococcus foecalis* ATCC 8043 に対して 0.5 µg/mL であった。また、グラム陰性菌に対する MIC

注1) 2.4.2.1.2.5 の項参照。

注2) 2.5.3.1.1 の項参照。

は 1.25～>20 µg/mL であり、リファブチンはグラム陰性菌と比較してグラム陽性菌に対して強い抗菌活性を示した。

各菌種に対するリファブチンの抗菌活性は、リファンピシンと同程度であった。

2.4.2.1.2.2 *Mycobacterium* 属に対する MIC (資料番号：4.2.1-Ref 77)

Mycobacterium 属に対するリファブチンの抗菌活性を寒天平板希釈法で測定した (表 2)。

リファンピシン感受性 *M. tuberculosis* に対するリファブチンの MIC は、0.025～0.05 µg/mL であり、MIC₅₀ は 0.025 µg/mL、MIC₉₀ は 0.05 µg/mL であった。また、リファンピシン耐性株 (リファンピシン MIC=50～100 µg/mL) に対するリファブチンの MIC は、6.25～12.5 µg/mL であった。

Mycobacterium avium complex に対するリファブチンの MIC は、0.025～100 µg/mL であり、MIC₅₀ は 0.39 µg/mL、MIC₉₀ は 1.56 µg/mL であった。これに対して、リファンピシンの MIC₉₀ は 50 µg/mL であった。

その他の *Mycobacterium* 属に対するリファブチンの MIC₉₀ は、*Mycobacterium kansasii* 及び *Mycobacterium marinum* に対して 0.1 µg/mL、*Mycobacterium scrofulaceum* に対して 1.56 µg/mL、*Mycobacterium fortuitum* に対して 6.25 µg/mL、*Mycobacterium abscessus* に対して 25 µg/mL 並びに *Mycobacterium chelonae* に対して 50 µg/mL であった。

以上、*Mycobacterium* 属に対するリファブチンの抗菌活性は、リファンピシンと比較して MIC₉₀ で 4～32 倍強かった。

表 2 *Mycobacterium* 属に対するリファブチンの MIC

菌種 (株数)	薬物	MIC (µg/mL)		
		範囲	MIC ₅₀	MIC ₉₀
<i>M. tuberculosis</i> (22) リファンピシン感受性 (16)	リファブチン	0.025 ~ 0.05	0.025	0.05
	リファンピシン	0.025 ~ 0.2	0.1	0.2
リファンピシン耐性 (6)	リファブチン	6.25 ~ 12.5	-	-
	リファンピシン	50 ~ 100	-	-
<i>M. kansasii</i> (19)	リファブチン	≤0.0125 ~ 0.2	0.025	0.1
	リファンピシン	0.025 ~ 3.13	0.2	3.13
<i>M. marinum</i> (10)	リファブチン	0.025 ~ 0.2	0.1	0.1
	リファンピシン	0.1 ~ 0.39	0.2	0.39
<i>M. scrofulaceum</i> (19)	リファブチン	0.025 ~ 1.56	0.2	1.56
	リファンピシン	0.1 ~ 6.25	0.78	6.25
<i>M. avium</i> complex (52)	リファブチン	0.025 ~ 100	0.39	1.56
	リファンピシン	0.78 ~ >100	6.25	50
<i>M. fortuitum</i> (20)	リファブチン	1.56 ~ 6.25	3.13	6.25
	リファンピシン	12.5 ~ 100	50	100
<i>M. abscessus</i> (20)	リファブチン	3.13 ~ 25	12.5	25
	リファンピシン	50 ~ >100	>100	>100
<i>M. chelonae</i> (20)	リファブチン	3.13 ~ 50	12.5	50
	リファンピシン	25 ~ >100	>100	>100

測定方法：寒天平板希釈法 (7H10 寒天)

- : 10 株未満のため算出せず

(出典：資料番号：4.2.1-Ref 77, Table I)

2.4.2.1.2.3 MIC/MBC (資料番号：4.2.1-Ref 30)

M. tuberculosis に対する MBC (99%殺菌) を液体希釈法で検討した (表 3)。

リファブチンの *M. tuberculosis* に対する MBC は 0.125~32 µg/mL であり, ほとんどの菌株に対して MIC の 4 倍の濃度で殺菌的に作用した。

表 3 *M. tuberculosis* に対するリファブチンの MIC/MBC

菌株	MIC (µg/mL)	MBC (µg/mL)	MIC/MBC
3181-5	0.03	0.125	1 : 4
1620-6	0.03	0.125	1 : 4
H37Rv	0.06	0.25	1 : 4
2356-5	1	4	1 : 4
510-3	2	32	1 : 16

(出典：資料番号 4.2.1-Ref 30, Table 1)

2.4.2.1.2.4 国内外のリファンピシン耐性株 (臨床分離株) におけるリファブチン耐性率

リファマイシン系薬剤に対する *M. tuberculosis* の耐性発現には, 共通して DNA 依存性 RNA ポリメラーゼ β サブユニット遺伝子 (*rpoB* 遺伝子) の変異が関与することが確認されており, リファンピシンとリファブチンとの交差耐性は, このメカニズムによるものと考えられている^{参考文献 2)}。

文献報告を基に, 国内外のリファンピシン耐性株 (臨床分離株) におけるリファブチン耐性率を表 4 にまとめた。国内のリファンピシン耐性株におけるリファブチン耐性率は 50%であった。しかしながら, リファンピシン耐性株におけるリファブチン耐性率が明確でない場合でも, リファンピシンとリファブチンとの間に完全な交差耐性は成立せず, リファブチンの抗菌活性はリファンピシンのそれを上回るとの報告もある^{参考文献12)}。これに対し, 海外の臨床分離株でのリファンピ

表 4 国内外のリファンピシン耐性株 (臨床分離株) におけるリファブチン耐性率

臨床分離株の国内, 海外の別	リファンピシン耐性株数	リファンピシン耐性株におけるリファブチン耐性株数	リファンピシン耐性株におけるリファブチン耐性率 (%)	リファブチン耐性の基準	参考文献
国内	8	4	50	MIC > 40µg/mL	3)
海外	92	-	88	MIC > 0.5µg/mL	4)
海外	23	20	87	MIC ≥ 2.5µg/mL	5)
海外	25	22	88	MIC ≥ 8µg/mL	6)
海外	52	38	73	MIC ≥ 1µg/mL	7)
海外	29	21	72	MIC ≥ 2µg/mL*	8)
海外	30	24	80	MIC > 2µg/mL	9)
海外	21	17	81	MIC > 1µg/mL	10)
海外	41	35	85	MIC ≥ 1µg/mL	11)

-: 記載なし

*: 参考文献中のリファンピシン耐性の基準

シン耐性株におけるリファブチン耐性率は、約 70~90%であった。サンフォード感染症治療ガイドには、*M. tuberculosis* のリファンピシン耐性株の約 30%はリファブチンに感受性を持つと記載されており^{参考文献13)}、リファブチン耐性の判断基準の違いなどを考慮すると、これと同様の傾向を示していると考えられる。

2.4.2.1.2.5 細胞内増殖菌に対する抗菌活性と細胞内移行性 (資料番号：4.2.1-Ref 83, 37, 67)

C57BL/6 マウスからマクロファージを調製後、このマクロファージの培養液に *M. avium complex* を接種し 37°C で 1 時間培養することで、マクロファージに菌を貪食させた。非貪食菌を除いた後に、リファブチン又はリファンピシンを 1 µg/mL 又は 10 µg/mL になるように培地に加え、37°C で 3 日間培養し、経時的にマクロファージ内の生菌数を測定した。

リファブチンは 24 時間後から抗菌活性を示し、1 µg/mL で静菌的に、10 µg/mL で殺菌的に作用した (図 2)。これに対して、リファンピシンは、1 µg/mL で抗菌活性がみられず、10 µg/mL で 72 時間後に对照群と比較して生菌数の減少がみられた。

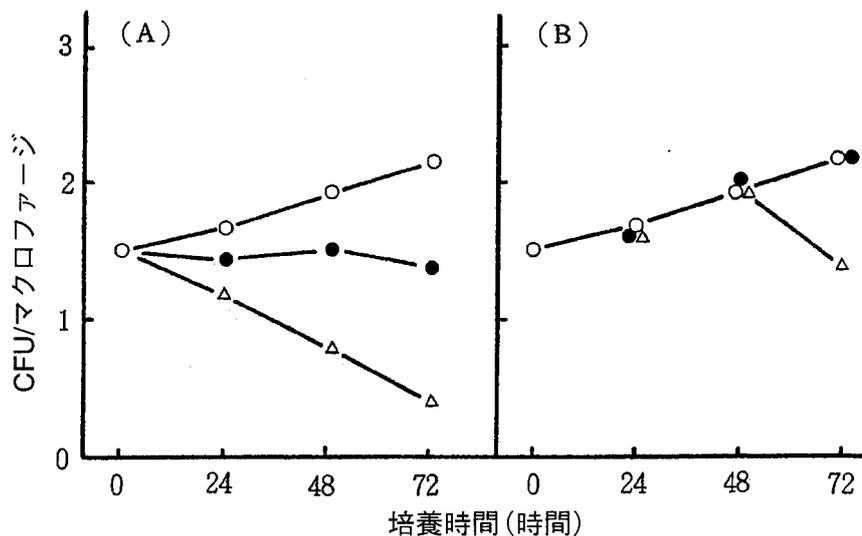


図 2 マウスマクロファージ内 *M. avium complex* に対するリファブチン (A) 及びリファンピシン (B) の抗菌作用

○：対照，●：1 µg/mL，△：10 µg/mL (出典：4.2.1-Ref 83, Fig. 1)

表 5 に示すように、リファブチンは、マウスマクロファージ、ヒト単球及びヒト好中球に対して高い細胞内移行性を示し、細胞内薬物濃度は細胞外薬物濃度と比較してそれぞれ 11 倍、14.6 倍及び 9.4 倍であった。これに対して、リファンピシンの細胞内移行性は 3.75~5 倍であり、リファブチンと比較して 1/2 程度であった。

また、表 2 に示すように、*Mycobacterium* 属に対するリファブチンの抗菌活性は、リファンピシンのそれと比較して MIC₉₀ を基準にした場合で 4~32 倍強かった。

以上のことから、リファブチンとリファンピシンの細胞内移行性の差及び *Mycobacterium* 属に対する抗菌活性の差が、細胞内増殖 *M. avium complex* に対する抗菌活性の差に寄与していると考えられる。

表 5 リファブチンの細胞内移行性

薬物	細胞内移行性* (細胞内薬物濃度/細胞外薬物濃度)		
	マウスマクロファージ ^{a)}	ヒト単球 ^{a)}	ヒト好中球 ^{b)}
リファブチン	11	14.6	9.4
リファンピシン	3.75	5	4.5

*: リファブチン又はリファンピシン 10 µg/mL を作用させた。

(出典: a)資料番号 4.2.1-Ref 37, Table 2, b)資料番号 4.2.1-Ref 67, Table II から抜粋)

2.4.2.1.3 *In vivo* 抗菌活性

2.4.2.1.3.1 *Mycobacterium avium* complex 感染モデルに対する治療効果

(資料番号: 4.2.1-Ref 77)

ddY マウスに *M. avium* complex N-260 (1.6×10^7 CFU/マウス) 又は N-276 (7.8×10^6 CFU/マウス) を静脈内接種して全身感染モデルを作製し、薬物投与は感染 24 時間後から 4 週間 (1 日 1 回週 6 回) 投与した。薬効を肺及び脾臓内生菌数に基づいて評価した (表 6)。

リファブチン投与群では、いずれの群においても肺内生菌数の有意な減少が認められ、N-260 株感染モデルにおけるリファブチン投与群の感染 4 週間後の肺内生菌数は、対照群と比較して 1/100 に減少した。一方、リファンピシン投与群では、N-260 株感染モデルで有意な肺内生菌数の減少がみられたが、N-276 株感染モデルで有意な減少がみられなかった。

表 6 マウス *M. avium* complex 全身感染モデルに対する治療効果

感染菌株	感染後 期間(週)	薬物	MIC (µg/mL)	用量 (mg/kg)	組織内生菌数 (Log CFU/組織)	
					肺	脾臓
N-260	4	対照		0	4.53	5.58
		リファブチン	0.2	80	2.54**	4.93*
		リファンピシン	3.13	80	2.83**	5.38
	8	対照		0	5.81	5.70
		リファブチン	0.2	80	4.43**	5.37
		リファンピシン	3.13	80	4.30**	5.36
N-276	4	対照		0	3.82	4.43
		リファブチン	0.05	20	3.12*	4.00
		リファンピシン	1.56	20	3.23	4.33
	8	対照		0	4.51	3.81
		リファブチン	0.05	20	3.57*	3.58
		リファンピシン	1.56	20	4.10	3.80

*: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$ (Student の t 検定)

(出典: 資料番号 4.2.1-Ref 77, Table III)

2.4.2.1.3.2 *Mycobacterium tuberculosis* 感染モデルに対する治療効果 (資料番号: 4.2.1-Ref 29)

CD-1 マウスに *M. tuberculosis* H37Rv の 3LD₅₀ を静脈内接種して全身感染モデルを作製し、薬物は感染 3 日 (1 日 1 回週 2 回) 又は 10 日 (1 日 1 回週 5 回) 後から 5 週間投与した。薬効の指標として、感染動物の生存数に基づいて 50% 有効用量 (ED₅₀) を算出した (表 7)。

リファブチンの ED₅₀ 値は、感染 3 日後投与開始で 0.94 mg/kg、感染 10 日後投与開始で 0.76 mg/kg であった。これに対して、リファンピシンの ED₅₀ 値は、それぞれ 3.57 mg/kg 及び 5.35 mg/kg であ

り、リファブチンのED₅₀値と比較して約4~7倍高かった。

表 7 マウス *M. tuberculosis* 全身感染モデルに対する治療効果

薬物投与開始時期	薬物	ED ₅₀ (mg/kg)
感染 3 日後	リファブチン	0.94
	リファンピシン	3.57
感染 10 日後	リファブチン	0.76
	リファンピシン	5.35

(出典：資料番号 4.2.1-Ref 29, Table 2 から抜粋)

2.4.2.1.3.3 *Mycobacterium intracellulare* 感染モデルに対する予防効果 (資料番号:4.2.1-Ref 78)

Swiss Webster マウスに *M. intracellulare* 571-8 の 10⁶~10⁷ CFU を静脈内接種して全身感染モデルを作製した。リファブチン 10 mg/kg を、感染直後から 3 週間 (治療投与) 又は感染 3 週間前に 3 週間 (予防投与) 経口投与した。薬効を肺及び脾臓内生菌数に基づいて評価した (図 3)。

脾臓内生菌数を比較したとき、リファブチン 10 mg/kg の予防投与は、感染 8 週間後で治療投与と比較して高い除菌効果を示した。リファブチンはマクロファージに取り込まれ、マクロファージ内増殖菌に対しても有効に作用するため^{注)}、感染時のマクロファージ内リファブチン濃度は、予防投与の場合の方が治療投与の場合と比較して高いと考えられる。その結果、マクロファージ内増殖菌に対する作用発現時間に差が生じ、脾臓での予防投与と治療投与における効果の差異として反映されていると推察される。

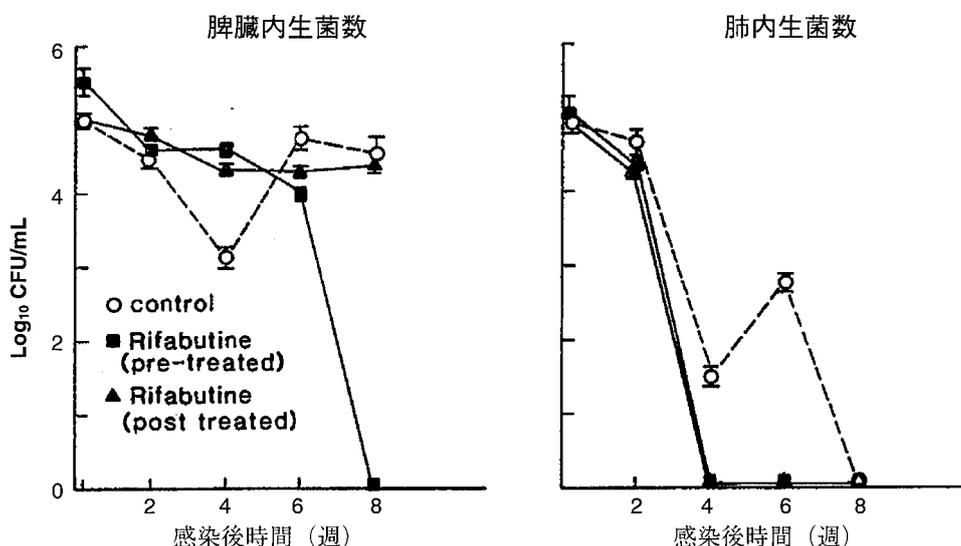


図 3 マウス *M. intracellulare* 全身感染モデルに対するリファブチンの治療及び予防効果

pre-treated: 予防投与 (感染前にリファブチン投与), post-treated: 治療投与 (感染後にリファブチン投与)

(出典：資料番号 4.2.1-Ref 78, Fig. 5)

注) 2.4.2.1.2.5 の項参照。

これに対し、肺内生菌数では、予防投与と治療投与で同程度の除菌効果を示した。正常マウスに非定型抗酸菌を経静脈感染させたマウス持続感染モデルでは、脾臓内生菌数はほぼ一定を保つものの、肺内生菌数は感染直後より減少し感染が自然治癒する例が報告されている^{注1)}。対照群の肺内生菌数の変化から、本実験においても、肺における感染が自然治癒したと考えられる。したがって、肺におけるリファブチンの薬効は、治療投与と予防投与の間に生じる感染時のマクロファージ内リファブチン濃度差の影響をほとんど受けず、その結果、治療投与と予防投与における効果に明確な差異が認められなかったものと推察される。

なお、経静脈感染により肺及び脾臓において *M. avium* の持続感染が成立したマウスモデルにおいても、肺及び脾臓でのリファブチンの治療投与による効果が確認されている^{参考文献14)}。

2.4.2.1.4 代謝物の抗菌活性（資料番号：4.2.1-Ref 39, 40）

リファブチンの主要代謝物である、25 脱アセチル体及び 31 水酸化体の抗菌活性を液体希釈法で測定した（表 8）。

25 脱アセチル体の抗菌活性は、リファブチンと同程度であったが、31 水酸化体の抗菌活性は、リファブチンの 1/16 であった。反復経口投与時の 25 脱アセチル体のヒト C_{max} はリファブチンの約 1/10 であることから^{注2)}、25 脱アセチル体は薬効にほとんど寄与しないと考えられる。

また、単回経口投与時の 31 水酸化体のヒト C_{max} はリファブチンの約 1/18 であり、その消失パターンはリファブチンのそれと平行であると推察されることから^{注3)}、31 水酸化体も薬効にはほとんど寄与しないと考えられる。

表 8 リファブチン及びその主要代謝物の抗菌活性

菌株	MIC ($\mu\text{g/mL}$)		
	リファブチン ^{a)}	25 脱アセチル体 ^{a)}	31 水酸化体 ^{b)}
<i>M. tuberculosis</i> H37Rv	0.01	0.01	0.16

（出典：a)資料番号 4.2.1-Ref 39, Table 2 から抜粋, b)資料番号 4.2.1-Ref 40, Table 1 から抜粋）

2.4.2.2 安全性薬理試験

リファブチンの中枢神経系、呼吸器系、心血管系、消化器系並びに水及び電解質代謝に及ぼす影響を検討した試験は、いずれも非 GLP 試験として実施しているため一般薬理試験として本項に記載した。

2.4.2.2.1 一般薬理試験

2.4.2.2.1.1 中枢神経系に及ぼす影響（資料番号：4.2.1-Ref 42）

一般薬理試験の成績を表 9 にまとめた。マウスにおいてリファブチンの経口投与により、25

注1) 資料番号 4.2.1-Ref 75 参照。

注2) 2.5.3.1.2 の項参照。

注3) 2.5.3.3.1 の項参照。

mg/kg で一般症状に影響がみられず、50 mg/kg 以上で皮膚体温上昇、200 mg/kg 以上で自発運動及び筋緊張の低下、縮瞳、緩徐呼吸、皮膚紅潮並びに驚愕反応の低下、400 mg/kg 以上で警戒行動及び屈筋反射の低下、振戦並びに痛覚鈍麻、800 mg/kg で運動失調及び正向反射の低下がみられた。

ラットにおいてリファブチンの経口投与により、25 mg/kg で一般症状に影響がみられず、50 mg/kg 以上で散瞳、100 mg/kg 以上で自発運動、警戒行動及び常同行動の増加、400 mg/kg 以上で緊張、立毛及び驚愕反応の増加がみられた。

表 9 一般薬理試験成績

試験項目	動物種	適用経路	投与量 (mg/kg)	性別/例数	試験成績
(1)中枢神経系に及ぼす影響					
一般症状・行動 (Irwin 法の変法)	マウス	経口	25	雄性/n=3	作用なし
			≥50		皮膚温上昇
			≥200		自発運動及び筋緊張の低下,縮瞳,緩徐呼吸,皮膚紅潮,驚愕反応の鈍化
			≥400		振戦,警戒行動及び屈筋反射の低下,痛覚鈍麻
			800		正向反射の低下,運動失調
	ラット	経口	25	雄性/n=3	作用なし
			≥50		散瞳
			≥100		自発運動,警戒行動及び常同運動の増加
			≥400		緊張,立毛,驚愕反応の増加
	体温 (直腸温)	マウス	経口	25,100	雄性/n=5
ラット		経口	25,100	雄性/n=5	作用なし
イヌ		経口	100	雄性/n=2	作用なし
協調運動(ロークロット法)	ラット	経口	50	雄性/n=10	作用なし
(2)呼吸・心血管系に及ぼす影響					
血压,心拍数,自律神経作 動用薬(ノルエピネフリン,アセチルコ リン,ヒスタミン,イソプレナリン,アンギオテン シンII)による血压変化*	ラット	経口	4,36	雄性/n=6	作用なし
			40,200 (4日間反復)	雄性/n=5	作用なし
平均,拡張期及び収縮期血 压,最大左心室压,dP/dt,心 拍数,PQ間隔,QRS間隔,呼 吸数,呼吸流量,1回換気量, 肺内外压差,呼吸抵抗,肺コ ンプライアンス	麻酔イヌ	十二指 腸内	50	雄性/n=4	心血管系に対して作用なし 呼吸数の増加(45%)
(3)消化器系に及ぼす影響					
胃排出(フェノールレッド法)	ラット	経口	0.8,4,20	雄性/n=6	作用なし
(4)水及び電解質代謝に及ぼす影響					
尿量,尿pH,電解質排泄	ラット	経口	4	雌性/n=8	作用なし
			20	雌性/n=8	Na ⁺ 排出量増加(15%)
			100	雌性/n=8	K ⁺ 排出量増加(50%)

*:自律神経作動用薬による血压変化に対する検討は、4及び36 mg/kgの単回投与でのみ実施した。

マウス、ラット及びイヌにおいてリファブチン 100 mg/kg の経口投与により、直腸温に影響がみられなかった。

ラットにおいてリファブチン 50 mg/kg の経口投与により、協調運動に影響がみられなかった。

2.4.2.2.1.2 呼吸・心血管系に及ぼす影響（資料番号：4.2.1-Ref 43, 44）

ラットにおいてリファブチンの経口投与により、36 mg/kg までの単回投与では血圧及び心拍数に、200 mg/kg までの4日間反復投与では血圧に、それぞれ影響がみられなかった。また、36 mg/kg の単回投与では、ノルエピネフリン、アセチルコリン、ヒスタミン、イソプレナリン及びアンギオテンシン II による血圧変化に対しても影響がみられなかった。

麻酔イヌにおいてリファブチン 50 mg/kg の十二指腸内投与により、心血管系に影響がみられず、呼吸器系への影響として呼吸数が増加したが、その他のパラメータに影響はみられなかった。

2.4.2.2.1.3 消化器系に及ぼす影響（資料番号：4.2.1-Ref 46）

ラットにおいてリファブチンの経口投与により、20 mg/kg までフェノールレッドの胃排出能に影響がみられなかった。

2.4.2.2.1.4 水及び電解質代謝に及ぼす影響（資料番号：4.2.1-Ref 45）

生理食塩液負荷ラットにおいてリファブチンの経口投与により、20 mg/kg で Na⁺排泄量（15%）及び 100 mg/kg で K⁺排泄量（50%）が増加したが、100 mg/kg まで尿量及び尿 pH に影響がみられなかった。

2.4.2.3 薬力学的薬物相互作用試験（資料番号：4.2.1-Ref 31, 78, 86）

リファブチンとイソニアジド又はエタンブトールとの併用試験の結果を表 10 にまとめた。

リファブチンとイソニアジドとの併用試験では、*in vitro* 試験で不関/相加作用がみられ、*in vivo* 試験で不関/相加又は相乗作用がみられた。エタンブトールとの併用試験では、*in vitro* 試験で不関/相加作用又は相乗作用がみられた。

いずれの併用試験においても拮抗作用は確認されなかった。

表 10 薬力学的薬物相互作用試験一覧

実験系	菌種（株番号又は株数）	併用薬	結果 ^{a)}	資料番号
<i>In vitro</i>	<i>M. tuberculosis</i> (H37Rv)	イソニアジド	不関/相加作用	4.2.1-Ref 31
		エタンブトール	不関/相加作用	
	<i>M. avium</i> (16 株)	エタンブトール	不関/相加作用：13 株 相乗作用：3 株	4.2.1-Ref 86
マウス全身感染	<i>M. tuberculosis</i> (H37Rv)	イソニアジド	不関/相加作用又は相乗作用	4.2.1-Ref 31

a) FIC index = (併用時薬物 A の MIC 又は ED₇₀/単独時薬物 A の MIC 又は ED₇₀) + (併用時薬物 B の MIC 又は ED₇₀/単独時薬物 B の MIC 又は ED₇₀) とし、FIC index ≤ 0.5 を相乗作用、0.5 < FIC index < 4 を不関/相加作用、FIC index ≥ 4 を拮抗作用と定義した^{参考文献15)}。

2.4.2.4 薬理試験のまとめ

リファブチンは、細菌の DNA 依存性 RNA ポリメラーゼの活性を阻害することで、グラム陽性菌、グラム陰性菌及び *Mycobacterium* 属に対して抗菌活性を示すことが確認された。また、細胞内増殖リファンピシン耐性菌に対しては、その DNA 依存性 RNA ポリメラーゼの阻害に加えて、DNA 合成も阻害する可能性があることが示唆された。*Mycobacterium* 属に対するリファブチンの抗菌活性は、リファンピシンと比較して MIC₉₀ で 4~32 倍強く、リファンピシン耐性株（臨床分離株）におけるリファブチン耐性率は約 50~90% と考えられた。リファブチンは、マウスを用いた *M. avium* complex 及び *M. tuberculosis* 全身感染モデルに対して、リファンピシンと比較して強い治療効果を示し、リファブチンの予防効果もマウス *M. intracellulare* 全身感染モデルで確認された。また、リファブチンは、細胞内移行性がリファンピシンと比較して高く（約 2~3 倍）、細胞内 *M. avium* complex に対して有効であった。

安全性薬理試験（一般薬理試験）においてリファブチンの経口投与により、マウス及びラットの高用量（それぞれ 200 mg/kg 及び 100 mg/kg）で一般症状に影響がみられたが、ラット又はイヌの呼吸・心血管系、ラットの消化器系及び腎機能に対して特記すべき作用はなかった。

リファブチンと他の抗結核薬との薬力学的薬物相互作用に関しては、*in vitro* 及び *in vivo* で不関/相加作用又は相乗作用がみられ、拮抗作用はなかった。

2.4.3 薬物動態試験

ラット (Sprague-Dawley 又は Wistar), マウス (CD-1), ウサギ (New Zealand White) 及びサル (カニクイザル) を用いてリファブチンの非臨床薬物動態試験を実施した。生体試料中のリファブチン及びその代謝物の測定には、特異的かつバリデートされた高速液体クロマトグラフ-紫外検出法を用いた。¹⁴C-リファブチンを用いた試験では、試料中の放射能を液体シンチレーション計測法で測定した。

2.4.3.1 吸収 (資料番号: 4.2.1-Ref 48, 50, 51, 53, 55)

ラット, ウサギ及びサルに ¹⁴C-リファブチン 25 mg/kg を単回経口投与したときの薬物動態パラメータを表 11 に示す。経口投与されたリファブチンは速やかに吸収され, 血漿中濃度は 1.0~2.5 時間で C_{max} (1.1~2.2 µg/mL) に達した後, 5.5~12.1 時間の $t_{1/2}$ で低下した。このときの $AUC_{0-\infty}$ は 11.8~32.6 µg·h/mL であった。また, 後述する排泄試験において, 経口投与時の放射能の尿中排泄率が静脈内投与時のそれとほぼ同程度の値を示したことから, 経口投与されたリファブチンは, いずれの動物種においても, ほぼ完全に吸収されることが示された。

表 11 リファブチン 25 mg/kg 経口投与後の薬物動態パラメータ

	ラット (雌, n=4)	ウサギ (雌, n=3)	サル (雌雄, n=2/性)
C_{max} (µg/mL)	2.2	1.1±0.4	2.2±0.4
T_{max} (h)	1.0	1.7±0.3	2.5±0.5
$t_{1/2}$ (h)	8.0	12.1±1.2	5.5±0.6
$AUC_{0-\infty}$ (µg·h/mL)	32.6	11.8±2.0	16.8±1.7

平均値 (ラット), 平均値±標準誤差 (ウサギ及びサル)

マウスにリファブチン 20, 60 及び 180 mg/kg を 24 ヶ月間混餌投与したがん原性試験において, 血漿中リファブチン濃度は, 0.3~2.6 µg/mL の範囲で用量に応じて増加した。同様に, ラットに 15, 30 及び 60 mg/kg を 17 又は 24 ヶ月間混餌投与したがん原性試験においても, 血漿中リファブチン濃度は, 1~9 µg/mL の範囲で用量に応じて増加した。また, 17 及び 24 ヶ月目の値を比較してもリファブチン濃度は同程度であった。

2.4.3.2 分布 (資料番号: 4.2.1-Ref 48, 56, 57)

ラットに ¹⁴C-リファブチン 25 mg/kg を単回経口投与して放射能の組織分布を検討した。検討したすべての組織で放射能が検出され, 投与 2 時間後の血漿中放射能濃度に対する組織内放射能濃度比は, 肝臓, 肺, 腹部脂肪, 脾臓及び腎臓の順に高かった (表 12)。一方, 脳の放射能濃度は血漿の 1/2 であった。投与 72 時間後でも, 上記組織には血漿中濃度より高い濃度の放射能が認められた。

血漿中の放射能, 未変化体及び主代謝物の濃度推移から, 血漿中放射能に占める未変化体の割合は経時的に減少する傾向が認められ, 投与後 1, 24 及び 48 時間における割合は, それぞれ 88, 41 及び 15% であった (表 13)。また, 投与後 72 時間では, 血漿中放射能の大部分は構造未知の複数の代謝物によるものと考えられた。これに対し, 投与後 2 時間から 72 時間までの放射能の血

液/血漿中濃度比は 0.9~1.1 とほぼ一定の値を示した (表 14)。したがって、リファブチン及びその代謝物の血球への移行性には大きな差がなく、また、投与後 2 時間における血漿中放射能の大部分が未変化体であると考えられることから、未変化体の血液/血漿中濃度比は 0.9 程度であると考えられた。

リファブチン (0.1, 1.0 及び 10 µg/mL) の血漿タンパク結合率は、マウス、ラット、ウサギ及びサルで、それぞれ、96~98%、93~95%、86~89%及び 91~92%と高かった。ヒトでも 93~94%と高いタンパク結合率を示した。

妊娠ラットに ¹⁴C-リファブチン 10 mg/kg を単回静脈内投与した全身オートラジオグラフィーにおいて、胎盤及び胎児にわずかではあるが放射能が検出され、リファブチンの胎盤通過性が示された。

表 12 ¹⁴C-リファブチン 25 mg/kg 経口投与後の組織内/血漿中放射能濃度比 (雌性ラット)

投与後時間 (h)	肺	肝臓	脾臓	腹部脂肪	腎臓	脳
2	20.2±3.6	28.7±2.3	13.4±2.6	15.4±4.1	9.6±1.2	0.5±0.2
24	12.6±3.2	17.6±1.9	12.8±1.5	45.9±10.8	8.0±2.4	1.1±0.5
72	6.4±0.7	12.0±0.7	11.8±1.7	14.7±6.6	6.8±0.6	0.7±0.2

平均値±標準偏差, n=4

(出典: 資料番号 4.2.1-Ref 48, Table 8 から抜粋)

2, 24 及び 72 時間後の血漿中放射能濃度は、それぞれ、1.48, 1.01 及び 0.17 µg eq./mL であった。

表 13 ¹⁴C-リファブチン 25 mg/kg 経口投与後の未変化体、25 脱アセチル体及び 31 水酸化体の血漿中濃度 (雌性ラット)

投与後時間 (h)	血漿中放射能濃度 (µg eq./mL)	リファブチン濃度 (µg/mL)	25 脱アセチル体濃度 (µg/mL)	31 水酸化体濃度 (µg/mL)
1	2.54±0.47	2.24±0.51	0.04±0.01	0.09±0.01
2	1.48±0.44	1.06±0.36	0.03±0.01	0.08±0.03
4	2.05±0.49	1.51±0.42	0.06±0.02*	0.12±0.04
8	2.40±0.11	1.50±0.14	0.12±0.01	0.13±0.01
24	1.00±0.09	0.41±0.07	0.04±0.01	0.03±0.01*
48	0.34±0.05	0.05±0.02	n.d.	n.d.
72	0.17±0.02	n.d.	n.d.	n.d.

平均値±標準誤差, n=4

(出典: 資料番号 4.2.1-Ref 48, Table 6 から抜粋)

n.d.: 定量下限値以下

*: 4 例中 1 例が定量下限値以下であったため、その 1 例については 0.015 µg/mL としして解析を行った。

表 14 ¹⁴C-リファブチン 25 mg/kg 経口投与後の血液中及び血漿中放射能濃度 (雌性ラット)

投与後時間 (h)	血液中放射能濃度 (µg eq./mL)	血漿中放射能濃度 (µg eq./mL)
2	1.28±0.70	1.48±0.88
24	0.89±0.18	1.01±0.18
72	0.19±0.02	0.17±0.03

平均値±標準偏差, n=4

(出典: 資料番号 4.2.1-Ref 48, Table 7 から抜粋)

2.4.3.3 代謝（資料番号：4.2.1-Ref 48, 49, 50, 51, 58, 87, 91）

ラット、ウサギ及びサルに ^{14}C -リファブチン 25 mg/kg を単回経口投与したとき、投与4時間までの血漿中放射能に占める未変化体の割合は、ラットで72~88%、ウサギで35~62%、サルで31~45%であった。サルでは血漿中放射能に占める未変化体の割合がラット及びウサギと比較して低かったが、これは、サルでは初回通過効果が高いためと考えられた。代謝物では、31 水酸化体はすべての動物種で認められたが、リファブチンと同程度の抗菌活性を持つことが示されている25 脱アセチル体はラットでのみ検出された。

同様に尿中でも31 水酸化体はすべての動物種において検出されたが、25 脱アセチル体はラットでのみ検出された（表 15）。尿中放射能に占める割合が最も高かったのは高極性ピークで、投与量の21.5~38.5%であった。次いで未変化体の割合が高く、ラットで7.4%であったが、ウサギ及びサルでは0.2~0.3%しか検出されなかった。構造未同定の代謝物であるUK2はラットでのみ検出され、UK1はラット及びサルで検出された。

雄性ラットに ^{14}C -リファブチン 25 mg/kg を単回経口投与したときの尿中代謝物の種類及び割合は、雌性ラットとほぼ同様で、尿中代謝物プロファイルに性差は認められなかった。

表 15 リファブチン 25 mg/kg 経口投与後の尿中代謝物

	投与量に対する%			
	ラット（雌, n=4）	ウサギ（雌, n=3）	サル（雌雄, n=2/性）	ヒト（男性, n=3）
高極性ピーク	24.8*	21.5±7.2	38.5±0.8	28.5
UK1	0.7±0.5	-	0.7±0.2	0.2
25 脱アセチル体	1.6±0.1	-	-	1.9
31 水酸化体	4.3±0.5	0.4±0.1	1.0±0.1	2.5
UK2	0.4±0.3	-	-	-
リファブチン	7.4±1.8	0.2±0.1	0.3±0.1	5.1

平均値±標準偏差（ラット）、平均値±標準誤差（ウサギ及びサル）、平均値（ヒト）

*高極性ピーク 1：7.0±0.6、高極性ピーク 2：17.8±3.7 の合計値。

投与48時間後までの尿中に認められたそれぞれの代謝物の投与量に対する%を示す。

リファブチンの用量は、ラット、ウサギ及びサルは25 mg/kg、ヒトは270 mg。

ヒト尿中でも高極性ピークの割合が最も高く、次いで未変化体が高かった。ウサギ及びサルでみられなかった25 脱アセチル体は、ヒトではラットと同程度認められた。また、ヒトでは高極性ピークから、32 水酸化体、32 水酸化25 脱アセチル体及び25 脱アセチル N オキシド体が同定された。リファブチンの推定代謝経路を図 4 に示す。

ラットにリファブチン150, 250, 300 及び400 mg/kg を9日又は21日間反復経口投与したとき、肝臓重量の増加及びCYP3Aの顕著な誘導が認められた。一方、CYP1A及びCYP2Aの誘導は軽度であった。

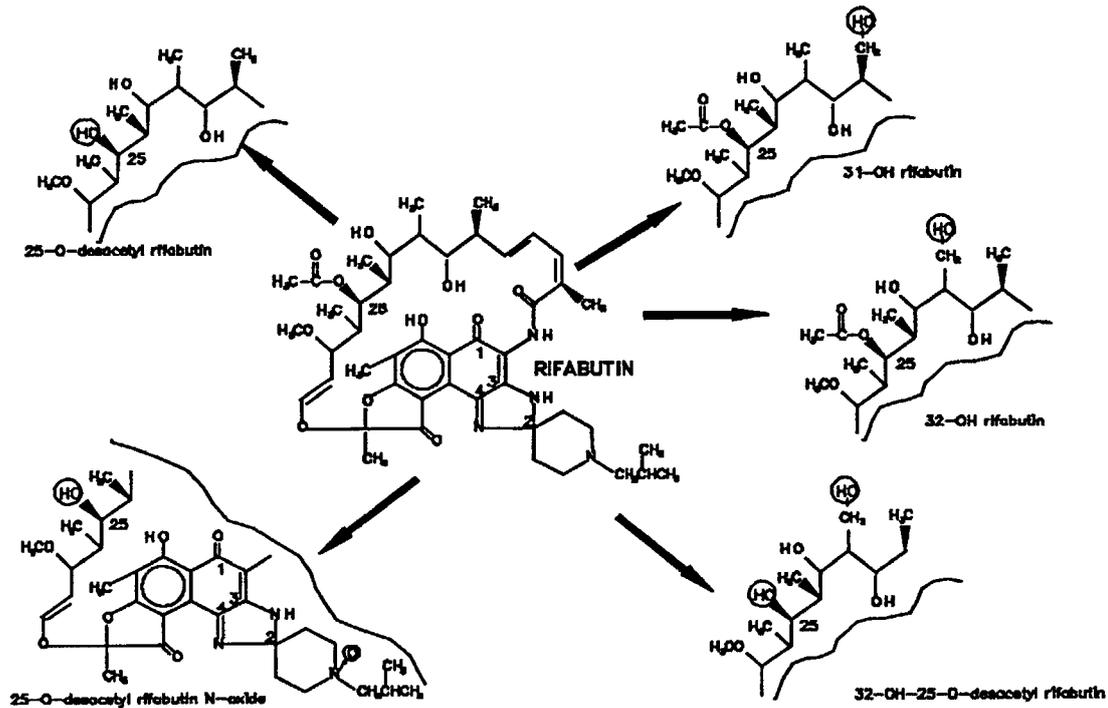


図 4 リファブチンの推定代謝経路

(出典：資料番号 4.2.1-Ref 87, Figure 5 を改変)

2.4.3.4 排泄 (資料番号：4.2.1-Ref 48, 49, 50, 51, 56)

ラット、ウサギ及びびサルに ¹⁴C-リファブチン 25 mg/kg を単回経口投与又は 10 mg/kg を単回静脈内投与したとき、ラットでは投与した放射能の大部分が投与後 96 時間までの尿糞中に回収されたが、ウサギ及びびサルでは放射能の回収率はラットと比較して低かった (表 16)。

いずれの動物種においても、静脈内投与後に糞中に回収された放射能は、経口投与時の値と同程度であったことから、胆汁を介した糞中排泄が示唆された。実際、ラットに ¹⁴C-リファブチン 10 mg/kg を単回静脈内投与した全身オートラジオグラフィーにおいて、消化管に高濃度の放射能が検出された。

雄性ラットにリファブチン 25 mg/kg を単回経口投与したときの尿中排泄率は雌ラットと同程度であり、性差は認められなかった。

表 16 リファブチン経口 (25 mg/kg) 及び静脈内 (10 mg/kg) 投与後の尿中及び糞中排泄

	投与経路	排泄率 (投与量に対する%)		
		尿 (0~96 時間)	糞 (0~96 時間)	回収率
ラット (雌, n=4)	経口	44.5±3.8	43.4±2.8	91.9±1.5
	静脈内	47.8±3.9	40.8±2.4	92.1±2.0
ウサギ (雌, n=3)	経口	36.4±3.2	45.0±3.0	82.4±0.1
	静脈内	27.7±1.2	50.0±1.5	78.2±0.6
サル (雌雄, n=2/性)	経口	46.7±1.4	19.8±3.5	66.5±2.3
	静脈内	46.3±3.9	26.0±3.2	72.4±1.4

平均値±標準偏差 (ラット), 平均値±標準偏差 (ウサギ及びびサル)

2.4.3.5 薬物動態試験のまとめ

リファブチンの薬物動態を種々の動物で検討した結果、経口投与後の消化管からの吸収は迅速かつ良好であった。吸収されたリファブチンは広範囲な組織に分布し、特に、肝臓、肺、腎臓及び脾臓等に高濃度に分布したが、脳内濃度は低かった。リファブチンはすべての動物種において高率に代謝され、主な血漿中及び尿中代謝物は、25 脱アセチル体及び 31 水酸化体であった。代謝には種差が認められ、ラットの代謝プロファイルが最もヒトに近かった。また、リファブチンの高用量投与で肝薬物代謝酵素誘導が認められた。リファブチン及び代謝物は、尿中及び糞中に排泄された。

2.4.4 毒性試験

毒性試験一覧を表 17 に示す。リファブチンの毒性試験は臨床適用経路である経口投与で実施し、薬物は 0.4% Tween 80 を含む 0.5% ヒドロキシプロピルメチルセルロース又は 0.5% メチルセルロース水溶液に懸濁して投与した。ただし、ヒヒ 13 週間試験のみゼラチンカプセルを用いて投与した。

表 17 毒性試験一覧

試験項目	動物種	投与経路/ 期間	投与量 (mg/kg/日)	成績	資料番号		
単回投与毒性	マウス	経口, 単回	2000, 3000, 4000, 5000	<u>LD₅₀ (mg/kg)</u> 雄: 4801 雌: 3322	4.2.1-Ref 1		
	ラット	経口, 単回	5000	<u>概略の致死量 (mg/kg)</u> >5000	4.2.1-Ref 1		
	イヌ	経口, 単回	2000, 4000	>4000	4.2.1-Ref 2		
	サル	経口, 単回	2000, 4000	>4000	4.2.1-Ref 3		
反復投与毒性	ラット	経口, 13 週	25, 50, 100, 200	<u>無毒性量 (mg/kg/日)</u> <25	4.2.1-Ref 6		
	サル	経口, 13 週	10, 20, 40, 80	20	4.2.1-Ref 8		
	ヒヒ	経口, 13 週	10, 20, 40, 80	10	4.2.1-Ref 9		
	マウス	経口, 52 週	8, 32, 128	8	4.2.1-Ref 10		
	ラット	経口, 52 週	10, 28, 80	<10	4.2.1-Ref 11		
	サル	経口, 52 週	8, 24, 72	8	4.2.1-Ref 12		
遺伝毒性 突然変異	<i>S. typhimurium</i>		0.125~2500 µg/plate	陰性	4.2.1-Ref 18		
	<i>S. cerevisiae</i>		1.6~1000 µg/mL	陰性	4.2.1-Ref 21		
染色体異常 小核	<i>S. pombe</i>		1.6~1000 µg/mL	陰性	4.2.1-Ref 19		
	CH ^a 肺細胞		-S9: 15.6~250 µg/mL +S9: 62.5~1000 µg/mL	陰性	4.2.1-Ref 20		
	ヒトリンパ球		12.8~500 µg/mL	陰性	4.2.1-Ref 22		
	マウス骨髄細胞	経口, 単回	2000	陰性	4.2.1-Ref 23		
がん原性	マウス	経口 (混餌)	20, 60, 180/100 ^{b)}	催腫瘍性なし	4.2.1-Ref 24		
	ラット	経口 (混餌)	15, 30, 60	催腫瘍性なし	4.2.1-Ref 25		
生殖発生毒性	授胎能及び生殖能 妊娠前及び妊娠初期投与	雄ラット	経口, 交配前 63 日間	10, 40, 160	<u>無毒性量 (mg/kg)</u> 親動物 一般毒性: 160 生殖能: 40	胎児/出生児 F ₁ : 160/160 F ₂ : 160/160	4.2.1-Ref 13
		雌ラット	経口, 交配前 14 日間~離乳	10, 40, 160	一般毒性: 40 生殖能: 40	F ₁ : 10/40 F ₂ : 160/160	4.2.1-Ref 14
	胎児器官形成期投与	ラット	経口, 妊娠 6 日~15 日	20, 40, 80	40	20	4.2.1-Ref 15
		ウサギ	経口, 妊娠 6 日~18 日	20, 40, 80	40	40	4.2.1-Ref 16
	周産期及び授乳期投与	ラット	経口, 妊娠 16 日~離乳	12.5, 50, 200	50	50	4.2.1-Ref 17

a) チャイニーズハムスター。

b) 初め 180 mg/kg で投与し、雄では投与 561 日目から 100 mg/kg に減量。

2.4.4.1 単回投与毒性試験

2.4.4.1.1 マウス、ラット経口単回投与毒性試験（資料番号：4.2.1-Ref 1）

NMRI マウス各群雌雄各 10 匹にリファブチンを 0 (対照), 2000, 3000, 4000, 5000 mg/kg の用量で単回経口投与した。2000 mg/kg の用量から死亡がみられ、リファブチンの LD₅₀ (95%信頼区間) は、雄で 4801 (3029~7611) mg/kg 及び雌で 3322 (2946~3747) mg/kg であった。死亡は投与 1~6 日にみられ、2000 mg/kg 以上で自発運動の減少、歩行失調、体重増加抑制及びリファブチン又は代謝物の色によると考えられる皮膚の紫色化がみられた。剖検及び病理組織学的検査において薬物投与に関連した変化はみられなかった。

Sprague-Dawley ラット各群雌雄各 10 匹にリファブチンを 0 (対照), 5000 mg/kg の用量で経口単回投与した。5000 mg/kg で死亡はみられなかった。体重増加抑制、自発運動の減少及び皮膚の紫色化がみられたが、剖検及び病理組織学的検査では薬物投与に関連した変化はみられなかった。

以上より、マウスにおけるリファブチン経口投与の LD₅₀ は雄で 4801 mg/kg, 雌で 3322 mg/kg であり、ラットにおける概略の致死量は 5000 mg/kg を超える量と考えられた。

2.4.4.1.2 イヌ経口単回投与毒性試験（資料番号：4.2.1-Ref 2）

ビーグル犬各群雌雄各 1 匹にリファブチンを 2000, 4000 mg/kg の用量で単回経口投与した。

死亡はなく、2000 mg/kg で鎮静がみられたが、4000 mg/kg ではみられなかった。また、2000 mg/kg 以上で、投与日又は投与翌日に摂餌量の低下、リファブチン又はその代謝物の色によると考えられる糞の紫色化がみられた。4000 mg/kg の雌では、嘔吐がみられた。剖検では、薬物投与に関連した変化はみられなかった。

以上より、イヌにおける経口投与での概略の致死量は 4000 mg/kg を超える量と考えられた。

2.4.4.1.3 サル経口単回投与毒性試験（資料番号：4.2.1-Ref 3）

カニクイザル各群雌雄各 1 匹にリファブチンを 2000, 4000 mg/kg の用量で単回経口投与した。

2000 mg/kg 以上で嘔吐、下痢（紫色）、黒色便及び紫色尿がみられ、2000 mg/kg で一過性の体重減少、4000 mg/kg で摂餌量の低下がみられた。死亡及び薬物投与に関連した剖検所見はみられなかった。

以上より、カニクイザルにおける経口投与での概略の致死量は 4000 mg/kg を超える量と考えられた。

2.4.4.2 反復投与毒性試験

2.4.4.2.1 ラット経口 13 週間毒性試験（資料番号：4.2.1-Ref 6）

Sprague-Dawley ラット各群雌雄各 15 匹にリファブチンを 0 (対照), 25, 50, 100, 200 mg/kg/日の用量で 13 週間経口投与した。

薬物投与に関連した死亡はなく、一般状態に変化はなかった。

25 mg/kg 以上で赤血球数、ヘモグロビン量及びヘマトクリット値の減少、尿量の増加及び尿比

重の低下, Na 排泄量の増加, 肝臓及び脾臓重量の増加, 近位尿細管の色素沈着並びに多核肝細胞がみられた。

50 mg/kg 以上で網状赤血球数の増加, ビリルビンの増加, ALT の上昇, 腎臓及び甲状腺重量の増加, 組織の着色 (脂肪組織, 精巣, 卵巣, 子宮) 並びに胃腺胃部粘膜の過形成がみられた。

100 mg/kg 以上で, K 排泄量の増加, 組織の着色 (甲状腺, 胸腺, 副腎), 胸腺重量の減少, 色素沈着マクロファージ (十二指腸, 空腸, 回腸, 盲腸, 肺, 脾臓, 胸腺, 子宮, 卵巣) がみられた。

200 mg/kg で体重増加抑制, 血中尿素の増加, 組織の着色 (肝臓, 肺), 胸腺萎縮, 精巣の精子形成低下及び子宮腺の過形成がみられた。

以上より, 25 mg/kg で赤血球関連への影響, 肝臓及び脾臓重量の増加並びに多核肝細胞などがみられたため, 本試験における無毒性量は得られなかった。

2.4.4.2.2 サル経口 13 週間毒性試験 (資料番号: 4.2.1-Ref 8)

カニクイザル各群雌雄各 3 匹にリファブチンを 0 (対照), 10, 20, 40, 80 mg/kg/日の用量で 13 週間経口投与した。

死亡はなく, 体重, 摂餌量及び一般状態に変化はなかった。

10 mg/kg 以上で白血球数の減少がみられたが投与量に応じた変化ではなかった。また, 肝臓の脂肪浸潤が認められたが, 対照群にもみられた。

40 mg/kg 以上で赤血球数, ヘモグロビン量及びヘマトクリット値の減少がみられた。

80 mg/kg でビリルビンの増加がみられた。

以上より, 40 mg/kg 以上で赤血球関連への影響が認められたことから, 本試験における無毒性量は 20 mg/kg/日と考えられた。

2.4.4.2.3 ヒヒ経口 13 週間毒性試験 (資料番号: 4.2.1-Ref 9)

ヒヒ各群雌雄各 4 匹 (対照は雌雄各 8 匹) にリファブチンを 0 (対照), 10, 20, 40, 80 mg/kg/日の用量で 13 週間経口投与した。各群雌雄各 3 匹を 13 週間投与後に剖検し, 各群雌雄各 1 匹を 4 週間の休薬後に剖検した。また, 同じ用量のリファンピシンを同様に経口投与した。

死亡はなく, 体重, 摂餌量及び心電図に変化はみられなかった。

10 mg/kg 以上で, 嘔吐が用量に応じてみられたが, 10 及び 20 mg/kg では軽度であった (13 週間でそれぞれ 1 及び 2 回, 40 及び 80 mg/kg ではそれぞれ 18 及び 21 回)。また, 軟便, 糞及び尿の着色, 精巣重量の減少がみられた。精巣に病理組織学的変化はみられなかった。

20 mg/kg 以上で肝臓重量の増加がみられた。また, 肝細胞の脂肪変性の程度増加がみられたが, 休薬により回復傾向がみられた。

40 mg/kg 以上でコレステロールの減少, 白血球数の減少がみられた。

リファンピシン投与群においても同様に肝臓の変化が認められ, その変化はリファブチン投与群と比較して重度であり, 完全な回復性がみられなかった。

以上より, 20 mg/kg 以上で肝細胞の脂肪変性の程度増加がみられたことから, 本試験における無毒性量は 10 mg/kg/日と考えられた。

2.4.4.2.4 マウス経口 52 週間毒性試験（資料番号：4.2.1-Ref 10）

CD-1 マウス各群雌雄各 40 匹にリファブチンを 0（対照），8，32，128 mg/kg/日の用量で 52 週間経口投与した。各群雌雄各 10 及び 20 匹をそれぞれ 26 及び 52 週間投与後に剖検し，各群雌雄各 10 匹を 5 週間の休薬後に剖検した。

薬物投与に関連した死亡はなく，一般状態に変化はみられなかった。

8 mg/kg 以上で色素沈着マクロファージ（肺，肝臓及び腸間膜リンパ節）がみられた。色素沈着マクロファージを電子顕微鏡で確認したところ，リソソームの蓄積がみられ，そのリソソーム内に高電子密度の物質が認められ，これらはリファブチン又はその代謝物と考えられる。また，肺における色素沈着マクロファージは限局性リンパ球浸潤の増加を伴っていた。

32 mg/kg 以上で網状赤血球内にハインツ小体がみられ，コレステロールが増加した。

128 mg/kg で，白血球数の増加，ビリルビンの増加，ALT の上昇，凝固腺，精巣上体及び各リンパ節の褐色化，肺，肝臓，脾臓及び副腎重量の増加，精巣重量の減少がみられた。これら所見のうちビリルビン，副腎及び精巣重量の変化は，5 週間の休薬後に回復性が確認され，ハインツ小体は認められたが発現頻度は低下した。

以上より，32 mg/kg で網状赤血球内にハインツ小体がみられたことから，本試験における無毒性量は 8 mg/kg/日と考えられた。

2.4.4.2.5 ラット経口 52 週間毒性試験（資料番号：4.2.1-Ref 11）

Wistar ラット各群雌雄各 33 匹にリファブチンを 0（対照），10，28，80 mg/kg/日の用量で 52 週間経口投与した。各群雌雄各 5 及び 15～20 匹を，それぞれ 26 及び 52 週間投与後に剖検し，各群雌雄各 8～13 匹を 4 週間の休薬後に剖検した。

投与 2 週以降感染性の唾液腺炎がみられたが，薬物投与に関連した死亡及び一般状態の変化はみられなかった。

10 mg/kg 以上で着色尿，赤血球数の減少，網状赤血球数の増加，無機リン及びγグロブリンの増加，尿量及び Na 排泄量の増加，色素沈着マクロファージ（腸間膜リンパ節，胸腺，空腸，副腎），胆管上皮細胞の色素沈着，多核肝細胞がみられた。

28 mg/kg 以上でヘモグロビン量及びヘマトクリット値の減少，ビリルビンの増加，アルブミン及び A/G 比の減少，色素沈着マクロファージ（肝臓，脾臓，肺，眼窩外涙腺，子宮，卵巣），肝細胞の色素沈着，肺に色素沈着マクロファージに伴う炎症，脂肪組織の着色がみられた。

80 mg/kg で体重増加抑制，AST 及び ALT の上昇，βグロブリンの増加，色素沈着マクロファージ（胃，精巣，精巣上体，精嚢腺，前立腺，腎臓，心臓，顎下腺，十二指腸，回腸，下垂体，副甲状腺），細胞質内色素沈着（精細管，尿細管），脾臓腫大，肝臓及び脾臓重量の増加，精巣の小型化，限局性又はびまん性精細管萎縮を伴う精巣重量の減少，肝臓に色素沈着マクロファージに伴う炎症，胃粘膜の肥厚及び過形成，肺の変色がみられた。

これら変化のうち，赤血球系パラメータ，ビリルビン，βグロブリン，無機リン，尿量及び肝臓重量の変化は 4 週間の休薬後に回復性がみられたが，その他の変化は休薬後にも認められた。また，色素沈着細胞の沈着物質は，Schmorl 染色陽性であったことからリポフスチンを含むと考えられる。

以上より、10 mg/kg で多核肝細胞などがみられたことから、本試験における無毒性量は得られなかった。

2.4.4.2.6 サル経口 52 週間毒性試験（資料番号：4.2.1-Ref 12）

カニクイザル各群雌雄各 7 匹にリファブチンを 0（対照）、8、24、72 mg/kg/日の用量で 52 週間経口投与した。各群雌雄各 1 及び 4 匹を、それぞれ 26 及び 52 週間投与後に剖検し、各群雌雄各 2 匹を 6 週間の休薬後に剖検した。

薬物投与に関連した死亡はなく、体重及び摂餌量に変化はなかった。

8 mg/kg 以上で色素沈着マクロファージ（肺、副腎）、細網内皮系及び肝細胞の色素沈着がみられた。

24 mg/kg 以上で流涎、嘔吐、皮膚の黄色化、トリグリセリドの増加、色素沈着マクロファージ（肝臓、下垂体、脈絡叢）がみられた。

72 mg/kg で赤褐色便、ビリルビンの増加、肝臓重量の増加、小葉中心性及び小葉中間帯に肝細胞の脂肪化がみられた。

色素沈着細胞の沈着物質は、Schmorl 染色陽性であったことからリポフスチンを含むと考えられる。

以上より、24 mg/kg で嘔吐などがみられたことから、本試験における無毒性量は 8 mg/kg/日と考えられた。

2.4.4.3 遺伝毒性試験（資料番号：4.2.1-Ref 18, 19, 20, 21, 22, 23）

In vitro 試験として、*Salmonella typhimurium* を用いた復帰突然変異試験（0.125～2500 µg/plate）、*Saccharomyces cerevisiae* 及び *Schizosaccharomyces pombe* を用いた突然変異試験（1.6～1000 µg/mL）、チャイニーズハムスター肺細胞（V79）を用いた突然変異試験（-S9：15.6～250 µg/mL、+S9：62.5～1000 µg/mL）並びにヒトリンパ球を用いた染色体異常試験（12.8～500 µg/mL）を実施した。また、NMRI マウスにリファブチンを 2000 mg/kg の用量で単回経口投与し、小核試験を実施した。いずれの試験においても結果は陰性で、リファブチンの遺伝毒性は認められなかった。

2.4.4.4 がん原性試験

2.4.4.4.1 マウスがん原性試験（資料番号：4.2.1-Ref 24, 53）

CD-1 マウス各群雌雄各 50 匹にリファブチンを 0（対照）、20、60、180/100 mg/kg/日の用量で 2 年間混餌投与した。対照群は 2 群設けた。また、各群雌雄各 6 匹を別途に設け、投与 6 ヶ月後に血液学的検査及び血液生化学的検査を実施した。

本試験の高用量は、マウス混餌 13 週間用量設定試験（資料番号：4.2.1-Ref 5、投与量：50、100、200 mg/kg/日）における 200 mg/kg でビリルビンの増加、ALT 及び AST の上昇がみられたことから、180 mg/kg を選択した。

血漿中薬物濃度（雄/雌）は、20 mg/kg で 0.29/0.34 µg/mL、60 mg/kg で 1.19/1.34 µg/mL、

180/100 mg/kg で 1.77/2.62 µg/mL であり^{注1)}、投与量に応じて上昇した。

高用量群 (180 mg/kg) では、雄で一般状態の悪化がみられ、死亡率が高くなったため、投与 561 日目から投与量を 100 mg/kg に減量した。死因の多くは、心筋の空胞化及び線維化と考えられる。高用量群では雄で死亡率が 76% に達したため、投与を 21 ヶ月間で中止し剖検した。対照群、20 及び 60 mg/kg の死亡率は約 50% であり、20 及び 60 mg/kg で体重、摂餌量及び一般状態に変化はなかった。

腫瘍の発生頻度は、対照群と投与群で差がなかった。

20 mg/kg 以上でトリグリセリドの減少、組織の色素沈着がみられた。

180/100 mg/kg で、体重及び摂餌量の減少、一般状態の悪化、皮膚の赤褐色化、赤色尿、ALT 及び AST の上昇、総蛋白及びビリルビンの増加、肝臓の腫大、肝臓に色素沈着に伴う慢性炎症、小葉中心性肝細胞肥大、尿細管上皮細胞及び肝細胞の空胞化、心筋の空胞化及び線維化、脂肪浸潤 (脾臓、下垂体、副甲状腺)、精細管の萎縮がみられた。

以上より、リファブチンはマウスに対してがん原性を示さなかった。

2.4.4.4.2 ラットがん原性試験 (資料番号: 4.2.1-Ref 25, 55)

Sprague-Dawley ラット各群雌雄各 50 匹にリファブチンを 0 (対照)、15, 30, 60 mg/kg/日の用量で 2 年間混餌投与した。対照群は 2 群設けた。

本試験の高用量は、ラット混餌 13 週間用量設定試験 (資料番号: 4.2.1-Ref 7, 投与量: 50, 100, 200 mg/kg/日) において 100 mg/kg で ALT の上昇、ビリルビンの増加及び多核肝細胞が確認されたことから、60 mg/kg を選択した。

血漿中薬物濃度 (雄/雌) は、15 mg/kg で 1.55/1.59 µg/mL, 30 mg/kg で 4.50/3.43 µg/mL, 60 mg/kg で 9.22/7.08 µg/mL であり^{注2)}、投与量に応じて上昇した。

死亡率は、すべての投与群 (32~58%) で対照群 (48~56%) と同程度であり、腫瘍の発生頻度は対照群と投与群で差がなかった。

15 mg/kg 以上で、体重増加抑制、皮膚、被毛及び尿の赤褐色化、組織の色素沈着、肝臓の変色、胃粘膜の線維化及び過形成、肝臓に色素沈着に伴う慢性炎症、多核肝細胞がみられた。

30 mg/kg 以上で、腸間膜リンパ節のリンパ球減少、小葉中心性肝細胞肥大、筋線維の空胞化 (骨格筋)、脾臓の髓外造血がみられた。

60 mg/kg で、一般状態の悪化、摂餌量の減少、赤血球数、ヘモグロビン量及びヘマトクリット値の減少、肺に色素沈着に伴う炎症性反応、筋線維の空胞化 (舌、心臓)、精細管の萎縮がみられた。

以上より、リファブチンはラットに対してがん原性を示さなかった。

注1) 20 及び 60 mg/kg 群は、24 ヶ月間投与後の平均血漿中濃度 (n=5)。180/100 mg/kg 群は、21 ヶ月間投与後の平均血漿中濃度 (n=5)。

注2) 24 ヶ月間投与後の平均血漿中濃度 (n=5)。

2.4.4.5 生殖発生毒性試験

2.4.4.5.1 雄ラットを用いた授胎能及び生殖能試験 (Segment I) (資料番号: 4.2.1-Ref 13)

Sprague-Dawley ラット各群雄 30 匹にリファブチンを 0 (対照), 10, 40, 160 mg/kg/日の用量で 63 日間経口投与し, 無処置の雌と交配させた。雌親動物の半数を妊娠 20 日に帝王切開し, 卵巣, 子宮及び胎児について調べた。残り半数の動物は自然分娩させ, 出生児 (F₁) の成長, 発達及び生殖能を観察し, さらにその出生児 (F₂) の成長及び発達を観察した。

雄親動物に薬物投与に関連した死亡はなく, 一般状態, 体重及び摂餌量に変化はみられなかった。10 及び 40 mg/kg では, 生殖器及び生殖能に変化はみられなかった。160 mg/kg の親動物で精巣重量の軽微減少, 精巣の軽微から高度萎縮, 精子形成の低下, 精子運動能の減少, 精子の未成熟/形成異常, 精細管に巨細胞, 未成熟細胞及び多核細胞がみられた。160 mg/kg の自然分娩では, 着床数及び出生児数の減少がみられた。F₁ 及び F₂ 動物に変化はなかった。

以上より, 本試験における無毒性量は, F₀ 雄親動物の一般毒性及び生殖能に対してそれぞれ 160 及び 40 mg/kg/日, F₁ 胎児及び出生児では 160 mg/kg/日, F₂ 胎児及び出生児では 160 mg/kg/日と考えられた。

2.4.4.5.2 雌ラットを用いた妊娠前及び妊娠初期投与試験 (Segment I) (資料番号: 4.2.1-Ref 14)

Sprague-Dawley ラット各群雌 30 匹にリファブチンを 0 (対照), 10, 40, 160 mg/kg/日の用量で, 交配前 14 日から離乳まで経口投与した。雌親動物の半数を, 妊娠 20 日に帝王切開し, 卵巣, 子宮及び胎児について調べた。残り半数の動物は, 自然分娩させ, 出生児 (F₁) の成長, 発達及び生殖能を観察し, さらにその出生児 (F₂) の成長及び発達を観察した。

雌親動物に薬物投与に関連した死亡はなく, 一般状態に変化はみられなかった。160 mg/kg で一過性の体重及び摂餌量の減少がみられた。また, 生殖能に関連した変化として 160 mg/kg では着床数の減少, 吸収胚数の増加及び胎盤重量の増加がみられた。10 及び 40 mg/kg では母体への影響はなかった。

F₁ 胎児では 40 mg/kg 以上で過剰肋骨の発生頻度増加, 160 mg/kg で胎児数の減少, 腎盂拡張, 尿管の拡張及び蛇行がみられた。F₁ 出生児では, 160 mg/kg で出生児数が減少した。F₂ 動物に変化はなかった。

以上より, 本試験における無毒性量は, F₀ 雌親動物の一般毒性及び生殖能に対して 40 mg/kg/日, F₁ 胎児及び出生児ではそれぞれ 10 及び 40 mg/kg/日, F₂ 胎児及び出生児では 160 mg/kg/日と考えられた。

2.4.4.5.3 ラット胎児器官形成期投与試験 (Segment II) (資料番号: 4.2.1-Ref 15)

Sprague-Dawley 妊娠ラット各群 24~26 匹にリファブチンを 0 (対照), 20, 40, 80 mg/kg/日の用量で, 妊娠 6 日から妊娠 15 日まで経口投与した。

薬物投与に関連した死亡はなく, 40 mg/kg まで母体に対する影響はみられなかったが, 80 mg/kg で体重増加抑制及び摂餌量の減少がみられた。また, 40 mg/kg 以上で過剰肋骨の頻度増加がみられたが, 催奇形性はなかった。

以上より、本試験における無毒性量は、母体の一般毒性及び生殖能に対してそれぞれ 40 及び 80 mg/kg/日、胎児では 20 mg/kg/日と考えられた。

2.4.4.5.4 ウサギ胎児器官形成期投与試験 (Segment II) (資料番号：4.2.1-Ref 16)

New Zealand White 妊娠ウサギ各群 13~20 匹にリファブチンを 0 (対照), 20, 40, 80 mg/kg/日の用量で、妊娠 6 日から妊娠 18 日まで経口投与した。

薬物投与に関連した死亡はなく、40 mg/kg まで母体及び胎児に対する影響はみられなかった。80 mg/kg で母体の体重減少、流産 (2 例)、吸収胚数の増加、着床後胚死亡率の増加がみられ、胎児への影響として胎児重量の減少、骨化遅延がみられた。

一方、リファンピシン (投与量：20, 40, 80 mg/kg/日) を同様に投与したところ、80 mg/kg で母体の体重減少、吸収胚数の増加及び胎児の重量減少、40 mg/kg 以上で胎児の骨化遅延がみられた。

催奇形性はリファブチン及びリファンピシンのいずれにも認められなかった。

以上より、本試験におけるリファブチンの無毒性量は、母体の一般毒性及び生殖能並びに胎児ともに 40 mg/kg/日と考えられた。

2.4.4.5.5 ラット周産期及び授乳期投与試験 (Segment III) (資料番号：4.2.1-Ref 17)

Sprague-Dawley 妊娠ラット各群 24 匹にリファブチンを 0 (対照), 12.5, 50, 200 mg/kg/日の用量で、妊娠 16 日から離乳まで経口投与した。生後 21 日に F₁ 出生児を離乳させ、F₀ 雌は剖検した。出生児 (F₁) は、成長、発達及び生殖能を調べた。

50 mg/kg まで変化はなかった。200 mg/kg では、F₀ 母体の体重増加抑制及び摂餌量の減少がみられ、F₁ 出生児で出生児数の減少、体重の減少、生存率の低下、眼瞼開裂の遅延及び協調運動 (回転棒法) の低下がみられた。F₁ 動物の生殖能に影響はみられなかった。

以上より、本試験における無毒性量は、F₀ 母体及び F₁ 出生児ともに 50 mg/kg/日と考えられた。

2.4.4.6 その他の毒性試験

多核肝細胞は、ラットの反復投与毒性試験でのみ認められているため、ラットで追加試験を実施し、系統差、発現時期、回復性及び性差について検討した。これら試験以外に、免疫系に及ぼす影響及び骨髄毒性を検討した。

2.4.4.6.1 ラット経口 13 週間隔日投与毒性試験 (資料番号：4.2.1-Ref 59, 60)

Sprague-Dawley ラット各群雌雄各 15 匹にリファブチンを 0 (対照), 25, 50, 100 mg/kg/日の用量で 13 週間隔日経口投与した。

薬物投与に関連した死亡はなく、体重及び一般状態に変化はなかった。25 mg/kg 以上でビリルビンの増加及び腎臓で免疫複合体の増加、50 mg/kg 以上で赤血球数の減少、総蛋白及び血中尿素の増加、脾臓及び肝臓重量の増加、近位尿細管に色素沈着並びに脾臓に色素沈着マクロファージがみられ、100 mg/kg で ALT の上昇がみられた。

多核肝細胞は、50 mg/kg の雄及び 100 mg/kg の雌雄でみられた。この多核肝細胞を電子顕微鏡で観察した結果、核は単核細胞の核と形態が同様であり、腫瘍性変化は示唆されなかった。また、ゴルジ体近くの滑面小胞体内に高電子密度の物質がみられたが、単核細胞と比較して細胞構造に差はなかった。

2.4.4.6.2 Wistar ラット経口 13 週間毒性試験（資料番号：4.2.1-Ref 61）

Sprague-Dawley ラットで認められた多核肝細胞が他の系統のラットでも認められるか否かを、Wistar ラットを用いて検討した。Wistar ラット各群雌雄各 30 匹にリファブチンを 0（対照）、25、50、100 mg/kg/日の用量で 13 週間経口投与した。1、2、8 及び 12 ヶ月休薬による回復性も確認した。

薬物投与に関連した死亡はなく、一般状態に変化はみられなかった。

多核肝細胞は全投与群の雄で投与 7 週目から認められ、8 ヶ月間の休薬期間後にもみられたが、12 ヶ月間の休薬後にはみられなかった。雌では投与期間終了時にはみられなかったが、8 及び 12 ヶ月間の休薬期間後に対照群を含む全群で認められた。

これらの結果から、リファブチンは Sprague-Dawley ラットと同様に Wistar ラットにおいても多核肝細胞を誘発し、この変化は雌と比較して雄で主に認められた。なお、これら多核肝細胞は 12 ヶ月間の休薬後においても観察されたが、増殖傾向はみられなかった。

2.4.4.6.3 雄性ラットにおける肝臓への影響に関する試験（資料番号：4.2.1-Ref 62）

ラットで認められた多核肝細胞の発現時期及び回復性について、Sprague-Dawley ラットを用いて検討した。雄ラット 60 匹にリファブチンを 100 mg/kg/日の用量で 13 週間経口投与した。投与 5、7、9、11 及び 13 週に各 6 匹を屠殺し、2、4、8、15 及び 25 週間休薬後にそれぞれ 10、10、5、1 及び 4 匹を屠殺した。

多核肝細胞は、投与 5 週から散発的にみられ、投与 7 週で 5/6 例、9 週で全例にみられたが、25 週間の休薬後に明らかな回復傾向が認められた。

2.4.4.6.4 免疫系に及ぼす影響

2.4.4.6.4.1 体液性免疫に及ぼす影響（資料番号：4.2.1-Ref 47）

リファブチンの体液性免疫に対する影響を CD-1 マウスにおけるヒツジ赤血球（抗原）に対する抗体産生能を指標に検討した。

雌マウスにリファブチンを 33、100、300 mg/kg の用量で腹腔内投与（抗原投与日から 4 日間）及び 5、10、20 mg/kg の用量で経口投与（抗原投与 35 日前から 4 日後まで週 5 回）したところ、ヒツジ赤血球に対する抗体産生能に影響がみられなかった。同様に、リファンピシン投与においても抗体産生能に影響はみられなかった。

2.4.4.6.4.2 細胞免疫に及ぼす影響

(1) ヒツジ赤血球に対する遅延型過敏反応（資料番号：4.2.1-Ref 47）

リファブチンの細胞性免疫に対する影響を BDF1 マウスのヒツジ赤血球（抗原）誘発遅延型過敏反応を指標に検討した。

雌マウスにリファブチンを 150 mg/kg の用量で腹腔内投与及び 50 mg/kg の用量で経口投与した。リファブチンは抗原の前感作 3 日前から前感作 6 日後まで週 5 回投与し、2 度目の感作は前感作 5 日後に行った。

リファブチンは、150 mg/kg の腹腔内投与で遅延型過敏反応を抑制（55%）したが、50 mg/kg の経口投与では影響がみられなかった。

同様に、リファンピシンでは 150 mg/kg の腹腔内投与で 73%の抑制がみられ、50 mg/kg の経口投与で影響がみられなかった。

(2) ツベルクリン反応（資料番号：4.2.1-Ref 47）

リファブチンの細胞性免疫に対する影響を CD-1 マウス及びモルモットにおけるツベルクリン反応を指標に検討した。

雄マウス及び雌モルモットにリファブチンをそれぞれ 10 mg/kg（前感作 3 日後から 38 日後まで週 5 回）及び 10, 25 mg/kg（前感作 1 日後から 21 日後まで週 5 回）の用量で経口投与した。マウス及びモルモットへのツベルクリン接種は、前感作のそれぞれ 56 日及び 21 日後に行った。

リファブチンは、10 mg/kg でマウスのツベルクリン反応を抑制（81%）したが、モルモットでは 25 mg/kg まで影響がみられなかった。

一方、リファンピシンの投与では、マウスにおいて 10 mg/kg でツベルクリン反応が 72%抑制され、モルモットでは 25 mg/kg で 68%抑制がみられた。

2.4.4.6.5 *In vitro* 骨髄毒性試験（資料番号：4.2.1-Ref 63）

ヒト造血前駆細胞を用いてジドブジンの骨髄毒性に対するリファブチンの影響を *in vitro* で検討した。リファブチン及びジドブジンの濃度は、それぞれ 0.01~5 µmol/L 及び 0.1~50 µmol/L とした。

リファブチン 0.5 µmol/L は、ヒト造血前駆細胞のコロニー形成を 45~58%抑制し、ジドブジン 5 µmol/L は、59~80%抑制した。リファブチン 0.5 µmol/L とジドブジン 5 µmol/L の併用では、コロニー形成を 44~76%抑制した。

以上より、リファブチンは、ヒト造血前駆細胞におけるジドブジンの骨髄抑制に対して影響を及ぼさないと考えられる。

2.4.4.6.6 不純物の毒性（資料番号：4.2.2）

リファブチン原薬に関しては、規格設定不純物として不純物 A (■%以下), B (■%以下), C (■%以下), D (■%以下), E (■%以下), F (■%以下), 不純物 G* (■%以下) 及びその他の未知類縁物質 (■%以下) が、製剤に関しては不純物 A (■%以下), B (■%以下), C (■%以下),

D (■%以下), E (■%以下), F (■%以下) 及びその他の未知類縁物質 (■%以下) が規格設定されており, これらの規格値はガイドライン^{注1)}における「安全性確認の必要な閾値」である0.15% (原薬) 及び0.2% (製剤) を超えている。

リファブチンの毒性試験で使用したロットにおける総不純物の含量は, ラット単回投与毒性試験 (リファブチン投与量: 5000 mg/kg) で ■%, イヌ単回投与毒性試験 (投与量: 4000 mg/kg) で ■%, ラット 13 週間毒性試験 (投与量: 100 mg/kg) で ■% 及びラットがん原性試験 (投与量: 60 mg/kg) で ■% であり, 各試験における総不純物の 1 日用量は臨床推定最大摂取量 (■ mg/kg^{注2)}) のそれぞれ 162 倍, 52 倍, 2.2 倍及び 2.0 倍であった。遺伝毒性に関しては, 細菌を用いた復帰突然変異試験 (総不純物の含量 ■%) において ■ µg/plate (原薬として 2500 µg/plate) まで, *in vitro* 遺伝子突然変異試験 (総不純物の含量 ■%) において ■ µg/mL (原薬として 1000 µg/mL) まで, マウス小核試験 (総不純物の含量 ■%) において ■ mg/kg (臨床推定最大摂取量の 85 倍) まで評価し, いずれも陰性であった。また, 不純物 A はリファブチンのイヌ単回投与毒性試験 (投与量: 4000 mg/kg) 及びラット 52 週間毒性試験 (投与量: 80 mg/kg) において, 1 日用量が臨床推定最大摂取量のそれぞれ 44 倍及び 0.8 倍まで毒性が評価された。不純物 G* は, リファブチンのマウス小核試験において 1 日用量が臨床推定最大摂取量の 500 倍で評価し, 結果は陰性だった。

さらに, 構造決定がされていない不純物 E 及びその他未知類縁物質を除き, 不純物 A, B, D 及び F 並びに不純物 G* について DEREK^{注3)} を用いて毒性アラートを検索した結果, リファブチンで検出された毒性アラート (変異原性, 染色体異常及び皮膚感作性) 以外にはほとんど検出されなかった。また, 不純物 C は, リファブチンの代謝物^{注4)} であるため, 安全性評価の対象としなかった。

以上より, リファブチンの不純物に関しては, 個々の不純物で十分に安全性評価されていないが, 総不純物量として臨床推定最大摂取量を上回る量 (2~162 倍) で毒性が確認されていると考えられる。

*; 新薬承認情報提供時に置き換えた

2.4.4.7 毒性試験のまとめ

マウスにおけるリファブチン経口投与の LD₅₀ は, 雄で 4801 mg/kg, 雌で 3322 mg/kg であり, ラット, イヌ及びサルにおける経口投与での概略の致死量は, ラットで 5000 mg/kg を超える量, イヌで 4000 mg/kg を超える量及びサルで 4000 mg/kg を超える量と考えられた。ラット, サル及びヒヒを用いた経口反復投与毒性試験でみられた主な所見は, マクロファージ及び実質細胞の色素沈着, 赤血球系パラメータの変化, 精巣への影響及びラットのみでみられた多核肝細胞であった。

注1) 平成 14 年 12 月 16 日医薬審発第 1216001 号「新有効成分含有医薬品のうち原薬の不純物に関するガイドラインの改定について」及び平成 15 年 6 月 24 日医薬審発第 0624001 号「新有効成分含有医薬品のうち製剤の不純物に関するガイドラインの改定について」

注2) リファブチンの臨床用量 600 mg/日 (体重 50 kg のヒトで 12 mg/kg) における総不純物量 (規格値 ■%以下) の推定最大摂取量は ■ mg/kg である。

注3) Deductive Estimation of Risk from Existing Knowledge: 化合物の構造から毒性を予測するエキスパートシステム。

注4) この代謝物はリファブチンをラット (25 mg/kg) 及びヒト (270 mg) に経口投与したとき尿中に認められ, 投与量に対する割合は, ラット及びヒトでそれぞれ ■% 及び ■% であった。

色素沈着：各種動物を用いた反復投与毒性試験において、用量に応じた色素沈着がほとんどの器官及び組織で観察された。この色素沈着は、電子顕微鏡検査でリソソームの蓄積及びそのリソソーム内に高電子密度の物質が確認され、Schmorl 染色陽性であったことから、この色素沈着にはリファブチン、その代謝物又はリポフスチンが関与していると考えられる。

赤血球系パラメータの変化：赤血球系パラメータの変化は主にラットの反復投与毒性試験において認められ、赤血球数、ヘモグロビン量及びヘマトクリット値の減少並びに網状赤血球数の増加がみられた。また、マウス 52 週間毒性試験では、網状赤血球内にハインツ小体がみられた。これらのことから、リファブチン投与により溶血性貧血が誘発されると考えられるが、造血反応を伴っており休薬による回復性も確認されている。

精巣への影響：ラット及びマウスの反復投与毒性試験並びにがん原性試験において精巣重量の減少、精巣の小型化、精巣の精子形成低下又は精細管の萎縮がみられ、雄ラットの生殖発生毒性試験において生殖能への影響がみられたが、ラット及びウサギで催奇形性はなかった。また、ヒト 13 週間毒性試験の 10 mg/kg 以上で精巣重量の減少がみられたが、病理組織学的変化はなかった。げっ歯類での精巣への影響に関する無毒性量は、28 mg/kg と考えられる^{注1)}。ラット経口 13 週間毒性試験での血漿中リファブチン濃度のトラフ値から^{注2)}、28 mg/kg における血漿中リファブチン濃度のトラフ値は 1.51 µg/mL と外挿され、ヒトにおける有効血漿中濃度でのトラフ値 0.05～0.065 µg/mL^{注3)} の約 23 倍となる。同様に、ラットに 25 mg/kg のリファブチンを単回経口投与した際の C_{max} 及び AUC^{注4)} を基に、28 mg/kg における C_{max} 及び AUC を算出すると、それぞれ 2.5 µg/mL 及び 36.5 µg·h/mL となり、臨床での 1 日最高投与量である 600 mg を単回経口投与した時の C_{max} 及び AUC^{注5)} のそれぞれ 3.6 及び 4.2 倍となる。

以上の安全域に関する考察及び欧米における使用実績を考慮すると、リファブチンがヒトの精巣において影響を及ぼす可能性は極めて低いと考えられる。

多核肝細胞：ラットの反復投与毒性試験で多核肝細胞が認められたが、マウス、サル及びヒトでは認められず、ラット特有の変化と考えられる。

ラットでみられた多核肝細胞は細胞あたり約 20 の核がみられ、52 週間投与では 10 mg/kg から用量に応じて認められ、雌に比べて雄でより顕著で早期にみられた。多核肝細胞の発現は 13 週間毒性試験の 100 mg/kg で投与 5 週以降に検出され、25 週間の休薬後には回復傾向が確認された。電子顕微鏡検査の結果、多核肝細胞の核は単核細胞の核と形態が同様であり、腫瘍性変化は示唆されなかった。さらに、ラットがん原性試験においても多核肝細胞は認められたが、肝臓の腫瘍発生頻度の増加は認められなかった。

以上のことから、ラットの多核肝細胞に関しては、毒性学的意義及びヒトへの外挿性は低いと考えられる。

心筋の空胞化・線維化：マウスがん原性試験で心筋の空胞化及び線維化が確認され、この所見

注1) 2.4.4.2.5 の項参照。

注2) 資料番号 4.2.1-Ref 54 の p8109 参照。

注3) Facts & Comparisons 4.0, online, Jan 2008 (<http://online.factsandcomparisons.com/index.aspx>).

注4) 2.4.3.1 の項参照。

注5) 2.5.3.1.1 の項参照。

に関する雄の無作用量 (20 mg/kg) でのリファブチンの平均血漿中濃度 0.29 µg/mL^{注1)} とヒトにおける有効血漿中濃度 0.065 µg/mL^{注2)} との比は 4.5 であった。ラットがん原性試験での心筋の空胞化及び線維化は雌雄ともに対照群と投与群の両方において見られたが、その発生頻度は 60 mg/kg 群においてのみ上昇しており^{注3)}、この時のリファブチンの平均血漿中濃度 (8.1 µg/mL) は、ヒトにおける有効血漿中濃度の約 125 倍であった^{注2), 注4)}。一方、ラット、サル及びヒビの経口 13 週間毒性試験並びにマウス、ラット及びサルの経口 52 週間毒性試験においては、色素沈着以外の心筋への作用は認められなかった。以上のことから、げっ歯類に 12 ヶ月を超える期間、ヒトにおける有効血漿中濃度を大きく上回る条件でリファブチンを投与した場合においてのみ、心筋の空胞化や線維化が引き起こされるものと考えられた。

遺伝毒性試験では、復帰突然変異試験、遺伝子突然変異試験、染色体異常試験及び小核試験のいずれにおいても陰性であり、マウス及びラットがん原性試験では、がん原性を示唆する所見は認められなかった。生殖発生毒性試験では、ラット及びウサギで催奇形性は認められなかった。また、免疫系への影響としてマウスで細胞性免疫機能の抑制がみられたが、その作用はリファンピシンと比較して弱かった。

2.4.5 参考文献一覧

- 1) Ungheri D, Della Bruna C, Jabes D, Morvillo E, Sanfilippo A. LM427: further studies on the antimycobacterial activity. [abstr]13th international congress of chemotherapy. Vienna, Aug 28-Sep 2, 1983.
- 2) Ramaswamy S, Musser JM. Molecular genetic basis of antimicrobial agent resistance in *Mycobacterium tuberculosis*: 1998 update. *Tuberc Lung Dis.* 1998; 79: 3-29.
- 3) Tsukamura M, Mizuno S, Toyama H, et al. Comparison of *in vitro* antimycobacterial activities of ansamycin and rifampicin. *Kekkaku.* 1986; 61: 497-503.
- 4) Heifets LB, Iseman MD. Determination of *in vitro* susceptibility of mycobacteria to ansamycin. *Am Rev Respir Dis.* 1985; 132: 710-711.
- 5) Chien H-P, Yu M-C, Ong T-F, et al. *In vitro* activity of rifabutin and rifampin against clinical isolates of *Mycobacterium tuberculosis* in Taiwan. *J Formos Med Assoc.* 2000; 99: 408-411.
- 6) Uzun M, Erturan Z, Anđ Ö. Investigation of cross-resistance between rifampin and rifabutin in *Mycobacterium tuberculosis* complex strains. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2002; 6: 164-165.
- 7) Senol G, Erbaycu A, Özsöz A. Incidence of cross resistance between rifampicin and rifabutin in *Mycobacterium tuberculosis* strains in Izmir, Turkey. *J Chemother.* 2005; 17: 380-384.

注1) 2.4.4.4.1 の項参照。

注2) Facts & Comparisons 4.0, online, Jan 2008 (<http://online.factsandcomparisons.com/index.aspx>).

注3) 資料番号 4.2.1-Ref 25, Table 8.1 及び 8.4 を参照。

注4) 資料番号 4.2.1-Ref 25, attachment 1 の Table 2 における 24 ヶ月間投与後の雌雄の平均血漿中濃度 (雌雄共に n=5) の平均値。

- 8) Williams DL, Spring L, Collins L, et al. Contribution of *rpoB* mutations to development of rifamycin cross-resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. *Antimicrob Agents Chemother*. 1998; 42: 1853-1857.
- 9) Yuen LKW, Leslie D, Coloe PJ. Bacteriological and molecular analysis of rifampin-resistant *Mycobacterium tuberculosis* strains isolated in Australia. *J Clin Microbiol*. 1999; 37: 3844-3850.
- 10) Sintchenko V, Chew WK, Jelfs PJ, et al. Mutations in *rpoB* gene and rifabutin susceptibility of multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* strains isolated in Australia. *Pathology*. 1999; 31: 257-260.
- 11) Cavusoglu C, Karaca-Derici Y, Bilgic A. In-vitro activity of rifabutin against rifampicin-resistant *Mycobacterium tuberculosis* isolates with known *rpoB* mutations. *Clin Microbiol Infect*. 2004; 10: 662-665.
- 12) Saito H, Sato K, Tomioka H. *In vitro* activities of rifabutine and rifampicin against various mycobacteria, especially *Mycobacterium tuberculosis* and *Mycobacterium avium* complex. *Kekkaku*. 1988; 63: 167-172.
- 13) The Sanford Guide to Antimicrobial Therapy (2007) 37th edition, Table 12A(4) [*Mycobacterium tuberculosis*] p.113.
- 14) NDA 50-689 Rifabutin 2.03/025.
- 15) American Society for Microbiology. Instructions to authors. *Antimicrob Agents Chemother* 2000;44:i-xvii.