

サムチレール内用懸濁液15%

製造販売承認申請書添付資料

第2部（モジュール2） CTDの概要（サマリー）

2.6. 非臨床試験の概要文および概要表

- 2.6.1. 緒言
- 2.6.2. 薬理試験の概要文
- 2.6.3. 薬理試験概要表

グラクソ・スミスクライン株式会社

非臨床概要 薬理試験の目次

	項目 – 頁
2.6.1. 緒言	2.6.1 - p. 1
2.6.2. 薬理試験の概要文	2.6.2 - p. 1
2.6.2.1. まとめ	2.6.2 - p. 1
2.6.2.2. 効力を裏付ける試験	2.6.2 - p. 2
2.6.2.2.1. In vitroにおける抗 <i>P. carinii</i> 活性	2.6.2 - p. 2
2.6.2.2.2. In vivoにおける抗 <i>P. carinii</i> 活性	2.6.2 - p. 2
2.6.2.2.3. 作用機序	2.6.2 - p. 3
2.6.2.2.4. 耐性	2.6.2 - p. 4
2.6.2.3. 副次的薬理試験	2.6.2 - p. 4
2.6.2.3.1. In vitroにおける抗 <i>T. gondii</i> 活性	2.6.2 - p. 4
2.6.2.3.2. In vivoにおける抗 <i>T. gondii</i> 活性	2.6.2 - p. 4
2.6.2.4. 安全性薬理試験	2.6.2 - p. 6
2.6.2.4.1. 中枢神経系に及ぼす影響	2.6.2 - p. 6
2.6.2.4.1.1. 一般症状および行動に及ぼす影響	2.6.2 - p. 6
2.6.2.4.1.1.1. マウス	2.6.2 - p. 6
2.6.2.4.1.1.2. ラット	2.6.2 - p. 6
2.6.2.4.1.1.3. イヌ	2.6.2 - p. 6
2.6.2.4.1.2. 睡眠時間に及ぼす影響	2.6.2 - p. 6
2.6.2.4.1.2.1. マウス	2.6.2 - p. 6
2.6.2.4.1.2.2. ラット	2.6.2 - p. 6
2.6.2.4.2. 心血管系に及ぼす影響	2.6.2 - p. 7
2.6.2.4.2.1. ラット	2.6.2 - p. 7
2.6.2.4.2.2. ネコ	2.6.2 - p. 7
2.6.2.4.2.3. イヌ	2.6.2 - p. 7
2.6.2.4.3. 呼吸系に及ぼす影響	2.6.2 - p. 7
2.6.2.4.3.1. ネコ	2.6.2 - p. 7
2.6.2.4.3.2. イヌ	2.6.2 - p. 7
2.6.2.4.4. 自律神経系に及ぼす影響	2.6.2 - p. 8
2.6.2.4.4.1. ネコ	2.6.2 - p. 8
2.6.2.4.4.2. イヌ	2.6.2 - p. 8
2.6.2.4.5. 消化器系に及ぼす影響	2.6.2 - p. 8
2.6.2.4.5.1. マウス	2.6.2 - p. 8
2.6.2.4.5.2. ラット	2.6.2 - p. 8
2.6.2.5. 薬力学的薬物相互作用試験	2.6.2 - p. 8

2.6.2.6. 考察および結論	2.6.2 - p. 9
2.6.2.7. 図表	2.6.2 - p. 10
2.6.2.8. 参考文献	2.6.2 - p. 10
2.6.3. 薬理試験概要表	2.6.3 - p. 1
2.6.3.1. 薬理試験：一覧表	2.6.3 - p. 1
2.6.3.2. 効力を裏付ける試験	2.6.3 - p. 2
2.6.3.3. 副次的薬理試験	2.6.3 - p. 2
2.6.3.4. 安全性薬理試験	2.6.3 - p. 3
2.6.3.5. 薬力学的薬物相互作用試験	2.6.3 - p. 4

2.6.1、2.6.2 および 2.6.3 の略号等一覧

略号 (略称)	定義・省略されていない名称
ATP	Adenosine Triphosphate (アデノシン三リン酸)
AZT	Azidothymidine (zidovudine) (アジドチミジン (ジドブジン))
C _{max}	Maximum plasma concentration (最高血漿中濃度)
DHOD	Dihydroorotate dehydrogenase (ジヒドロオロト酸脱水素酵素)
ED ₅₀	Effective dose in 50% (死亡率を 50%に低下させる用量)
HIV 患者	Human immunodeficiency virus (ヒト免疫不全ウイルス) に感染した患者
IC ₅₀	Inhibitor concentration yielding 50% inhibition (50%阻害濃度)
MIC	Minimum inhibitory concentration (最小発育阻止濃度)
MID	Minimum inhibitory dose (最小発育阻止用量)
PCP	Pneumocystis pneumonia (ニューモシスチス肺炎)
PCR	Polymerase chain reaction (ポリメラーゼ連鎖反応)
SMX	Sulfamethoxazole (スルファメトキサゾール)
TMP	Trimethoprim (トリメトプリム)

2.6.1. 緒言

アトバコンはミトコンドリア電子伝達系阻害薬であり、*in vitro* で抗 *Pneumocystis carinii* 活性を示し、免疫不全ラットモデルにおいてニューモシスチス肺炎（PCP）に対する予防および治療的投与で殺菌的な効力を発現する。

欧米では、ニューモシスチス・イロベチー (*Pneumocystis jirovecii*、2.6では旧名である *P. carinii* で統一) 感染によりおもに HIV 患者に発症する PCP に対する予防および治療薬として使用されている。

今回、適応菌種を「ニューモシスチス・イロベチー」、適応症を「ニューモシスチス肺炎、ニューモシスチス肺炎の発症抑制」として承認申請を行った。

2.6.2. 薬理試験の概要文

2.6.2.1. まとめ

アトバコン（以下、本薬）はミトコンドリア電子伝達系阻害薬であり、*Pneumocystis carinii* 感染によりおもに HIV 患者に発症するニューモシスチス肺炎（PCP）に対する予防および治療薬として欧米で使用されている。

効力を裏付ける試験

本薬はヒト胎児肺線維芽細胞に感染させた *P. carinii* の増殖を抑制し、その最小発育阻止濃度（MIC）は約 0.3 μM 、 ^3H -p-aminobenzoate 取込みを指標としたとき IC_{50} は 1.4 μM であった。デキサメタゾン誘発免疫不全ラットにおいて 100 mg/kg/日の予防的反复経口投与により潜伏感染している *P. carinii* の再活性化を完全に抑制し、25~100 mg/kg/日の治療的反复経口投与により、ラット肺病巣の感染の程度（*P. carinii* シスト数を指標）を用量依存的に軽減した。また、本薬を投与した免疫不全ラットを *P. carinii* の新たな感染が起こらないような環境で飼育するとそれ以上の再活性化は起こらなかった。

本薬の作用部位はミトコンドリア呼吸鎖であることが示唆されており、*P. carinii* の酸素消費量を 0.043 μM の IC_{50} で抑制し、*P. carinii* ミトコンドリアの電子伝達系複合体 III（complex III）を 0.015 μM の IC_{50} で抑制した。本薬は、ミトコンドリア内膜蛋白質ユビキノンのチトクローム b（complex III の構成成分）への結合を阻害し、その結果として ATP レベルを顕著に低下させることにより抗 *P. carinii* 活性を示すと考えられている。

本薬無効例の複数の PCP 患者から分離した *P. carinii* のチトクローム b DNA 配列を解析したところ、ユビキノロンが結合する Q_0 部位に耐性に関連すると思われる変異が数種類認められた。しかし、これらの変異は本薬無効例の一部でしか認められていないことから、臨床における本薬耐性に関してのチトクローム b 遺伝子変異の意義は明らかではない。

副次的薬理試験

本薬は標準株および HIV 患者から分離した *Toxoplasma gondii* のタキゾイトの増殖に対して、 $<0.005 \sim <0.5 \mu\text{M}$ の範囲の IC_{50} で抗 *T. gondii* 活性を示した。また、シストに分化した原虫に対しても 1 μM を超える濃度での 72 時間処理により抗 *T. gondii* 活性を示した。*T. gondii* のタキゾイトをマウスに皮下接種し、本薬を 1 日おきに 30 日間反复経口投与したところ、50 mg/kg 投与群で感染により死亡するまでの日数が対照群と比較して約 3 倍に延長した。HIV 患者分離 *T. gondii* のタキゾイトを腹腔内接種したマウスにおいて、30 日間反复経口投与により、死亡率を用量依存的に低下させた（死亡率を 50% に低下させる用量（ ED_{50} ）： $<10 \sim 30 \text{ mg/kg/日}$ ）。生存マウスでは、その多くで脳内に *T. gondii* は存在せず、特にシストはいずれのマウスにも認められなかった。トキソプラズマ症脳炎マウスに 200 mg/kg/日を 12 週間反复経口投与したところ、投与開始 5 日後から投与終了時まで持続的に脳内シスト数が対照群より少なく、投与 8 週間後以降ではシストの大部分は脳から消失した。マウスを用いた短期間の *in vivo* 発育阻害試験において *T. gondii* に対する最小発育阻止用量（MID）は 1.25 mg/kg/投与であった。

安全性薬理試験

中枢神経系に及ぼす影響を検討した試験では、マウス（1～2000 mg/kg）、ラット（20～500 mg/kg）およびイヌ（20 mg/kg）に単回経口投与しても、一般症状および行動に影響を示さなかった。ラットに高用量（1000～2000 mg/kg）を単回経口投与すると、一過性で軽度の自発運動の低下、呼吸数減少および眼瞼下垂が一部の動物にみられた。また、睡眠時間に及ぼす影響を検討した試験では、マウス（20～500 mg/kg）およびラット（10～300 mg/kg）への単回経口投与によりバルビタール誘発睡眠時間に影響を及ぼさなかった。心血管系に及ぼす影響を検討した試験では、ラット（20～500 mg/kg/日）に5日間反復経口投与、イヌ（20 mg/kg）に単回経口投与ならびにネコおよびイヌ（それぞれ20 mg/kg）に単回静脈内投与しても、動脈圧、心拍数または心電図に影響を及ぼさなかった。呼吸系に及ぼす影響を検討した試験では、麻酔下でネコおよびイヌ（20 mg/kg）に単回静脈内投与すると分時換気量の増加がみられた。自律神経系に及ぼす影響では、麻酔下でネコおよびイヌ（それぞれ20 mg/kg）に単回静脈内投与すると、迷走神経への刺激に対する徐脈および降圧反応を抑制する傾向を示した。消化器系に及ぼす影響を検討した試験では、マウス（20～500 mg/kg）およびラット（10～300 mg/kg）に単回経口投与すると、マウス（500 mg/kg）での軽度の促進作用を除き、腸管輸送能に影響を及ぼさなかった。

薬力学的薬物相互作用試験

抗 HIV 薬であるジドブジン（AZT）および本薬をラットへ併用投与したときに、本薬の抗 *P. carinii* 活性は AZT によって影響を受けなかった。

2.6.2.2. 効力を裏付ける試験

2.6.2.2.1. In vitro における抗 *P. carinii* 活性

4.2.1.1.1/ref および 4.2.1.1.2/ref

ヒト胎児肺線維芽細胞に感染させた *P. carinii* の増殖を評価する系[Queener, 1988]において、本薬は増殖を抑制し、その MIC は約 0.3 μM であった (4.2.1.1.1/ref)。

³H-p-aminobenzoate 取込みを指標としたときの *P. carinii* の増殖に対する IC₅₀ は本薬、ペンタミジンおよびスルファメトキサゾール (SMX) でそれぞれ 1.4、7.3 および 0.1 μM であった[Comley, 1991]。

本薬は *P. carinii* の酸素消費量を濃度依存的に抑制し、その IC₅₀ は 0.043 μM であった。また、*P. carinii* から分離したミトコンドリアの complex III（ユビキノン-チトクローム c レダクターゼ活性を指標として測定）を濃度依存的に抑制し、その IC₅₀ は 0.015 μM であった (4.2.1.1.2/ref)。

2.6.2.2.2. In vivo における抗 *P. carinii* 活性

4.2.1.1.1/ref

デキサメタゾン誘発免疫不全ラットでは自然に潜伏感染していた *P. carinii* が日和見感染的に再活性化する。この免疫不全ラット (SD ラット) を用いて、本薬の 100 mg/kg/日を免疫不全誘発時から予防的に 8 週間 (週 5 日間投与)、または 25、50 もしくは 100 mg/kg/日を *P. carinii* 感染が顕在化する時点 (免疫不全誘発の 4 週間後) から治療的に 2 週間いずれも

経口投与した。投与終了後にラット肺病巣を摘出し、*P. carinii* のシスト数を指標に感染の程度を検討したところ、100 mg/kg/日の予防投与では *P. carinii* の再活性化は完全に抑制され、25~100 mg/kg/日の治療投与では感染の程度が用量依存的に軽減された（表 2.6.2-1）。トリメトプリム（TMP）および SMX のそれぞれ 50 および 250 mg/kg/日の併用投与でも本薬の 100 mg/kg/日と同様の結果が得られた。また、本薬を投与した免疫不全ラットを *P. carinii* が新たに感染しないような環境で飼育するとそれ以上の再活性化は起こらなかった[Hughes, 1990]。

表 2.6.2-1 免疫不全ラットの *P. carinii* 感染に対する効果

投与方法	投与群	感染の程度					感染例/n	感染率 (%)
		0+	1+	2+	3+	4+		
予防投与	非投与	0	1	2	5	0	8/8	100
	非投与	0	0	2	8	0	10/10	100
	本薬, 100 mg/kg ^{a)}	8	0	0	0	0	0/8	0
	TMP/SMX, 50/250 mg/kg ^{b)}	10	0	0	0	0	0/10	0
治療投与	非投与	0	1	0	8	-	9/9	100
	非投与	0	1	3	6	-	10/10	100
	本薬, 25 mg/kg ^{c)}	1	0	1	6	-	7/8	88
	本薬, 50 mg/kg ^{c)}	2	0	3	4	-	7/9	78
	本薬, 100 mg/kg ^{c)}	8	0	0	0	-	0/8	0
	TMP/SMX, 50/250 mg/kg ^{d)}	8	1	1	0	-	2/10	20

Data source : 4.2.1.1.1/ref の TABLE 3 および 6A

TMP : トリメトプリム, SMX : スルファメトキサゾール

a) または b) : 免疫不全誘発時点から、週 5 日間投与×8 週間または 8 週間連続的に飲水投与

c) または d) : 免疫不全誘発時の 4 週間後から、週 5 日間投与×2 週間または 2 週間連続的に飲水投与

2.6.2.2.3. 作用機序

4.2.1.1.1/ref

P. carinii は *in vitro* での継代培養ができず、少量を感染させた実験動物からしか分離できない。そのため本微生物に対する生物学的データは乏しく、本微生物に対する本薬の作用機序や作用部位に関するデータは限られており、作用機序は完全には解明されていない。

P. carinii はクリスタに富むミトコンドリアを有し、酸素を利用することが知られている。古典的なミトコンドリア電子伝達系阻害薬（シアン化物、アンチマイシン A）と同様に、本薬はミトコンドリアの酸素消費を抑制する。本薬の *P. carinii* の酸素消費量に対する IC₅₀ は 0.043 μM であり、これは *P. carinii* ミトコンドリア内の complex III に対する阻害作用の IC₅₀ (0.015 μM) とほぼ同じ濃度であること、および *P. carinii* 増殖の MIC (約 0.3 μM) より低濃度である (2.6.2.2.1) ことから、欧米での申請時点で、本薬の作用部位がミトコンドリア呼吸鎖であることが示唆された。すなわち、*P. carinii* の呼吸鎖には酸化的リン酸化の過程が多く存在することから、これを阻害し、ATP レベルを顕著に低下させることにより、抗 *P. carinii* 活性を示すと考えられた。

その後、本薬がミトコンドリア内膜蛋白質ユビキノンのチトクローム b (complex III の構成成分) への結合を阻害することにより、ジヒドロオロト酸脱水素酵素 (DHOD) などのミ

トコンドリア電子伝達系にリンクした酵素を阻害し[Ittarat, 1995]、その結果としてATPレベルを顕著に低下させる[Cushion, 2000]ことが明らかになっている。また、DHODはピリミジンの *de novo* 合成に必要な酵素であり、本薬はマラリア原虫に対してDHOD活性阻害作用を介してピリミジンの *de novo* 合成を阻害することで抗マラリア活性を示すこと[Baggish, 2002]が明らかになっているが、一方、*P. carinii* はピリミジン合成に関してサルベージ経路を有しているため、ピリミジンの *de novo* 合成を阻害することは *P. carinii* に対する本薬の作用機序として重要ではない可能性がある。

以上のことから、詳細な機序は解明されていないものの、本薬はミトコンドリア電子伝達系の complex III を阻害することで、電子伝達系にリンクしたDHODなどの複数の酵素を間接的に阻害することにより、結果的に核酸やATPの合成を低下させ、抗 *P. carinii* 活性を示すと考えられる。

2.6.2.2.4. 耐性

本薬の予防的投与でPCPの発症を予防できなかった患者から得た検体中の *P. carinii* のチトクローム b DNA 配列をPCR法により解析したところ、4例中2例の患者でチトクローム b のユビキノンが結合する Q₀ 部位に耐性に関連すると思われる変異 (T121I および L123F) が認められた[Walker, 1998; Kazanjian, 2001]。また、本薬の治療または予防的投与を受けた患者 15 例中 5 例 (33%) から検出された *P. carinii* のチトクローム b のアミノ酸配列において、Q₀ 部位に変異 (T100I、I120V、P239L および L248F) が認められ、変異の出現率が本薬の投与を受けなかった患者 45 例 (出現率 6%) より有意に高率であった[Kazanjian, 2001]。このように、チトクローム b の耐性変異は本薬無効例の一部でしか認められていないことから、臨床における本薬耐性に関してのチトクローム b 遺伝子変異の意義は明らかではない。

2.6.2.3. 副次的薬理試験

2.6.2.3.1. In vitro における抗 *T. gondii* 活性

4.2.1.2.1/ref

標準株 (2種類) および HIV 患者から分離した *T. gondii* (4種類) をヒト包皮線維芽細胞内で培養したときのタキゾイトの増殖 (³H-ウラシル取込みを指標に測定) に対して、本薬は抗 *T. gondii* 活性を示し、その IC₅₀ は標準株で 0.02 および 0.2 μM ならびに分離株で <0.005、<0.005、0.2 および <0.5 μM であった。また、シストに対しても 1 μM を超える濃度の本薬を 72 時間処理することで抗 *T. gondii* 活性を示した。

2.6.2.3.2. In vivo における抗 *T. gondii* 活性

4.2.1.2.1/ref~4.2.1.2.3/ref

マウスの皮下に *T. gondii* のタキゾイト (約 2×10² 個/マウス) を接種し、4 時間後に本薬 (3.125~50 mg/kg) を経口投与した。その後 30 日間同用量を隔日投与 (計 15 回) し、感染により死亡するまでの日数を計測した。対照群では死亡するまでの日数が平均 9.25 日 (n=10) であったのに対して、本薬投与群 (各 5 例) では、用量依存的に死亡するまでの日数が長くなり、50 mg/kg 投与群では平均 25.5 日まで延長した (4.2.1.2.2/ref)。

マウスの腹腔内に標準株または HIV 患者から分離した *T. gondii* のタキゾイト (約 3×10^3 個/マウス) を接種し、24 時間後から、本薬 (10、20 および 50 mg/kg) を 1 日 1 回、30 日間反復経口投与し、投与終了時の死亡率を求めた[Araujo, 1991]。標準株 1 種類および HIV 患者から分離した 4 種類の *T. gondii* のタキゾイト感染により、いずれの感染でも対照群では感染 5~8 日後までに全例死亡した。本薬は用量依存的にマウスの死亡を抑制し、ED₅₀ は標準株で 20 mg/kg/日、4 種類の HIV 患者分離株でそれぞれ <10、10、25 および 30 mg/kg/日であった。本薬投与により生存したマウスでは、その多くで脳内に *T. gondii* は存在せず、特にシストの存在はすべてのマウスで認められなかった (4.2.1.2.1/ref)。

トキソプラズマ症脳炎マウスを用いて本薬の効果を検討した。CBA/Ca マウスの腹腔内に *T. gondii* のシスト (10 個/マウス) を接種し、その 5 週間後から 12 週間本薬の 200 mg/kg/日を反復経口投与した[Araujo, 1992]。その結果、投与開始 5 日後から 12 週間後まで持続的に本薬投与群における脳内シスト数は対照群より少なく ($p < 0.01$)、8 週間後から投与期間の終了時まででは、シストの大部分が脳より消失した (図 2.6.2-1) (4.2.1.2.1/ref)。

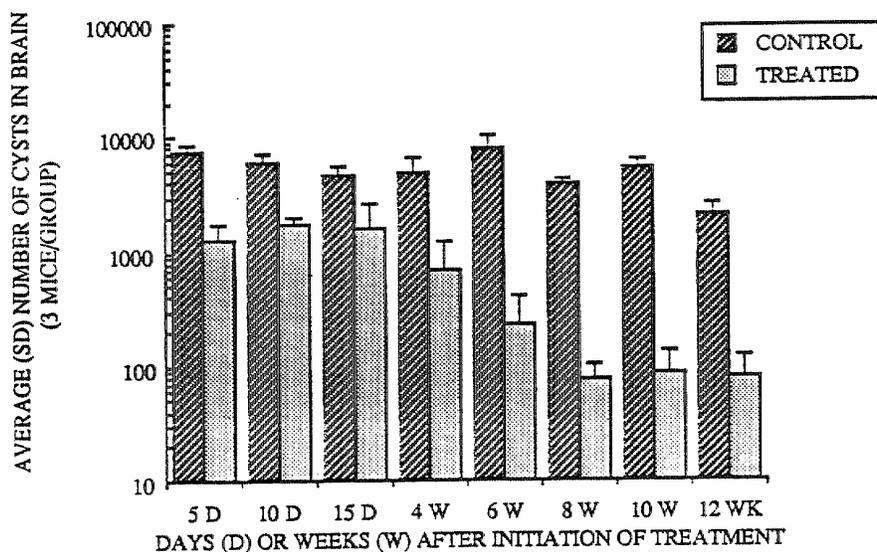


図 2.6.2-1 トキソプラズマ症脳炎マウスにおける脳内シスト数の低下作用

Data source : 4.2.1.2.1/ref の FIG. 6

短期間の *in vivo* 発育阻害試験を実施し本薬の効力を対照薬と比較した。Balb/c マウスの腹腔内に *T. gondii* のタキゾイト (約 $2 \sim 4 \times 10^4$ 個/マウス) を接種し、直後から被験物質を 1 日 2 回、4 日間経口投与した。投与終了の翌日に腹腔内滲出液を採集し、滲出液中のタキゾイト数を測定した結果、本薬の MID は 1.25 mg/kg/投与であり、ピリメタミン、スルファジアジンおよびピリメタミン/スルファジアジンではそれぞれ 2.5、50、および 1/5 mg/kg/投与であった (4.2.1.2.3/ref)。

2.6.2.4. 安全性薬理試験

以下に示す試験は、安全性薬理試験ガイドライン施行以前に一般薬理試験として実施した。

2.6.2.4.1. 中枢神経系に及ぼす影響**2.6.2.4.1.1. 一般症状および行動に及ぼす影響****2.6.2.4.1.1.1. マウス**

4.2.1.3.1/ref

1群5匹の雌マウスに1~2000 mg/kgを10 mL/kgの容量で単回経口投与したところ、いずれの用量群でも投与14日後まで行動に変化はなく、毒性徴候も観察されなかった。観察期間中に体重増加量や直腸温に変化はみられなかった。

2.6.2.4.1.1.2. ラット

4.2.1.3.2/ref

1群5匹の雄ラットに20~2000 mg/kgを単回経口投与したところ、高用量(1000および2000 mg/kg)群の1~2例で軽度で一過性の自発運動の低下および呼吸数減少ならびに眼瞼下垂がみられた。いずれの用量においても体重増加に及ぼす影響はなかったが、2000 mg/kg投与群で軽度で一過性の有意な体温の低下(直腸温で0.5℃低下)がみられた。低用量群(20~500 mg/kg)では投与14日後まで影響はみられなかった。

2.6.2.4.1.1.3. イヌ

4.2.1.3.3/ref

イヌ6匹(雄2匹、雌4匹)に20 mg/kgを単回経口投与したところ、投与13日後まで行動に影響はみられなかった。

2.6.2.4.1.2. 睡眠時間に及ぼす影響**2.6.2.4.1.2.1. マウス**

4.2.1.3.1/ref

1群6匹の雌マウスに20、100および500 mg/kgをペントバルビタール投与1時間前に単回経口投与したところ、バルビタール誘発睡眠時間に影響を与えなかった。

2.6.2.4.1.2.2. ラット

4.2.1.3.2/ref

1群6匹の雄ラットに10~300 mg/kgをペントバルビタール投与1時間前に単回経口投与したところ、バルビタール誘発睡眠時間に影響を与えなかった。

2.6.2.4.2. 心血管系に及ぼす影響**2.6.2.4.2.1. ラット**

4.2.1.3.4/ref

1群 6~7匹の雌ラットに 20、100 および 500 mg/kg/日を 5日間反復経口投与した。最終投与の約3時間後から60分間、麻酔下で動脈圧、心拍数、第II誘導心電図（PR間隔）を連続的に記録したところ、いずれのパラメータに対しても影響を示さなかった。

2.6.2.4.2.2. ネコ

4.2.1.3.5/ref

麻酔下でネコ（雄4匹）に 20 mg/kg を30分間かけて静脈内持続投与したところ、投与に関連した動脈圧および心拍数の変化はみられなかった。

2.6.2.4.2.3. イヌ

4.2.1.3.3/ref、4.2.1.3.6/ref および 4.2.1.3.7/ref

無麻酔のイヌ（雄1匹、雌4匹）に 20 mg/kg を単回経口投与したところ、動脈圧（収縮期圧および拡張期圧）、心拍数、第II誘導心電図の波形（PR、QRS および QT 間隔）に投与に関連した有意な影響はみられなかった。無麻酔または麻酔下のイヌ（それぞれ雄4または3匹）に、20 mg/kg を30分間かけて静脈内持続投与したところ、投与に関連した動脈圧および心拍数の変化ならびに不整脈の徴候はなく、心電図にも明らかな変化はみられなかった。

2.6.2.4.3. 呼吸系に及ぼす影響**2.6.2.4.3.1. ネコ**

4.2.1.3.5/ref

麻酔下でネコ（雄4匹）に 20 mg/kg を30分間かけて静脈内持続投与したところ、呼吸機能の抑制はみられなかった。投与終了30~180分後に投与に関連した有意な分時換気量の増加（最大91%）が認められた。呼吸数に有意な変化が見られなかったことから、本変化は1回換気量の増加によるものと判断された。また、分時換気量の増加により血液ガスおよびpHに対する影響はみられなかった。

2.6.2.4.3.2. イヌ

4.2.1.3.6/ref および 4.2.1.3.7/ref

麻酔下でイヌ（雄3匹）に 20 mg/kg を30分間かけて静脈内持続投与したところ、投与終了時~90分後にネコと同様に投与に関連した分時換気量の有意な増加（最大68%）が認められた。また、無麻酔のイヌ（雄4匹）に 20 mg/kg を30分間かけて静脈内持続投与したところ、血液ガスおよび酸塩基平衡に影響を与えなかった。

2.6.2.4.4. 自律神経系に及ぼす影響**2.6.2.4.4.1. ネコ**

4.2.1.3.5/ref

麻酔下でネコ（雄4匹）に20 mg/kgを30分間かけて静脈内持続投与したところ、頸部交感神経への電気刺激に対する瞬膜収縮反応は変化しなかったことから、本薬は交感神経系に影響を及ぼさないと考えられた。また、静脈内投与後に、副交感神経機能の測定として迷走神経への電気刺激に対する徐脈反応を測定したときに、本薬はその反応に対して抑制傾向（20～22%、有意差なし）を示した。一方、アセチルコリンの静脈内ボラス投与による降圧および徐脈反応に対しては抑制作用を示さなかった。

2.6.2.4.4.2. イヌ

4.2.1.3.7/ref

麻酔下でイヌ（雄3匹）に20 mg/kgを30分間かけて静脈内持続投与したところ、ノルアドレナリンの静脈内投与または両側頸動脈閉塞による昇圧反応に対して有意な影響を及ぼさなかった。また、アセチルコリンの静脈内投与による降圧反応に対しても有意な影響を及ぼさなかった。一方、迷走神経刺激による降圧反応に対しては抑制傾向（20%、有意差なし）を示した。

2.6.2.4.5. 消化器系に及ぼす影響**2.6.2.4.5.1. マウス**

4.2.1.3.1/ref

1群6匹の雌マウスに20、100および500 mg/kgを単回経口投与し、1時間後に炭末を投与した。本薬は20および100 mg/kg投与では腸管輸送能に有意な変化はみられなかったが、500 mg/kg投与では軽度ではあるが有意な促進作用（23.6%、 $p<0.05$ ）を示した。

2.6.2.4.5.2. ラット

4.2.1.3.2/ref

1群6匹の雄ラットに10～300 mg/kgを単回経口投与し、1時間後に炭末を投与したところ、腸管輸送能に影響はみられなかった。

2.6.2.5. 薬力学的薬物相互作用試験

4.2.1.4.1/ref

ラットに抗HIV薬であるAZTおよび本薬を併用投与したときに、本薬の抗*P. carinii*活性はAZTによって影響を受けなかった。

2.6.2.6. 考察および結論

本薬の予定適応症は PCP に対する予防および治療である。本薬の抗 *P. carinii* 活性を評価するために一連の *in vitro* および *in vivo* 試験を実施し、対照薬であるペンタミジンおよび SMX の活性と比較した。

本薬はヒト胎児肺線維芽細胞に感染させた *P. carinii* の増殖を抑制し、その MIC は約 0.3 μM であった。また、 $^3\text{H-p-aminobenzoate}$ 取込みを指標としたときの *P. carinii* の増殖に対する本薬の IC_{50} は 1.4 μM (0.51 $\mu\text{g/mL}$) であった。本薬の IC_{50} は、HIV 患者 20 例に本剤の 750 mg を 1 日 2 回 14~17 日間経口投与したときの定常状態での血漿中濃度 (21.0 $\mu\text{g/mL}$) (2.7.2.2.2.2.2) の約 1/40 の低濃度であることから、HIV 患者の PCP においても十分な活性を示すと推察される。

潜伏感染していた *P. carinii* が日和見感染的に再活性化するデキサメタゾン誘発免疫不全ラットに、本薬の 100 mg/kg/日を免疫不全誘発時から予防的に 8 週間、または 25、50 もしくは 100 mg/kg/日を *P. carinii* 感染が顕在化する時点から治療的に 2 週間いずれも経口投与した。投与終了後にラット肺病巣を摘出し、*P. carinii* のシスト数を指標に感染の程度を検討したところ、予防投与では *P. carinii* の再活性化が完全に抑制され、治療投与では感染の程度が軽減されたことから、本薬の *in vivo* における十分な有効性が確認された。また、本薬を投与した免疫不全ラットを *P. carinii* が新たに感染しないような環境で飼育するとそれ以上の再活性化が起こらないこと [Hughes, 1990] から、ラットに感染していた *P. carinii* は本薬の投与により完全に消失したと考えられ、本薬はラットにおいて殺菌的に作用すると推察される。

以上のことから、本薬は *in vitro* で抗 *P. carinii* 活性を示し、免疫不全ラットモデルにおいて PCP に対する予防および治療的投与で殺菌的な効力を発現したことから、HIV 患者の PCP に対して有効であると考えられる。

本薬の作用部位はミトコンドリア呼吸鎖にあることが示唆されており、*P. carinii* の酸素消費量を 0.043 μM の IC_{50} で抑制し、*P. carinii* ミトコンドリアの電子伝達系複合体 III (complex III) を 0.015 μM の IC_{50} で抑制した。本薬は、ミトコンドリア内膜蛋白質ユビキノンのチトクローム b (complex III の構成成分) への結合を阻害し、その結果として ATP レベルを顕著に低下させることにより抗 *P. carinii* 活性を示すと考えられている。

本薬無効例の複数の PCP 患者から分離した *P. carinii* のチトクローム b DNA 配列を解析したところ、ユビキノロンが結合する Q_0 部位に耐性に関連すると思われる変異が数種類検出された。しかし、これらの変異は本薬無効例の一部でしか認められていないことから、臨床における本薬耐性に関してのチトクローム b 遺伝子変異の意義は明らかではない。

本薬は、標準株および HIV 患者から分離した *T. gondii* のタキゾイトの増殖に対して、0.5 μM より低い IC_{50} で抗 *T. gondii* 活性を示し、*T. gondii* を接種したマウスへの 30 日間隔日経口投与において *T. gondii* 感染による死亡率を用量依存的に低下させ、シストを脳内から消失させたことから、HIV 患者における *T. gondii* 感染による脳トキソプラズマ症に対しても有効であると考えられる。

安全性薬理に関する検討を一般薬理試験として実施し、マウス、ラットおよびイヌの中樞神経系、ラット、ネコおよびイヌの心血管系、ネコおよびイヌの呼吸系、ネコおよびイヌの自律神経系ならびにマウスおよびラットの消化器系に対する影響について検討した。その結

果、本薬の投与により観察されたおもな影響は、ラットでの一過性の自発運動の低下および呼吸数減少（1000 および 2000 mg/kg の単回経口投与）、眼瞼下垂および軽度の体温低下

（2000 mg/kg の単回経口投与）ならびに麻酔下でのネコおよびイヌ（いずれも 20 mg/kg の静脈内持続投与）での分時換気量の増加であった。これらの投与条件でのネコおよびイヌの血漿中濃度（それぞれ C_{max} が 131 $\mu\text{g/mL}$ (4.2.1.3.5/ref) および 110 $\mu\text{g/mL}$ (4.2.1.3.7/ref)）、またはそれより低用量投与におけるラットの血漿中濃度（500 mg/kg の 5 日間反復経口投与終了時点で 77 $\mu\text{g/mL}$ (4.2.1.3.4/ref)）は、いずれも臨床用量投与時の定常状態での血漿中濃度（21.0 $\mu\text{g/mL}$ 、2.7.2.2.2.2.2）より約 3.7 倍以上高濃度であると考えられる。また、ラットに本薬の 1000 mg/kg（500 mg/kg を 6 時間ごとに 2 回）を経口投与したときの $AUC_{0-\infty}$

（3955 $\mu\text{g}\cdot\text{hr/mL}$ 、4.2.2.2.1.3）、およびイヌに本薬を平均で 5.71 mg/kg 静脈内投与したときの $AUC_{0-\infty}$ （191.7 $\mu\text{g}\cdot\text{hr/mL}$ 、4.2.2.2.1.7）から推定される 20 mg/kg 投与時の $AUC_{0-\infty}$

（671.5 $\mu\text{g}\cdot\text{hr/mL}$ ）は、臨床用量投与時の定常状態での AUC_{SS} （252 $\mu\text{g}\cdot\text{hr/mL}$ 、2.7.2.2.2.2.2）に比べてそれぞれ約 16 および約 2.7 倍高値であると考えられる。以上のことから、臨床において危惧すべき重篤な副作用を発現する可能性は低いと考えられた。

薬力学的薬物相互作用試験では、抗 HIV 薬である AZT および本薬のラットへの併用投与において、AZT は本薬の抗 *P. carinii* 活性に影響を与えなかったことから HIV 患者の PCP の予防および治療投与時に本薬は AZT と併用投与が可能であると考えられる。

2.6.2.7. 図表

図表は本文中に記載した。

2.6.2.8. 参考文献

Araujo FG, Huskinson J, Remington JS, et al. Remarkable in vitro and in vivo activities of the hydroxynaphthoquinone 566C80 against tachyzoites and tissue cysts of toxoplasma gondii. *Antimicrob Agents Chemother.* 1991;35:293-9.

Araujo FG, Huskinson-Mark J, Gutteridge WE, et al. In vitro and in vivo activities of the hydroxynaphthoquinone 566C80 against the cyst form of toxoplasma gondii. *Antimicrob Agents Chemother.* 1992;36:326-30.

Baggish AL, Hill DR. Antiparasitic Agent Atovaquone. *Antimicrob Agents Chemother.* 2002;46:1163-73.

Comley JCW, Mullin RJ, Wolfe LA, et al. Microculture screening assay for primary in vitro evaluation of drugs against pneumocystis carinii. *Antimicrob Agents Chemother.* 1991;35:1965-74.

Cushion MT, Collins M, Hazra B, et al. Effects of atovaquone and diospyrin-based drugs on the cellular ATP of pneumocystis carinii f. sp. carinii. *Antimicrob Agents Chemother.* 2000;44:713-9.

Hughes WT, Gray VL, Gutteridge WE, et al. Efficacy of hydroxynaphthoquinone, 566C80, in experimental pneumocystis carinii pneumonitis. *Antimicrob Agents Chemother.* 1990;34:225-8.

Ittarat I, Asawamahasakda W, Bartlett MS, et al. Effects of atovaquone and other inhibitors on pneumocystis carinii dihydroorotate dehydrogenase. *Antimicrob Agents Chemother.* 1995;39:325-8.

Kazanjian P, Armstrong W, Hossler PA, et al. Pneumocystis carinii cytochrome b mutations are associated with atovaquone exposure in patients with AIDS. *J Infect Dis.* 2001;183:819-22.

Queener SF, Bartlett MS, Richardson JD et al. Activity of clindamycin with primaquine against pneumocystis carinii in vitro and in vivo. *Antimicrob Agents Chemother.* 1988;32:807-13.

Walker DJ, Wakefield AE, Dohn MN, et al. Sequence polymorphisms in the pneumocystis carinii cytochrome b gene and their association with atovaquone prophylaxis failure. *J Infect Dis.* 1998;178:1767-75.

2.6.3. 薬理試験概要表

2.6.3.1. 薬理試験：一覧表

被験物質：アトバコン

試験の種類	試験系	投与方法	実施施設	報告書番号	資料番号
効力を裏付ける試験					
抗 <i>P.carinii</i> 活性					
増殖抑制作用	ヒト胎児肺線維芽細胞	<i>in vitro</i>	WRL	BTCB 91-0001	4.2.1.1.1/ref
酸素消費量に対する作用	<i>P.carinii</i>	<i>in vitro</i>	WRL	BBCS/91/0003	4.2.1.1.2/ref
ミトコンドリア電子伝達系に対する作用	<i>P.carinii</i> 分離ミトコンドリア	<i>in vitro</i>	WRL	BBCS/91/0003	4.2.1.1.2/ref
デキサメタゾン誘発免疫不全ラットにおける予防および治療効果	SD ラット	経口	WRL	BTCB 91-0001	4.2.1.1.1/ref
副次的薬理試験					
抗 <i>T.gondii</i> 活性					
タキゾイトの増殖抑制作用	ヒト包皮線維芽細胞	<i>in vitro</i>	WRL	BTCB 91-0001	4.2.1.2.1/ref
トキソプラズマ症脳炎マウスにおける脳内シスト数低下作用	CBA/Ca マウス	経口	WRL	BTCB 91-0001	4.2.1.2.1/ref
タキゾイト感染マウスに対する感染抑制効果	CD-1 マウス	経口	WRL	BTCB 89-1C	4.2.1.2.2/ref
タキゾイト感染マウスにおける発育阻害作用	Balb/c マウス	経口	WRL	BTCB/92/0002	4.2.1.2.3/ref
安全性薬理試験 ^{a)}					
中枢神経系に及ぼす影響					
一般症状, 体重, 直腸温	CD-1 マウス	経口	WRL	BPHP 87-46	4.2.1.3.1/ref
	Wistar ラット	経口	WRL	BPHP 87-47	4.2.1.3.2/ref
一般症状	ビーグル犬	経口	WRL	BPHP 88-11	4.2.1.3.3/ref
ペントバルビタール誘発睡眠に及ぼす影響	CD-1 マウス	経口	WRL	BPHP 87-46	4.3.1.3.1/ref
	Wistar ラット	経口	WRL	BPHP 87-47	4.2.1.3.2/ref
心血管系に及ぼす影響					
動脈圧, 心拍数, 心電図	麻酔 Wistar ラット	経口	WRL	BPHP 89-27	4.2.1.3.4/ref
動脈圧, 心拍数	麻酔ネコ	静脈内	WRL	BPHP/91/0036	4.2.1.3.5/ref
動脈圧, 心拍数, 心電図	ビーグル犬	経口	WRL	BPHP 88-11	4.2.1.3.3/ref
動脈圧, 心拍数, 心電図	ビーグル犬	静脈内	WRL	BPHP/91/0033	4.2.1.3.6/ref
動脈圧, 心拍数, 心電図	麻酔ビーグル犬	静脈内	BWC	TPZZ/91/0039-00	4.2.1.3.7/ref

BWC: Burroughs Wellcome Co., WRL: Wellcome Research Laboratories, a) 一般薬理試験として実施

2.6.3.1. 薬理試験：一覧表（続き）

被験物質：アトバコン

試験の種類	試験系	投与方法	実施施設	報告書番号	資料番号
安全性薬理試験 ^{a)}					
呼吸系に及ぼす影響					
呼吸数, 1回換気量, 分時換気量, 血液ガス, 血液 pH	麻酔ネコ	静脈内	WRL	BPHP/91/0036	4.2.1.3.5/ref
血液ガス, 血液 pH, 酸塩基平衡	ビーグル犬	静脈内	WRL	BPHP/91/0033	4.2.1.3.6/ref
呼吸数, 分時換気量	麻酔ビーグル犬	静脈内	BWC	TPZZ/91/0039-00	4.2.1.3.7/ref
自律神経系に及ぼす影響					
瞬膜収縮反応, 徐脈反応, 降圧反応	麻酔ネコ	静脈内	WRL	BPHP/91/0036	4.2.1.3.5/ref
昇圧反応, 降圧反応	麻酔ビーグル犬	静脈内	BWC	TPZZ/91/0039-00	4.2.1.3.7/ref
消化器系に及ぼす影響					
炭末輸送能	CD-1 マウス	経口	WRL	BPHP 87-46	4.2.1.3.1/ref
	Wistar ラット	経口	WRL	BPHP 87-47	4.2.1.3.2/ref
薬力学的薬物相互作用試験					
AZT との併用投与における相互作用	ラット	経口	WRL	BTCB 91-0001	4.2.1.4.1/ref

BWC: Burroughs Wellcome Co., WRL: Wellcome Research Laboratories

a) 一般薬理試験として実施

2.6.3.2. 効力を裏付ける試験

2.6.3.1 参照

2.6.3.3. 副次的薬理試験

2.6.3.1 参照

2.6.3.4. 安全性薬理試験

被験物質：アトバコン

試験の種類		動物種/系統	性別および動物数/群	投与方法	投与量 (mg/kg)	特記すべき所見	GLP適用	報告書番号	資料番号
中枢神経系	一般症状, 体重, 直腸温	CD-1 マウス	雌 5	経口	1, 2, 5, 10, 20, 50, 100, 200, 500, 1000, 2000	影響なし	非適	BPHP 87-46	4.2.1.3.1/ref
		Wistar ラット	雄 5	経口	20, 50, 100, 200, 500, 1000, 2000	1000 および 2000 mg/kg : 各 2 匹に一過性の自発運動の軽度低下, 各 1 匹に一過性の呼吸数の軽度減少 2000 mg/kg : 一過性の体温低下 (0.5°C, p<0.01), 1 匹に眼瞼下垂	非適	BPHP 87-47	4.2.1.3.2/ref
	一般症状	ビーグル犬	雄 1, 雌 4	経口	20	影響なし	非適	BPHP 88-11	4.2.1.3.3/ref
	ペントバルビタール誘発睡眠	CD-1 マウス	雌 6	経口	20, 100, 500	影響なし	非適	BPHP 87-46	4.2.1.3.1/ref
		Wistar ラット	雄 6	経口	10, 30, 100, 300	影響なし	非適	BPHP 87-47	4.2.1.3.2/ref
心血管系	動脈圧, 心拍数, 心電図	麻酔 Wistar ラット/	雌 6-7	経口	20, 100, 500 (5 日間反復)	影響なし	非適	BPHP 89-27	4.2.1.3.4/ref
	動脈圧, 心拍数	麻酔ネコ	雄 4	静脈内	20	影響なし	非適	BPHP/91/0036	4.2.1.3.5/ref
	動脈圧, 心拍数, 心電図	ビーグル犬	雄 1, 雌 4	経口	20	影響なし	非適	BPHP 88-11	4.2.1.3.3/ref
	動脈圧, 心拍数, 心電図	ビーグル犬	雄 4	静脈内	20	影響なし	非適	BPHP/91/0033	4.2.1.3.6/ref
	動脈圧, 心拍数, 心電図	麻酔 ビーグル犬	雄 3	静脈内	20	影響なし	非適	TPZZ/91/0039-00	4.2.1.3.7/ref

一般薬理試験として実施

2.6.3.4. 安全性薬理試験（つづき）

被験物質：アトバコン

試験の種類		動物種/系統	性別および動物数/群	投与方法	投与量 (mg/kg)	特記すべき所見	GLP適用	報告書番号	資料番号
呼吸系	呼吸数, 1回換気量, 分時換気量, 血液ガス, 血液pH	麻酔ネコ	雄 4	静脈内	20	投与終了30~180分後に1回換気量の増加に関連した分時換気量の増加 (91%, p<0.05)	非適	BPHP/91/0036	4.2.1.3.5/ref
	血液ガス, 血液pH, 酸塩基平衡	ビーグル犬	雄 4	静脈内	20	影響なし	非適	BPHP/91/0033	4.2.1.3.6/ref
	呼吸数, 分時換気量	麻酔ビーグル犬	雄 3	静脈内	20	投与終了時~90分後に分時換気量の増加 (68%, p<0.05)	非適	TPZZ/91/0039-00	4.2.1.3.7/ref
自律神経系	瞬膜収縮反応, 徐脈反応, 降圧反応	麻酔ネコ	雄 4	静脈内	20	徐脈反応の抑制傾向 (20~22%)	非適	BPHP/91/0036	4.2.1.3.5/ref
	昇圧反応, 降圧反応	麻酔ビーグル犬	雄 3	静脈内	20	迷走神経刺激による降圧反応の抑制傾向 (20%)	非適	TPZZ/91/0039-00	4.2.1.3.7/ref
消化器系	炭末輸送	CD-1 マウス	雌 6	経口	20, 100, 500	500 mg/kg : 軽度促進 (23.6%, p<0.05)	非適	BPHP 87-46	4.2.1.3.1/ref
		Wistar ラット	雄 6	経口	10, 30, 100, 300	影響なし	非適	BPHP 87-47	4.2.1.3.2/ref

一般薬理試験として実施

2.6.3.5. 薬力学的薬物相互作用試験

2.6.3.1 参照