

目次

2.4.1	非臨床試験計画概略	4
2.4.1.1	薬理試験	4
2.4.1.2	薬物動態試験	4
2.4.1.3	毒性試験	5
2.4.2	薬理試験	6
2.4.2.1	効力を裏付ける試験	6
2.4.2.2	副次的薬理試験	6
2.4.2.3	安全性薬理試験	6
2.4.3	薬物動態試験	9
2.4.3.1	分析法	9
2.4.3.2	吸収	9
2.4.3.3	分布	10
2.4.3.4	代謝	11
2.4.3.5	排泄	13
2.4.3.6	薬物動態学的薬物相互作用	14
2.4.3.7	その他の薬物動態試験	14
2.4.3.8	動物とヒトとの曝露比	15
2.4.4	毒性試験	18
2.4.4.1	単回投与毒性試験	18
2.4.4.2	反復投与毒性試験	18
2.4.4.3	遺伝毒性試験	24
2.4.4.4	がん原性試験	25
2.4.4.5	生殖発生毒性試験	26
2.4.4.6	局所刺激性試験	27
2.4.4.7	その他の毒性試験	27
2.4.4.8	毒性試験の評価	28
2.4.5	総括及び結論	39
2.4.6	参考文献	41

略号一覧表

略号又は略称	化学名又は一般名	構造式	由来
ベダキリン	(1 <i>R</i> ,2 <i>S</i>)-1-(6-bromo-2-methoxy-3-quinoliny)-4-(dimethylamino)-2-(1-naphthalenyl)-1-phenyl-2-butanol		主薬
ベダキリンフマル酸塩	(1 <i>R</i> ,2 <i>S</i>)-1-(6-bromo-2-methoxy-3-quinoliny)-4-(dimethylamino)-2-(1-naphthalenyl)-1-phenyl-2-butanol のフマル酸塩 (1 : 1)		主薬のフマル酸塩

略号又は略称	名称及び内容
ALP	alkaline phosphatase (アルカリホスファターゼ)
ALT	alanine aminotransferase (アラニン・アミノトランスフェラーゼ)
AST	aspartate aminotransferase (アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ)
ATP	adenosine 5'-triphosphate (アデノシン 5'-三リン酸)
AUC	area under the plasma concentration-time curve (血漿中濃度－時間曲線下面積)
BCOP	bovine corneal opacity-permeability (ウシ角膜混濁及び透過性)
BCRP	breast cancer resistance protein (乳癌耐性タンパク質)
CAD	cationic amphiphilic drug (陽イオン性両親媒性薬物)
C _{max}	maximum plasma concentration (最高血漿中濃度)
CPK	creatine phosphokinase (クレアチンホスホキナーゼ)
cTnI	cardiac troponin I (心筋トロポニン I)
CYP	cytochrome P450 (チトクロームP450)
FDA	Food and Drug Administration (米国食品医薬品局)
GLP	Good Laboratory Practice (医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準)
HP-β-CD	hydroxypropyl-β-cyclodextrin (ヒドロキシプロピル-β-シクロデキストリン)
IC ₅₀	50% inhibitory concentration (50%阻害濃度)
ICH	International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use (医薬品規制調和国際会議)
I _{Kr}	rapidly activating component of the delayed rectifier potassium current (急速活性化型遅延整流カリウム電流)
I _{Ks}	slowly activating component of the delayed rectifier potassium current (緩徐活性化型遅延整流カリウム電流)
LC-MS/MS	liquid chromatography-tandem mass spectrometry (液体クロマトグラフィー－タンデム質量分析)
LDH	lactate dehydrogenase (乳酸脱水素酵素)
LLNA	local lymph node assay (局所リンパ節試験)
LSC	liquid scintillation counter (液体シンチレーションカウンタ)
M2	<i>N</i> -monodesmethyl-bedaquiline (<i>N</i> -モノ脱メチル化ベダキリン)
M3	<i>N</i> -didesmethyl-bedaquiline (<i>N</i> -ジ脱メチル化ベダキリン)
MATE	multidrug and toxin extrusion protein (多剤・毒性化合物排出タンパク質)
MDR-TB	multidrug resistant tuberculosis (多剤耐性結核)

略号又は略称	名称及び内容
MPS	mononuclear phagocyte system (単核性食細胞系)
MRP	multidrug resistant related protein (多剤耐性関連タンパク質)
OAT	organic anion transporter (有機アニオントランスポーター)
OATP	organic anion transporting polypeptide (有機アニオン輸送ポリペプチド)
OCT	organic cation transporter (有機カチオントランスポーター)
P-gp	P-glycoprotein (P-糖タンパク質)
QTc	QT interval corrected
QWBA	quantitative whole-body autoradiography (定量的全身オートラジオグラフィー)
SER	smooth endoplasmic reticulum (滑面小胞体)
SMQ	Standardized MedDRA Query (MedDRA標準検索式)
$t_{1/2}$	elimination half-life (消失半減期)
T/B	tissue to blood (組織/血液)
TK	toxicokinetics (トキシコキネティクス)
TLI	trypsin-like immunoreactivity (トリプシン様免疫活性)
T/P	tissue to plasma (組織/血漿)
$V_{d_{ss}}$	volume of distribution at steady state (定常状態における分布容積)

2.4.1 非臨床試験計画概略

ベダキリンフマル酸塩は、ベダキリンのフマル酸塩であり、Tibotec 社（現 Janssen Research & Development 社）が創製したジアリルキノリン系の新規抗結核薬である。ベダキリンは新規作用機序を有し、*Mycobacterium tuberculosis* (*M. tuberculosis*) のアデノシン 5'-三リン酸 (ATP) 合成酵素を特異的に阻害する。エネルギー生成に必須である ATP 合成酵素を阻害することで、増殖期及び休眠期の結核菌のいずれに対しても強い殺菌活性を示す。ベダキリンの抗菌スペクトルはマイコバクテリウム属に特異的である。

非臨床試験計画では、申請する適応症、投与経路（経口）及び投与方法（400 mg を 1 日 1 回 2 週間投与し、その後 200 mg を週 3 回 22 週間）を考慮した。

非臨床試験には、ベダキリン又はベダキリンフマル酸塩を用いた。さらに、ベダキリンの主代謝物である *N*-モノ脱メチル化ベダキリン (M2) 及び代謝物 *N*-ジ脱メチル化ベダキリン (M3) について評価した。*In vivo* 試験では、単回静脈内投与試験及び経皮投与による局所リンパ節試験 (LLNA) を除き、すべて経口投与により実施した。マウス、ラット、イヌ及びサルは経口及び静脈内投与では、ベダキリン又はベダキリンフマル酸塩を 10, 15, 20 又は 40% HP- β -CD に溶解、又は 0.5% カルボキシメチルセルロースナトリウム塩に懸濁し、ウサギの経口投与試験では 0.5% Methocel（ヒドロキシプロピルメチルセルロース）に懸濁して用いた。ベダキリンの用量は全てフリー体換算値として示す。

2.4.1.1 薬理試験

効力を裏付ける試験の詳細は【2.7.2.4】に記載した。

副次的薬理試験として、ベダキリンと各種受容体、イオンチャネル及びトランスポーターとの相互作用を検討した。安全性薬理試験は、*in vitro*（心血管系）及び *in vivo*（中枢神経系、心血管系、呼吸系）で検討した。*In vitro* 試験では、ベダキリンの心血管系に対する作用として、急速活性型遅延整流カリウム電流 (I_{Kr})、緩徐活性型遅延整流カリウム電流 (I_{Ks})、摘出モルモット右心房、摘出ウサギランゲンドルフ灌流心、摘出ウサギ左心室 wedge 標本に対する作用を検討した。*In vivo* 試験では、麻酔モルモット及び無麻酔イヌを用いて心血管系及び呼吸系に対する作用並びにラットを用いて中枢神経系に対する作用を検討した。

2.4.1.2 薬物動態試験

各動物種（マウス、ラット、ウサギ、イヌ及びサル）にベダキリン又はベダキリンフマル酸塩を投与したときの薬物動態について検討した。*In vitro* 試験では、結腸腺がん由来細胞株である Caco-2 細胞単層膜を用いた細胞膜透過性及び P-糖タンパク質 (P-gp) に対する影響、各動物種及びヒト由来試料を用いた血漿タンパク結合、血球移行及び代謝、ヒトにおける代謝酵素並びに主要な代謝酵素及び薬物トランスポーター [有機アニオン輸送ポリペプチド (OATP1B1 及び OATP1B3)、有機アニオントランスポーター (OAT1 及び OAT3)、有機カチオントランスポーター (OCT1 及び OCT2)、乳癌耐性タンパク質 (BCRP)、多剤耐性関連タンパク質 (MRP2)、多剤・毒性化合物排出タンパク質 (MATE1 及び MATE2-K)] に対する影響について検討した。

2.4.1.3 毒性試験

単回投与毒性はマウス、ラット及びイヌを用いて評価した。反復投与毒性はマウス（13週間まで）、ラット（26週間まで）及びイヌ（39週間まで）を用いて強制経口投与で評価した。すべての試験でトキシコキネティクス（TK）を評価した。遺伝毒性は、*in vitro* 試験として細菌を用いる復帰突然変異試験及びマウスリンフォーマ *Tk* 試験、*in vivo* 試験としてマウス骨髄小核試験で評価した。がん原性はラット 104 週間強制経口投与がん原性試験で評価した。試験開始前に、米国食品医薬品局（FDA）の Carcinogenicity Assessment Committee（CAC）とがん原性試験の試験実施計画書（用量選択根拠を含む）に関して協議した。マウスはベダキリンに対する忍容性が低く、M2 の生成の程度がヒトと異なることから、マウスがん原性試験は実施しなかった。生殖発生毒性は、ラット受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験、ラット及びウサギ胚・胎児発生に関する試験、ラット出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験、並びに幼若ラット反復投与試験で評価した。さらに、*in vitro* ウシ角膜混濁及び透過性（BCOP）試験、*in vitro* 及び *in vivo* 光毒性試験、マウス LLNA、ラット免疫毒性試験（T 細胞依存性抗体産生、宿主抵抗性試験）、毒性の機序検討試験、代謝物（M2）の反復投与毒性試験、不純物の毒性試験、*in vitro* 細胞毒性試験及びリン脂質症誘発性試験について評価した。主要な試験は GLP に準拠して実施した。

2.4.2 薬理試験

2.4.2.1 効力を裏付ける試験

ベダキリンは、新規作用機序を有するジアリルキノリン系の抗結核薬であり、多剤感受性及び耐性 *M. tuberculosis* に対して殺菌活性を有する。

ベダキリンは、*M. tuberculosis* 以外のマイコバクテリウム属 (*M. ulcerans*, *M. avium complex*, *M. kansasii*, *M. fortuitum* 及び *M. abscessus*) に対しても抗菌活性を示すが、その他の細菌 (*Escherichia coli* 及び *Staphylococcus aureus* 等) に対しては抗菌活性を示さない。

M. tuberculosis に対するベダキリンの作用機序は、ATP 合成酵素の F0 サブユニットに作用し ATP 合成を阻害する。この新規の作用機序から、既存の抗結核薬に耐性の *M. tuberculosis* はベダキリンに対して交差耐性を示さず、ベダキリンは多剤耐性 *M. tuberculosis* に対して感受性菌と同様の抗菌活性が期待できる。ベダキリンに対する *M. tuberculosis* の耐性機序は、標的分子である ATP 合成酵素の変異及び薬剤排出ポンプの過剰発現である。

ベダキリンは、増殖期及び休眠期 *M. tuberculosis* に対して *in vitro* 殺菌作用を示す。マウス及びモルモットを用いた *M. tuberculosis* 感染モデルにおいて、ベダキリン単独投与及び既存の抗結核薬との併用投与で *in vivo* 殺菌作用が認められた。

ベダキリンの代謝物 M2 及び M3 の *in vitro* 抗菌活性は、それぞれベダキリンの 1/4~1/7 及び 1/100~1/300 であった。

2.4.2.2 副次的薬理試験

ベダキリンの副次的薬理試験を *in vitro* で検討した。

ベダキリンと各種受容体、イオンチャネル又はトランスポーターとの *in vitro* 相互作用を検討した。ベダキリンとの相互作用（対照の特異的結合を>50%阻害）を示したのはヒスタミン 2 受容体、ナトリウムチャネル及びドパミントランスポーターのみであった。

2.4.2.3 安全性薬理試験

ベダキリンの安全性薬理試験を *in vitro* 及び *in vivo* で検討した。

2.4.2.3.1 心血管系に及ぼす影響

ベダキリン及び M2 は、*in vitro* で I_{Kr} 及び I_{Ks} を阻害したが、*in vitro* 及び *in vivo* で心筋細胞の再分極を遅延させず、無麻酔イヌにおいて心電図波形に影響を及ぼさなかった。麻酔モルモットにおいて、ベダキリンは心拍数を増加させ、QT 間隔を短縮させた。摘出ウサギランゲンドルフ灌流心におけるベダキリンの無作用量は 3 $\mu\text{mol/L}$ (1.7 $\mu\text{g/mL}$) であった。この試験では 0.3 $\mu\text{mol/L}$ (0.2 $\mu\text{g/mL}$) の濃度で心室頻拍が 1/6 例にみられたが、濃度依存性はなかった。しかし、摘出ウサギ左心室 wedge 標本において、ベダキリンは 10 $\mu\text{mol/L}$ (5.6 $\mu\text{g/mL}$) まで、M2 は 1 $\mu\text{mol/L}$ (0.5 $\mu\text{g/mL}$) まで、有意な影響を及ぼさなかった。摘出ウサギランゲンドルフ灌流心において、ベダキリンは 10 $\mu\text{mol/L}$ (5.6 $\mu\text{g/mL}$) で冠血流量を減少させたため、高濃度では血管収縮が生じ

る可能性がある。事実、麻酔モルモットにおいて、ベダキリンは 1.25 mg/kg 以上で一過性の血圧上昇を示した。無麻酔イヌにおいて、ベダキリンは同程度の曝露量 (1.76 µg/mL) で全身血管抵抗の増加傾向を示したが、血圧を上昇させず、心電図波形にも影響を及ぼさなかった。

2.4.2.3.2 QT 延長の評価

ベダキリン及び代謝物 M2 が *in vitro* で I_{Kr} を阻害したため、イヌ反復投与毒性試験 (9 カ月間まで) において *in vivo* の心電図を評価した。その結果、1 試験を除き、心電図検査で QT 間隔の延長は認められなかった。イヌ 2 及び 6 カ月間反復経口投与機序検討試験では、ベダキリンフマル酸塩を 0, 10 及び 40/20 mg/kg/日の用量で連日投与、又は 140 mg/kg/日の用量で週 2 回投与した。

10 mg/kg/日の連日投与及び 140 mg/kg/日週 2 回投与では、6 カ月間の試験期間中に QT 間隔及び心拍数への影響は認められなかった。しかし、40 mg/kg/日群では、投与 8 週に心拍数減少及び QT 間隔の延長がみられ、心拍数で補正した QTc 間隔も延長した。しかし、20 mg/kg/日へ減量後の投与 13 週には、心拍数減少による QT 間隔の延長は小さくなり、QTc 間隔への影響は認められなかった。投与 6 カ月目の心電図検査では本薬投与による変化は認められなかった。さらに、イヌ 6 カ月間反復投与試験よりも高い曝露量が得られたイヌ 9 カ月間反復投与試験において、ベダキリンは 18 mg/kg/日 (最高用量) まで QT/QTc 間隔に影響を及ぼさなかった。この用量における 39 週間投与後の AUC_{24h} の雌雄平均値はベダキリンが 173 µg·h/mL, M2 が 53.0 µg·h/mL であり、ヒト曝露量 (C208 試験 stage 1, AUC : 22 µg·h/mL) の約 8 倍であった。

外国人健康成人を対象とした QT/QTc 評価試験 (TBC1003 試験) において、ベダキリン 800 mg (臨床用量を上回る用量)、プラセボ及びモキシフロキサシン 400 mg (陽性対照) を単回投与した結果、ベダキリンは QT に影響を及ぼさなかったが、海外第 IIb 相試験及び TBC2001 試験において、有害事象として心電図 QT 延長が認められた【2.5.5.4.4】。

2.4.2.3.3 呼吸系に及ぼす影響

テレメトリー装着イヌにおいて、ベダキリンは 160 mg/kg まで単回経口投与しても呼吸系に影響を及ぼさなかった。160 mg/kg 群における投与 6 時間後の血漿中ベダキリン濃度 (平均値) は 4.9 µg/mL, AUC_{6h} は 18.3 µg·h/mL であり、ヒト曝露量 (C208 試験 stage 1, C_{max} : 1.66 µg/mL, AUC : 22 µg·h/mL) のそれぞれ 3 倍及び 0.83 倍であった。

2.4.2.3.4 中枢神経系に及ぼす影響

ラットにおいて、ベダキリンは 200 mg/kg まで単回経口投与しても中枢神経系に影響を及ぼさなかった。800 mg/kg で行動 (自発運動量の増加、警戒性の亢進、驚愕反応の消失) 及び自律神経系 (閉眼、流涎、下痢、立毛) への軽微な作用がみられた。毒性学的所見は認められず、遅発性神経毒性の懸念はなかった。

ラット単回経口投与毒性試験【2.6.6.2.4】における 200 mg/kg 投与後の C_{max} は 3.3 µg/mL, AUC_{inf} は 132 µg·h/mL であり、ヒト曝露量 (C208 試験 stage 1) のそれぞれ 2 倍及び 6 倍であった。

テレメトリー装着イヌにおいて、ベダキリンは 160 mg/kg まで単回経口投与しても自発運動量に影響を及ぼさなかった。160 mg/kg 群における投与 6 時間後の血漿中ベダキリン濃度は 4.9 µg/mL, AUC_{6h} は 18.3 µg·h/mL であり、ヒト曝露量 (C208 試験 stage 1) のそれぞれ 3 倍及び 0.83 倍であった。

2.4.3 薬物動態試験

ベダキリンの非臨床薬物動態は一連の *in vitro* 及び *in vivo* 試験で検討した。*In vivo* 試験では、マウス、ラット、ウサギ、イヌ及びサルにベダキリン又はベダキリンフマル酸塩を投与し、hepatic reductase null (HRN)TMマウス、有色ラット及びカニクイザルを除き、非臨床薬理及び毒性試験と同じ動物種及び系統を用いた。

2.4.3.1 分析法

2.4.3.1.1 非標識体

ベダキリン及び M2 の血漿中濃度は、バリデーションされた液体クロマトグラフィー-タンデム質量分析 (LC-MS/MS) 法で測定した (定量下限: それぞれ 0.001~0.1 及び 0.01~0.1 µg/mL)。なお、M3 並びに一部の試験でのベダキリン及び M2 の血漿中濃度、並びにベダキリン及び M2 の組織内濃度は各試験の報告書に記載されている qualified LC-MS/MS 法で測定した [定量下限; ベダキリン: 0.001~0.1 µg/mL (血漿), 0.001~0.1 µg/g (組織), M2: 0.001~0.01 µg/mL (血漿), 0.01~2 µg/g (組織), M3: 0.001 µg/mL (血漿)]。

2.4.3.1.2 標識体

放射能濃度は液体シンチレーションカウンタ (LSC: 定量下限はバックグラウンド+10×(バックグラウンド/4)^{1/2}) 又は定量的全身オートラジオグラフィー (QWBA: 定量下限は 0.05 µg eq./g) 法で測定した。

2.4.3.2 吸収

Caco-2 細胞単層膜におけるベダキリン及び M2 の細胞膜透過性は低かった。また、ベダキリン及び M2 は P-gp による輸送を受けにくく、いずれも高濃度 (それぞれ 100 および 50~100 µmol/L) で ³H-パクリタキセル (P-gp 基質) の輸送を阻害した。しかし、その阻害濃度は多剤耐性結核 (MDR-TB) 肺結核患者にベダキリンを臨床用量で経口投与した C208 試験 stage 1 及び TBC2001 試験のベダキリンの C_{max} (それぞれ約 5.9 及び 11.8 µmol/L) のそれぞれ約 16.9 及び 8.5 倍高く、並びに M2 の C_{max} (それぞれ約 0.83 及び 0.82 µmol/L) のそれぞれ約 60.2 及び 61.0 倍高かったことから【2.7.2.2.2(2)1a)及び2.7.2.2.2.3(1)1)】、ベダキリン及び M2 ともに P-gp を顕著に阻害する可能性は低いと考えられた。

マウス、ラット、イヌ及びサルにベダキリン又はベダキリンフマル酸塩を単回経口投与したとき、ベダキリンの C_{max} は概して投与後 8 時間までに得られたが、ラットの高用量群 (800 mg/kg) では投与 24 時間後となった。ベダキリンの消失は緩やかであったため、試料採取時間が短かった試験では消失半減期 (t_{1/2}) は適切に推定されていない可能性が考えられた。M2 の血漿中濃度は概して投与後 4~8 時間から 24 時間まで平坦な推移を示し、M2 の消失は緩やかであった。ベダキリン及び M2 の長い t_{1/2} は、両化合物の組織からの緩やかな消失と関連していると考えられた。ベダキリン及び M2 の曝露量はいずれの動物種においても用量の増加とともに増加し、マウスでは M2 の方がベダキリンよりも高かったが、イヌ及びサルではベダキリンと同程度又は

やや低かった。

HRNTM 及び C57BL/6 (wild type) マウスにベダキリンフマル酸塩を単回経口投与したとき、ベダキリンの曝露量は HRNTM マウスの方が C57BL/6 マウスよりも高かった。一方、HRNTM マウスにおける M2 の曝露量は C57BL/6 マウスよりも低かったものの、HRNTM マウスにおいても M2 への代謝が認められたことから、ベダキリンから M2 への代謝には肝臓中の還元酵素以外も関与すると考えられた。

マウス、ラット及びイヌにベダキリン又はベダキリンフマル酸塩を反復経口投与したとき、ベダキリンの C_{max} は概して投与後 11 時間までに得られた後、緩やかに消失し、累積比は 0.95～1.18, 0.9～3.4 及び 1.6～6.9 であった。ベダキリン及び M2 の曝露量は用量の増加とともに増加し、マウスでは M2 の方がベダキリンよりも高かったが、ラット及びイヌでは M2 はベダキリンと同程度又はやや低かった。マウス及びイヌにベダキリンフマル酸塩を反復経口投与したとき、それぞれ試験 28 日及び 13 週までに定常状態に達していると考えられた。

ベダキリン及び M2 の曝露量はマウス及びイヌで顕著な性差は認められず、M3 の曝露量はイヌで顕著な性差は認められなかった。一方、ラットではベダキリン及び M2 は概して雌の方が雄よりも高かった。また、幼若ラットのベダキリン及び M2 の曝露量は、試験 1 日では顕著な性差はなかったが、試験 37 日では雌の方が雄よりも高かった。M3 の曝露量はベダキリン及び M2 よりも低く、顕著な性差は認められなかった。代謝の項で後述するように、ヒト肝ミクロソームにおけるベダキリンの主代謝酵素はチトクローム P450 (CYP) 3A4 であったことから、ラットで認められたベダキリン及び M2 の曝露量の性差は CYP3A2 活性の性差¹⁾によるものと考えられた。

2.4.3.3 分布

マウス、ラット、イヌ及びサルにベダキリンを単回静脈内投与したとき、定常状態における分布容積 (V_{dss}) から、ベダキリンはいずれの動物種においても組織に広範に分布することが示唆された。

ラット及びサルに ¹⁴C-ベダキリン又はベダキリンフマル酸塩を単回経口投与したとき、放射能は組織に広範に分布し、 C_{max} は多くの組織で投与後 24 時間までに得られた。放射能の AUC は概して副腎及び肺で高く、脳で低かった。概して、放射能濃度はほとんどの組織で血漿中濃度と並行して低下した。また、ベダキリン及び M2 の C_{max} は投与後 24 時間までに得られ、ラットにおけるベダキリン及び M2 の組織内濃度は、概して雌の方が雄よりも高かった。

雄有色ラットに ¹⁴C-ベダキリンを単回経口投与したとき、放射能 AUC の T/B 比は白色皮膚よりも有色皮膚の方が高かったが、放射能濃度は投与後 336 時間までに減少したことから、本薬とメラニンとの結合は可逆的であることが示唆された。

妊娠ラットに ¹⁴C-ベダキリンを単回経口投与したとき、胎児における放射能 AUC_{96h} の T/P 比は 0.4 であり、¹⁴C-ベダキリン由来化合物の胎児への移行は少なかった。

マウス、ラット及びイヌにベダキリン又はベダキリンフマル酸塩を反復経口投与したとき、ベダキリン及び M2 は組織に広範に分布し、概してその濃度は肺、脾臓、リンパ節及び胸腺で高く、組織内濃度は概して M2 の方がベダキリンよりも高かった。ベダキリン及び M2 は脂溶性 ($\log D > 4$) で、 pK_a が約 9 の陽イオン性両親媒性薬物 (CAD) の特徴を有している。In vitro 試験において、陽イオン性両親媒性の特徴をもつベダキリン及び M2 が細胞内に取込まれると、リ

リソソーム内でプロトン化されてリン脂質と複合体を形成して組織にリソソーム内に蓄積する^{2), 3)}。このとき、リン脂質症を誘発するが、M2の誘発能がベダキリンよりも高かったことは、M2の組織内濃度がベダキリンよりも高かったことと一致した【2.4.4.8.3.1】。各組織のベダキリン及びM2の曝露量は用量の増加とともに増加した。また、ラットにおけるベダキリン及びM2の組織内濃度は、概して雌の方が雄よりも高かった。

妊娠したラット及びウサギにベダキリン又はベダキリンフマル酸塩を反復経口投与したとき、曝露量はベダキリンの方がM2よりも高く、これらの曝露量は用量の増加とともに増加した。また、ラットの出生前及び出生後の発生に関する試験では、分娩後に溶媒群の母動物の出生児をベダキリン投与群の母動物に交叉哺育させた出生児におけるベダキリンの曝露量が母動物よりも高かったことから、母動物の乳汁を介した曝露が示唆された。

マウス、ラット、ウサギ、イヌ、サル及びヒトにおけるベダキリンの *in vitro* 血漿中タンパク結合率は99%以上で、その結合率はベダキリン濃度に非依存的であった。また、ヒトにおけるM2の *in vitro* 血漿中タンパク結合率は99%以上であった。

ラット、イヌ及びサルに ¹⁴C-ベダキリンを単回経口投与したとき、血液/血漿中濃度比は低かった。また、ヒト血液に ³H-M2を添加したときの血液/血漿中濃度比は1付近であった。

2.4.3.4 代謝

非臨床試験で用いたすべての動物種及びヒトにおいて、ベダキリンの主要な代謝経路は *N*-メ脱メチル化であり、主要な代謝物はM2であった。M2はさらに *N*-脱メチル化されてM3が生成され、ヒトではベダキリンが酸化されたM1も生成されたが、M1は雌雄マウス、雌雄ラット及び雌ウサギでも認められ、ヒト特異的代謝物はなかった。

ベダキリン及びM2の主要な代謝酵素は、CYP3A4であった。

ラット、イヌ及びサルに ¹⁴C-ベダキリン又はベダキリンフマル酸塩を単回経口投与したとき、血漿中での主要な成分はベダキリンであった。サルでは代謝物はM23 (*in vitro* 試験ではM2に該当)のみ測定したが、ラット及びイヌではM23 (M2)が主要代謝物と考えられた。また、いずれの動物種も糞中にはベダキリンが最も多く、ラットでは投与後24時間までに最も多く認められた。しかし、胆管カニューレを施した雄ラットに ¹⁴C-ベダキリンを単回経口投与したとき、投与後24時間までに胆汁中に排泄されたベダキリンは少なかったことから、糞中には未吸収のベダキリンも含まれると考えられた。尿中代謝物はラットでのみ検討し、ベダキリン及び代謝物ともに非常に少なかった。

マウス、ラット、イヌ、サル及びヒトにベダキリン (RS 体) を経口投与したとき、血漿中にベダキリンのキラール変換 (RR 及び SS 体) は認められなかった。

ヒト肝細胞におけるベダキリンの CYP 活性誘導能は CYP2C9 及び CYP2E1 で認められたが、顕著ではなかった。また、ヒト肝ミクロソームにおけるベダキリンの CYP 活性阻害能について、CYP1A2 に対する 50% 阻害濃度 (IC₅₀) は 164 µmol/L で、CYP2C8 及び CYP2C9 活性に対しては 100 µmol/L でそれぞれ 7 及び 30% 阻害した。さらに、mechanism-based inhibition は検討したすべての CYP 分子種で認められなかった。一方、M2 の IC₅₀ は、CYP2B6、CYP2D6、CYP2C19 及び CYP3A4 に対してそれぞれ 2.6、5.2、13.1 及び 9.2 µmol/L で、CYP3A4/5 に対して 39.6~47.1 µmol/L であった。しかし、これらの阻害濃度は MDR-TB 肺結核患者にベダキリンを臨床用量で

経口投与した C208 試験 stage 1 及び TBC2001 試験のベダキリンの $C_{\max}$ （それぞれ約 5.9 及び 11.8 $\mu\text{mol/L}$ ）よりも約 17.0 及び 8.5 倍以上高く、M2 の $C_{\max}$ （それぞれ約 0.83 及び 0.82 $\mu\text{mol/L}$ ）よりも約 6 倍以上高かった（CYP2B6 を除く）【2.7.2.2.2(2)1a)及び 2.7.2.2.3(1)1)】。また、CYP2B6 で主に代謝されるネビラピンを併用投与したとき、ネビラピンの曝露量 (C_{0h}) は変動しなかった【2.7.2.2.5(5)】。これらのことから、ベダキリン及び M2 は、CYP 活性を顕著に阻害する可能性は低いと考えられた。また、MDR-TB 肺結核患者にベダキリンを臨床用量で経口投与した TBC2001 試験では、M2 の曝露量はベダキリンの約 1/8 であり、ラット及びイヌ（1/2～同程度）に比べてヒトでは非常に低かった【5.3.5.2.3】。

ラット及びイヌにベダキリンを反復経口投与したとき、ベダキリンは肝ミクロソームタンパク含量、CYP 含量、肝ミクロソームタンパク 1 mg 当たりの 7-ペントキシレゾルフィン O-脱ペンチル化活性（CYP2B）、並びに高用量（24（ラット）及び 40 mg/kg（イヌ））でのみチロキシシン UDP グルクロノシルトランスフェラーゼ活性を有意に増加させた。

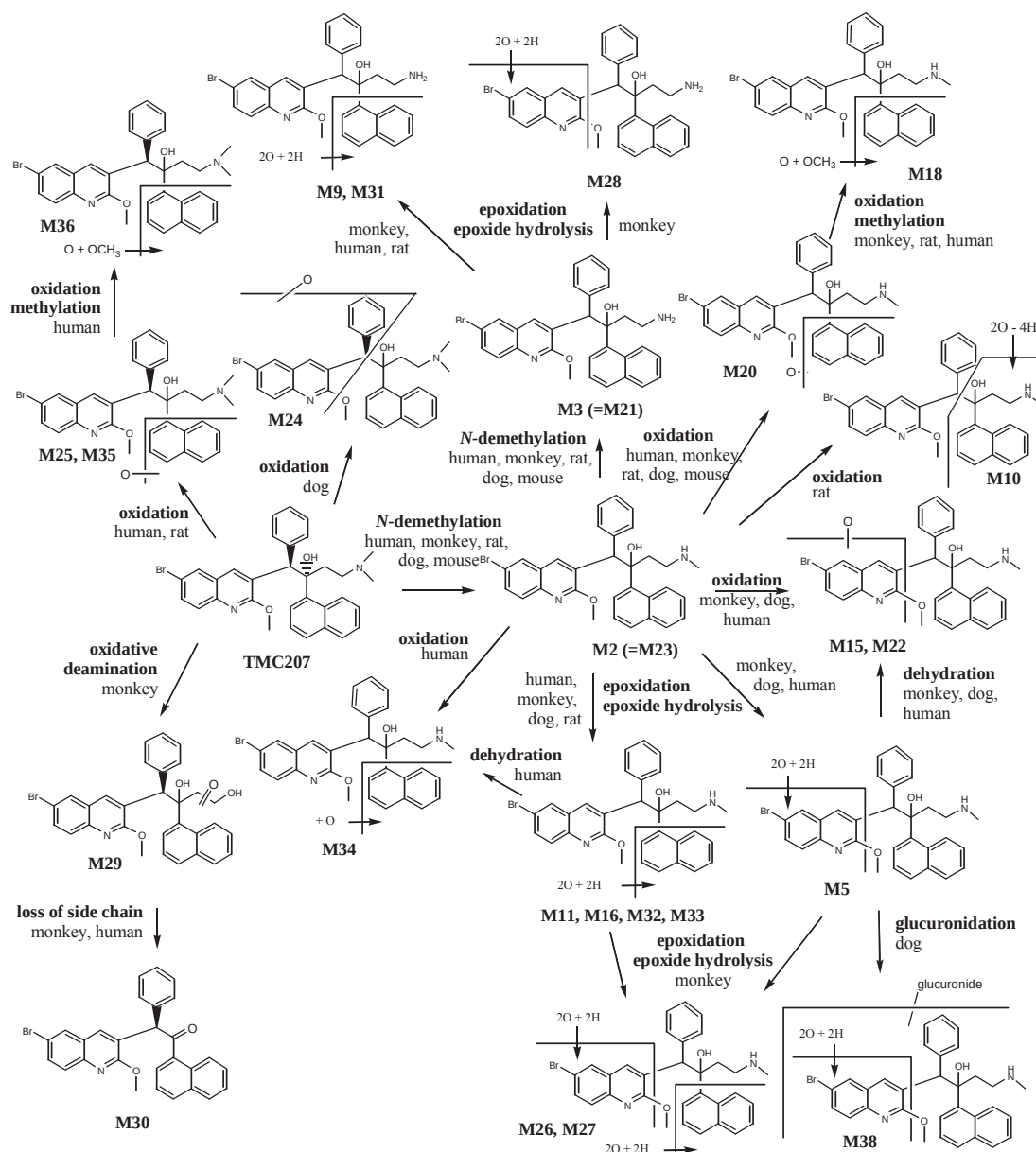


図 2.4.3-1 ベダキリンの推定代謝経路 (in vivo)

2.4.3.5 排泄

ラット、イヌ及びサルに ^{14}C -ベダキリン又はベダキリンフマル酸塩を単回経口投与したとき、放射能の排泄は緩やかであり、主要な排泄経路は糞中であつた。ラットでは投与後 48 時間までに胆汁中に排泄された放射能は少なかった (11.1% of dose)。一方、尿中排泄率はいずれの動物種においても数% of dose とわずかであつた。

ラットの出生前及び出生後の発生に関する試験では、母動物にベダキリンフマル酸塩を反復経口投与したとき、乳汁中濃度はベダキリンの方が M2 よりも高かつた。

2.4.3.6 薬物動態学的薬物相互作用

ベダキリンと併用投与したとき、ベダキリンの代謝を阻害する可能性のある薬剤 (33 種類) について、ヒト肝ミクロソームを用いて検討したところ、リトナビル、イトラコナゾール、アンブレナビル及びアタザナビル (IC_{50} : 1 $\mu\text{g/mL}$ 未満)、並びにインディナビル、ネルフィナビル及びデラビルジン (IC_{50} : 1.57~2.35 $\mu\text{g/mL}$) は、临床上重大な薬物動態学的薬物相互作用が起こる可能性が考えられた。リファンピン、エファビレンツ、シルデナフィル、イシオナジド、リファブチン及びネビラピンもまた、ベダキリンの代謝を阻害する可能性が考えられた。M2 の生成は、ベダキリンの代謝を阻害した薬物のうち、ネビラピンを除くすべての薬物によって阻害され、その IC_{50} はベダキリンと同程度であつた。一方、他の薬物はベダキリンの代謝及び M2 の生成に影響を及ぼす可能性は低いと考えられた。なお、健康被験者に CYP3A4 の強力な阻害剤であるケトコナゾールを 400 mg で 1 日 1 回 3 日間投与したとき、ベダキリンの曝露量の増加はわずかであつた ($\text{AUC}_{24\text{h}}$ 及び C_{max} : それぞれ 22 及び 9% 増加) 【2.7.2.2.2.5(3)】。

2.4.3.7 その他の薬物動態試験

トランスポーター基質としてのベダキリン及び M2 の相互作用

ベダキリン及び M2 は BCRP 及び MRP2 の基質とならなかった。一方、M2 は OATP1B1/1B3 の基質とならなかったが、ベダキリンは OATP1B1/1B3 阻害剤であるリファマイシン SV によって 30~46% 阻害されたが (エストロン-3-硫酸による阻害はなし)、OATP1B1 及び OATP1B3 の基質であるエストラジオール-17 β -D-グルクロン酸抱合の阻害率 (57~73%) よりも低く、OATP1B1/1B3 に対する基質性は低いと考えられた。このため、OATP1B1 及び OATP1B3 阻害剤を併用したとき、薬物動態学的薬物相互作用が起こる可能性は否定できないものの、临床上重大な影響を及ぼす可能性は低いと考えられた。また、ベダキリン及び M2 は OCT1 阻害剤であるデシニウム 22 によってそれぞれ 38~51 及び 11~27% 阻害されたが (プラゾシンによる阻害はなし)、OCT1 の基質である 1-メチル-4-フェニルピリジニウムの阻害率 (73~85%) よりも低く、OCT1 に対する基質性は低いと考えられた。しかし、OCT1 の強力な阻害剤は現時点で特定されていないため、*in vivo* で临床上重大な薬物動態学的薬物相互作用が起こる可能性について結論づけることはできない。

トランスポーター阻害薬としてのベダキリン及び M2 の相互作用

OATP1B1/1B3 及び OCT1 は、ベダキリン (9 $\mu\text{mol/L}$) 及び M2 (9.0~9.5 $\mu\text{mol/L}$) によって顕著に阻害されなかった。

ベダキリン (40 $\mu\text{mol/L}$) は OAT1, OAT3, OCT2 及び MATE2-K をそれぞれ 1.0, 20, 0.5 及び 29.7%阻害し、BCRP を 94 $\mu\text{mol/L}$ の IC_{50} で阻害したが、MATE1 を阻害しなかった。また、M2 (20 $\mu\text{mol/L}$) は MATE2-K 及び BCRP をそれぞれ 2.5 及び 39%阻害したが、OAT1, OAT3, OCT2 及び MATE1 を阻害しなかった。ベダキリン及び M2 は尿中にほとんど排泄されなかったことから【2.7.2.2.2.1(2)】，腎排泄に関連したトランスポーターである OAT1, OAT3, OCT2 及び MATE2-K の基質と併用投与しても、*in vivo* で临床上重大な薬物動態学的薬物相互作用が起こる可能性は低いと考えられた。また、BCRP を阻害したベダキリンの阻害濃度は、MDR-TB 肺結核患者にベダキリンを臨床用量で経口投与した C208 試験 stage 1 及び TBC2001 試験のベダキリンの C_{max} (それぞれ約 5.9 及び 11.8 $\mu\text{mol/L}$) の約 16 及び 8 倍であったことから

【2.7.2.2.2.2(1)a)及び2.7.2.2.2.3(1)1)】，临床上重大な薬物動態学的薬物相互作用が起こる可能性は低いと考えられた。

2.4.3.8 動物とヒトとの曝露比

ヒトとの曝露量の比較は、各動物種で最も長い投与期間の反復投与毒性試験で行った。ヒトにおける主要な代謝物は M2 及び M3 であったため、ベダキリン及び M2 の曝露量、動物/ヒトの曝露量比並びに無毒性量又は最小毒性量を表 2.4.3-1 に、M3 の曝露量、動物/ヒト曝露量比及び無毒性量を表 2.4.3-2 に示す。

MDR-TB 肺結核患者にベダキリンを 400 mg の用量で 1 日 1 回 2 週間投与後、200 mg の用量で週 2 回 6 週間投与したとき (C208 試験 stage 1)，投与 8 週間後のベダキリン及び M2 の C_{max} はそれぞれ 1.66 及び 0.30 $\mu\text{g/mL}$ ， $\text{AUC}_{24\text{h}}$ はそれぞれ約 22 及び 6 $\mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$ であった ($\text{AUC}_{24\text{h}}$ は $\text{AUC}_{48\text{h}}$ を 2 で除して算出)。MDR-TB 肺結核患者にベダキリンを 400 mg の用量で 1 日 1 回 2 週間投与後、200 mg の用量で週 3 回 22 週間投与したとき (C208 試験 stage 2)，投与 24 週間後のベダキリン及び M2 の曝露量 (C_{max} ：それぞれ 1.3 及び 0.18 $\mu\text{g/mL}$ ， $\text{AUC}_{24\text{h}}$ ：それぞれ約 14 及び 3.64 $\mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$) は投与 8 週間後 (stage 1) より低かったため、表 2.4.3-1 に示した動物/ヒト曝露量比よりも大きくなった。なお、M3 の C_{max} 及び $\text{AUC}_{24\text{h}}$ は Stage 1 の投与 8 週間後に測定しなかったが、stage 2 の投与 24 週間後ではそれぞれ 0.1 $\mu\text{g/mL}$ 及び 1.95 $\mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$ であった ($\text{AUC}_{24\text{h}}$ は $\text{AUC}_{48\text{h}}$ を 2 で除して算出)。

毒性試験で用いた動物種におけるベダキリンの最大曝露量は、MDR-TB 肺結核患者に臨床用量で投与したときの全身曝露量と同程度から最大 9 倍であったが、マウス/ヒトの AUC 比は最大で 0.5 であった。

マウス及びイヌにおける M2 の最大曝露量は、MDR-TB 肺結核患者の 7~12 倍であった。動物/ヒトの AUC 比は、妊娠ウサギで最大 1.5 倍、ラット出生児で最大 4 倍、成熟ラット (母動物、妊娠動物) で最大 6~7 倍、幼若ラットで最大 9 倍であった。

ラット及びイヌにおける M3 の最大曝露量は、400 mg の用量で 1 日 1 回 2 週間及び 200 mg の用量で 1 日 1 回 22 週間投与した MDR-TB 肺結核患者の最大 9.5 倍であった。

表 2.4.3-1 動物とヒトとの曝露比（ベダキリン及び M2）

動物種	採取日 (日)	性	Dose (mg/kg/day)	ベダキリン				M2			
				C _{max} (µg/mL)	AUC _{24h} (µg·h/mL)	C _{max} 比	AUC _{24h} 比	C _{max} (µg/mL)	AUC _{24h} (µg·h/mL)	C _{max} 比*	AUC _{24h} 比*
マウス ^a	90	雄	5	0.45	3.38	0.3	0.2	0.53	11.7	1.8	1.8
			10（無毒性量）	0.58	7.12	0.3	0.3	1.23	26.6	4.1	4.4
			20	0.79	7.58	0.5	0.3	2.27	47.8	7.6	8.0
			30	0.75	11.2	0.5	0.5	3.63	70.8	12.1	11.8
		雌	5	0.30	4.01	0.2	0.2	0.38	8.14	1.3	1.4
			10（無毒性量）	1.10	6.43	0.7	0.3	1.15	17.9	3.8	3.0
			20	0.59	5.58	0.4	0.3	1.23	27.1	4.1	4.5
			30	0.79	7.89	0.5	0.4	2.22	43.0	7.4	7.2
ラット ^a	176	雄	5（最小毒性量）	0.69	6.62	0.4	0.3	0.27	5.07	0.9	0.8
			10	0.84	10.6	0.5	0.5	0.72	14.1	2.4	2.4
			20	1.48	17.4	0.9	0.8	1.04	21.8	3.5	3.6
			20 ^b	1.56	9.93 ^c	0.9	0.5	0.54	8.69 ^c	1.8	1.4
		雌	5（最小毒性量）	1.04	16.8	0.6	0.8	0.49	8.85	1.6	1.5
			10	2.36	36.1	1.4	1.6	0.96	20.0	3.2	3.3
			20	3.28	44.6	2.0	2.0	1.80	36.0	6.0	6.0
			20 ^b	2.38	23.3 ^c	1.4	1.1	0.56	9.89 ^c	1.9	1.6
ラット ^a	181	雄	2.5（無毒性量）	0.373	3.41	0.2	0.2	0.0765	1.51	0.3	0.3
			5（最小毒性量）	0.392	4.35	0.2	0.2	0.186	4.03	0.6	0.7
			10	1.29	14.6	0.8	0.7	0.498	10.7	1.7	1.8
			20	1.68	22.4	1.0	1.0	0.833	18.5	2.8	3.1
		雌	2.5（無毒性量）	0.462	6.62	0.3	0.3	0.0878	1.97	0.3	0.3
			5（最小毒性量）	0.990	16.1	0.6	0.7	0.228	5.16	0.8	0.9
			10	2.58	41.2	1.6	1.9	0.744	14.7	2.5	2.5
			20	3.72	66.3	2.2	3.0	2.09	43.7	7.0	7.3
妊娠ラット ^{d,e}	16/17	雌	5	1.13	15.6	0.7	0.7	0.17	3.39	0.6	0.6
			15（無毒性量）	2.99	50.2	1.8	2.3	0.56	12.1	1.9	2.0
			45	8.75	131	5.3	6.0	1.93	41.3	6.4	6.9
ラット ^{a,f}	授乳 6	母動物	5	0.37	6.09	0.2	0.3	0.13	2.59	0.4	0.4
			15（無毒性量）	1.32	22.4	0.8	1.0	0.49	11.2	1.6	1.9
			45	2.91	53.8	1.8	1.1	2.13	44.6	7.1	7.4
	6 日齢	出生児	5	1.14	23.4	0.7	1.1	0.24	5.26	0.8	0.9
			15（無毒性量）	3.18	58.1	1.9	2.6	0.65	13.5	2.2	2.3
			45	6.17	120	3.7	5.5	1.15	25.6	3.8	4.3
幼若ラット ^a	60 日齢 ^g	雄	5	0.45	4.25	0.3	0.2	0.16	2.61	0.5	0.4
			15（無毒性量）	1.17	13.1	0.7	0.6	0.55	10.5	1.8	1.8
			45	3.51	52.1	2.1	2.4	1.56	34.1	5.2	5.7
		雌	5	0.87	12.6	0.5	0.6	0.20	4.66	0.7	0.8
			15（無毒性量）	2.46	35.6	1.5	1.6	0.75	16.3	2.5	2.7
			45	5.73	103	3.5	4.7	2.43	55.1	8.1	9.2
妊娠ウサギ ^{d,h}	19/20	雌	10	0.094	1.03	0.06	0.05	0.023	0.45	0.08	0.08
			30（無毒性量）	0.30	4.01	0.2	0.2	0.085	1.66	0.3	0.3
			100	1.82	31.8	1.1	1.4	0.46	8.70	1.5	1.5
イヌ ^a	267	雄	2（無毒性量）	1.58	27.9	1.0	1.3	0.56	11.7	1.9	2.0
			6	3.08	60.9	1.9	2.8	1.32	27.8	4.4	4.6
			18	7.17	145	4.3	6.6	2.06	43.5	6.9	7.3
			14 ⁱ	4.41	51.1 ^j	2.7	2.3	1.74	33.0 ^j	5.8	12.8
		雌	2（無毒性量）	1.19	21.3	0.7	1.0	0.65	13.3	2.2	2.2
			6	3.75	59.7	2.3	2.7	2.00	40.5	6.7	6.8
			18	10.6	201	6.4	9.1	3.13	62.4	10.4	10.4
			14 ⁱ	5.60	62.8 ^j	3.4	2.9	2.11	39.9 ^j	7.0	6.7

*：動物/ヒトの曝露量比は臨床試験結果（C208 試験 stage 1 終了時）を用いて算出した。

^a：ベダキリンフマル酸塩投与^b：週 2 回投与^c：AUC_{24h}は AUC_{168h}を 7 で除して算出した。^d：ベダキリン投与^e：妊娠 6～17 日まで投与した。^f：出生前及び出生後の発生に関する試験：妊娠 6 日～授乳 20 日まで投与し、授乳 6 日に採血した。^g：24～60 日齢まで投与した。^h：妊娠 6～19 日まで投与した。ⁱ：週 3 回投与^j：AUC_{24h}は AUC_{168h}を 7 で除して算出した。

表 2.4.3-2 動物とヒトとの曝露比 (M3)

動物種	採取日 (日)	性	Dose (mg/kg/day)	M3			
				C _{max} (µg/mL)	AUC _{24h} (µg·h/mL)	C _{max} 比*	AUC _{24h} 比*
ラット ^{a, b}	授乳 6	母動物	5	0.052	1.15	0.5	0.6
			15 (無毒性量)	0.24	5.03	2.4	2.6
			30	0.45	9.62	4.5	4.9
			45	0.58	12.5	5.8	6.4
幼若ラット ^a	60 日齢 ^c	雄	5	0.042	0.87	0.4	0.4
			15 (無毒性量)	0.25	5.79	2.5	3.0
			45	0.79	18.5	7.9	9.5
		雌	5	0.058	1.11	0.6	0.6
			15 (無毒性量)	0.23	5.26	2.3	2.7
			45	0.76	17.0	7.6	8.7
イヌ ^a	267	雄	2 (無毒性量)	0.10	2.08	1.0	1.1
			6	0.19	4.09	1.9	2.1
			18	0.24	5.25	2.4	2.7
			14 ^d	0.36	7.32 ^e	3.6	3.8
		雌	2 (無毒性量)	0.12	2.65	1.2	1.4
			6	0.45	9.65	4.5	4.9
			18	0.36	7.28	3.6	3.7
			14 ^d	0.50	9.93 ^e	5.0	5.1

* : 動物/ヒトの曝露量比は、24 週目終了時の臨床試験結果 (C208 試験) を用いて算出した。

^a : ベダキリンフマル酸塩投与

^b : 出生前及び出生後の発生に関する試験 : 妊娠 6 日～授乳 6 日まで投与した。

^c : 24～60 日齢まで投与した。

^d : 週 3 回投与

^e : AUC_{24h} は AUC_{168h} を 7 で除して算出した。

2.4.4 毒性試験

ベダキリンの安全性は *in vitro* 及び *in vivo* 試験で評価した。毒性試験の一覧は毒性試験概要表【2.6.7.1】に示す。主要な試験は GLP に準拠して実施した。

2.4.4.1 単回投与毒性試験

単回投与毒性は、マウス単回強制経口投与試験及び単回静脈内投与試験（GLP 試験）、ラット単回強制経口投与試験（GLP 試験及び非 GLP 試験）及び単回静脈内投与試験（GLP 試験）、イヌ用量漸増単回強制経口投与試験（非 GLP 試験）で評価した。試験には HP- β -CD に溶解したベダキリンを用いた。

ベダキリンを単回強制経口投与したときの概略の致死量は、マウスでは雌雄とも 200～800 mg/kg【2.6.6.2.1】、ラットでは雄 800 mg/kg 及び雌>800 mg/kg【2.6.6.2.3, 2.6.6.2.4】、イヌでは雌雄とも>300 mg/kg であった【2.6.6.2.6】。主な所見として、マウスでは軟便、活動性低下、状態悪化、チアノーゼ、体温低下、立毛、眼瞼下垂、くぼんだ眼、体重減少、悪液質、肝臓の退色、腫大、小葉中心性肝細胞肥大及び単細胞性肝細胞壊死、小腸の暗色内容物がみられた。ラットでは流涎、立毛、眼瞼下垂、泌尿生殖器部位の濡れ、被毛粗剛、色素涙、糞便の減少、鼻部痂皮、状態悪化、体重減少、網状赤血球増加、好中球増加、リンパ球減少、無機 P 減少、AST 及び Ca の増加、肝臓重量増加並びに胸腺小型がみられた。イヌでは流涎及び嘔吐がみられた。

ベダキリンを単回静脈内投与したときの概略の致死量は、マウスでは雌雄とも>50 mg/kg【2.6.6.2.2】、ラットでは雌雄とも>25 mg/kg であった【2.6.6.2.5】。主な所見として、マウスでは尾部入れ墨部の炎症、立毛及び眼瞼下垂、ラットで赤色尿及び体重低値がみられた。

2.4.4.2 反復投与毒性試験

反復投与毒性は、C57BL/6 又は CD-1 マウス、Sprague Dawley ラット及びビーグル犬に、HP- β -CD に溶解したベダキリン又はベダキリンフマル酸塩を強制経口投与して評価した。主要な試験（GLP 試験）として、マウス 13 週間投与試験、ラット 1 カ月間、13 週間及び 26 週間投与試験、イヌ 1 カ月間、13 及び 26 週間、2 及び 6 カ月間（機序検討試験）並びに 39 週間投与試験を実施した。反復投与後の回復性は、ラット及びイヌで検討した。

反復投与毒性試験におけるベダキリンの主な標的器官は、単核性食細胞系（MPS）（マウス、ラット、イヌ）、骨格筋（マウス、ラット、イヌ）、肝臓（マウス、ラット、イヌ）、胃（マウス、イヌ）、脾臓（マウス、イヌ）及び心筋（イヌ）と考えられた。所見の多くは長期連日投与後に認められ、本薬の長い半減期による血漿中濃度及び組織内濃度の増加に関連していると考えられた。ラット及びイヌにおいて間欠投与は連日投与より忍容性が良好であり、毒性も弱かった。ベダキリンは長い半減期及び広範な組織内分布を示すにもかかわらず、休薬 1 又は 3 カ月後又は高用量から減量した後には、所見の回復又は回復傾向がみられた。上記の標的器官のほか、眼、腎臓、精巣及び甲状腺の変化もみられたが、1 試験のみの変化であるか他の所見に続発するものであるため、重要性は低いと考え、標的器官とは判断しなかった。

2.4.4.2.1 マウス

マウス 13 週間投与試験【2.6.6.3.3】では、ベダキリンフマル酸塩を 0, 5, 10, 20 及び 30 mg/kg/日の用量で連日投与した。30 mg/kg/日群では忍容性が認められず、投与 13 週に雄 5 例及び雌 1 例が状態悪化のため切迫屠殺された。状態悪化の主な原因は骨格筋の変性/壊死と考えられた。同様な変化は、28 日間投与試験【2.6.6.3.2】の 30 及び 60 mg/kg/日群、5 日間投与試験【2.6.6.3.1】の 100 mg/kg/日群でもみられた。マウスでは概して投与期間が長くなるに従って忍容性が低下した。

マウス 13 週間投与試験【2.6.6.3.3】では、20 mg/kg/日以上で小葉中心性肝細胞肥大がみられ、20 mg/kg/日以上群の肝臓重量の増加及び 30 mg/kg/日群の ALT 及び AST の増加と関連していた。これらの変化は、ときに肝毒性（20 mg/kg/日以上群の単細胞壊死及び壊死、30 mg/kg/日群の肉芽腫性炎症等）を伴っていた。20 mg/kg/日以上群では用量依存的な骨格筋の変性及び炎症がみられ、30 mg/kg/日群では CPK の増加もみられた。30 mg/kg/日群の雄では胃腺窩上皮細胞の萎縮/変性がみられた。また、雄の少数例では膵腺房細胞の単細胞壊死が総アミラーゼの増加とともにみられた。脾臓では赤脾髄の過形成がみられ、雌では脾臓重量の増加もみられた。さらに、10 mg/kg/日以上群では用量依存的な MPS の増生が肺、リンパ節又は脾臓にみられた。また、顆粒球浸潤及び炎症が、ときに膿瘍を伴って、リンパ系組織（脾臓及びリンパ節）、雌生殖器及び唾液腺でみられた。炎症性変化の多くは 30 mg/kg/日群でみられ、末梢血好中球の増加と関連していた。10 mg/kg/日群の MPS の変化は適応性変化と考え、本試験の無毒性量は 10 mg/kg/日と判断した。無毒性量における曝露量（AUC_{24h}）は、ベダキリンで雄 7.1 µg·h/mL 及び雌 6.4 µg·h/mL、M2 で雄 26.6 µg·h/mL 及び雌 17.9 µg·h/mL であり、M2 の曝露量はベダキリンの 2.8 ～3.7 倍であった。

マウス反復投与毒性試験における病理組織所見の要約を表 2.4.4-1 に示す。なお、代謝物 M2 との比較試験の結果は表 2.4.3-1 に示す。

表 2.4.4-1 マウス反復投与毒性試験における病理組織所見の要約

投与期間	所見	ベダキリン投与量 (mg/kg/日)							
		0	5	10	20	30	60	80	100
5 日間 2.6.6.3.1 非 GLP	MPS:肥大/空胞化/増生;肺, リンパ節	-		-		-	MF		MF
	骨格筋:変性, 壊死	-		-		-	-		MF
	胃:変性	-		-		-	MF		MF
	脾臓(腺房細胞):壊死/微小空胞化	-		-		-	-		MF
	肝臓:肝細胞肥大	-		-		-	M1		MF
5 日間 2.6.6.8.3.1 非 GLP	骨格筋:変性/壊死	-						MF	MF
	胃:変性	-						MF	MF
	肝臓:肝細胞肥大	-						-	MF
28 日間 2.6.6.3.2 非 GLP	MPS:肥大/空胞化/増生;肺, リンパ節, 骨格筋, 舌	-				MF	MF ^a		
	骨格筋(舌を含む):変性/壊死	-				MF	MF ^a		
	胃:変性	-				-	MF ^a		
	脾臓(腺房細胞):微小空胞化, 萎縮	-				-	M ^a		
	肝臓:肝細胞肥大	-				MF	MF ^a		
13 週間 2.6.6.3.3 GLP	MPS:増生;主に肺, リンパ節, 脾臓	-	-	MF	MF	MF ^{bc}			
	骨格筋(舌を含む):変性	-	-	-	M	MF ^b			
	胃:変性/萎縮	-	-	-	-	M ^b			
	脾臓(腺房細胞):単細胞壊死	-	-	-	-	M2 ^b			
	肝臓:肝細胞肥大	-	-	-	MF	MF ^b			
	肝臓:単細胞壊死, 肉芽腫性炎症	-	-	-	M	MF ^b			

M=雄, F=雌

^a: 60 mg/kg/日群は投与 10 日に全例が屠殺された。状態悪化の原因は骨格筋の変性/壊死であった。^b: 30 mg/kg/日群は投与 13 週に雄 5 例及び雌 1 例が切迫屠殺された。状態悪化の主な原因は骨格筋の変性/壊死と考えられた。^c: リンパ系組織 (脾臓, リンパ節), 雌生殖器官及び唾液腺 (下顎腺) で顆粒球浸潤及び炎症, とくに膿瘍がみられた。

2.4.4.2.2 ラット

ラット 1 カ月間投与試験及び 1 カ月間回復性試験【2.6.6.3.6】では, ベダキリンを 0, 12.5, 25 及び 75 mg/kg/日の用量で週 2 回強制経口投与した。死亡, 一般状態, 体重及び摂餌量への明らかな変化は認められなかった。25 及び 75 mg/kg/日週 2 回投与群では, 肝臓重量の増加, 肝細胞の肥大, 空胞化及びリンパ・組織球性浸潤がみられた。75 mg/kg/日週 2 回投与群の雄では, 甲状腺の濾胞上皮細胞肥大がみられた。肝臓の電子顕微鏡検査では, SER 増加及び層板状/結晶様構造が観察され, それぞれ酵素誘導及びリン脂質症を示すと考えられた。1 カ月間の休薬後には 75 mg/kg/日週 2 回投与群で肝細胞空胞化の発生頻度が対照群に比べてやや高かったが, その他の変化は回復した。本試験の無毒性量は 12.5 mg/kg/日 (週 2 回投与) と判断した。無毒性量におけるベダキリンの曝露量 (AUC_{24h}) は雄 7.7 µg·h/mL, 雌 13.9 µg·h/mL であった。

ラット 13 週間投与試験【2.6.6.3.7】では, ベダキリンを 0, 1.5, 6 及び 24 mg/kg/日の用量で連日投与, 又は 10 mg/kg/日を 2 日に 1 回間欠投与した。本試験の用量は, ラット 14 日間投与試験【2.6.6.3.4】において 100 mg/kg/日群で死亡/切迫屠殺例がみられたことに基づき設定した。本薬投与に関連した死亡及び一般状態の変化は認められなかった。本薬投与に関連した変化が 24 mg/kg/日群のみに認められた。24 mg/kg/日群では, 体重低値, 体重増加量及び摂餌量の減少がみられた。病理組織学的検査では, MPS, 筋肉, 肝臓, 甲状腺及び腎臓の変化がみられた。泡沫状

マクロファージ等の MPS の変化は、肺、リンパ節及び脾臓にみられた。骨格筋（大腿四頭筋、舌）では、線維性組織球性炎症細胞浸潤が筋線維の変性とともみられた。肝臓では、小葉中心性肝細胞肥大が肝臓重量増加を伴ってみられた。雌の甲状腺に軽度の濾胞上皮細胞肥大がみられ、肝細胞肥大及び酵素誘導に関連した二次的な変化と考えられた。雄の腎臓では尿細管の好塩基性変化がみられた。本試験の無毒性量は 6 mg/kg/日と判断した。無毒性量における曝露量（AUC_{24h}）は、ベダキリンで雄 9.3 µg·h/mL 及び雌 20.4 µg·h/mL、M2 で雄 10.8 µg·h/mL 及び雌 9.5 µg·h/mL であった。10 mg/kg/日を 2 日に 1 回間欠投与したときの忍容性は、6 mg/kg/日（無毒性量）とほぼ同程度であった。

ラット 26 週間投与試験及び 12 週間回復性試験【2.6.6.3.8】では、ベダキリンフマル酸塩を 0, 5, 10 及び 20 mg/kg/日の用量で連日投与、又は 20 mg/kg/日を週 2 回間欠投与した後、12 週間休薬した。本薬投与に関連した死亡はみられず、一般状態の変化も限定的であった。20 mg/kg/日群では体重増加量の減少がみられた。病理組織学的検査では、MPS、筋肉、肝臓、腎臓、甲状腺（雄のみ）の変化がみられた。MPS の変化として、泡沫状/好酸性マクロファージの増加が全投薬群のリンパ系組織、10 mg/kg/日以上群の肺、20 mg/kg/日群の子宮で認められた。20 mg/kg/日群のリンパ節及び子宮では、この所見が肉芽腫性炎症/膿瘍を伴っていた。さらに、全投薬群で脾臓、胸腺及びリンパ節に色素沈着マクロファージの増加がみられた。筋肉では、10 mg/kg/日以上群で大腿四頭筋の筋肉変性の増加がみられた。同様な所見は、20 mg/kg/日群の腰筋、横隔膜、舌及び食道にもみられた。これらは CPK 及び AST の増加に関連していると考えられた。肝臓では、全投薬群で小葉中心性の肝細胞肥大及び空胞化の増加がみられ、20 mg/kg/日群及び 20 mg/kg/日週 2 回投与群では門脈域周囲の空胞化もみられた。腎臓では、本薬投与群の雄で限局性腎症の増加、雌で皮髄境界部の鉍質沈着の増加がみられた。甲状腺では、20 mg/kg/日群及び 20 mg/kg/日週 2 回投与群の雄で、濾胞上皮細胞肥大の増加がみられた。12 週間の休薬後には、リンパ系組織、肺、腎臓の MPS の変化がみられたものの、投与期間終了時に比べて減弱傾向を示した。筋肉変性、肝細胞肥大及び空胞化、甲状腺濾胞上皮細胞肥大、リンパ節及び子宮の肉芽腫性炎症/膿瘍は回復し、その他の所見は回復傾向を示した。本試験の無毒性量は求められなかった。しかし、低用量（5 mg/kg/日）群の所見は、リンパ節のマクロファージ増加、肝細胞肥大及び空胞化の増加並びに腎臓の軽微な変化であった。5 mg/kg/日における曝露量（AUC_{24h}）は、ベダキリンで雄 6.6 µg·h/mL 及び雌 16.8 µg·h/mL、M2 で雄 5.1 µg·h/mL 及び雌 8.9 µg·h/mL であり、M2 の曝露量はベダキリンの 0.5～0.8 倍であった。20 mg/kg/日週 2 回投与群の忍容性は、5 mg/kg/日（連日投与）群と同程度であった。

ラット反復投与毒性試験における病理組織所見の要約を表 2.4.4-2 に示す。

表 2.4.4-2 ラット反復投与毒性試験における病理組織所見の要約

投与期間	所見	ベダキリン投与量 (mg/kg/日)									
		0	1.5	5	6	10	12	20	24	25	100
14 日間 ^a 2.6.6.3.4 非 GLP	MPS: 肥大/増生; 肺, リンパ節, 肝臓, 脾臓	-								M	M ^b
	肝臓: 肝細胞肥大, 空胞化, 単細胞壊死/壊死	-								M	M ^b
15 日間 2.6.6.3.5 GLP	肝臓: 肝細胞肥大, 空胞化又は単細胞壊死	-			-		MF		MF		
13 週間 2.6.6.3.7 GLP	MPS: 泡沫状マクロファージ; 肺, リンパ節, 脾臓	-	-		-				MF		
	骨格筋(舌を含む): 変性	-	-		-				MF		
	肝臓: 肝細胞肥大	-	-		-				MF		
	甲状腺: 肥大	-	-		-				F		
	腎臓: 尿細管の好塩基性変化	-	-		-				M		
26 週間 2.6.6.3.8 GLP	MPS: 泡沫状マクロファージ; 肺, リンパ節, 脾臓, 子宮	-		MF		MF		MF ^c			
	骨格筋(舌を含む): 変性	-		-		MF		MF			
	肝臓: 肝細胞肥大/空胞化	-		M		M		MF			
	甲状腺: 肥大	-		-		-		M			
	腎臓: 限局性腎症 鉍質沈着	-		M F		M F		M F			

連日投与試験のみを示す。M=雄, F=雌

^a: 雄のみ。^b: 100 mg/kg/日群は投与 10/12 日に全例が死亡又は切迫屠殺された。^c: リンパ節及び子宮では肉芽腫性炎症を伴う。

2.4.4.2.3 イヌ

イヌ 1 カ月間投与試験及び 1 カ月間回復性試験【2.6.6.3.10】では、ベダキリンを 0, 10, 40 及び 160 mg/kg/日の用量で連日強制経口投与した。死亡は認められなかった。40 mg/kg/日以上群では体重低値がみられ、本薬投与に関連した病理組織所見が種々の組織の MPS, 胃, 肝臓, 骨格筋及び心臓にみられた。MPS の変化は、肺, リンパ節, パイエル板及び脾臓におけるマクロファージ肥大を特徴とした。電子顕微鏡検査では、肺, 脾臓及び肝臓の細胞質に多数の層板状構造が観察され、リン脂質症と判断した。また、胃底腺の変性 (160 mg/kg/日群で腺腔内の細胞残渣を伴う), 基底部混合性炎症細胞浸潤, 色素沈着マクロファージ及びマクロファージ肥大もみられた。160 mg/kg/日群では、小葉中心性肝細胞肥大及び微小空胞化が ALP, ALT 及び AST 増加, 肝臓重量増加を伴ってみられ、雌 1 例では心筋細胞の軽微な変性及び線維性組織球浸潤, 腰筋の線維性組織球浸潤がみられた。1 カ月間の休薬後には、上記の変化は回復又は回復傾向を示した。本試験の無毒性量は 10 mg/kg/日と判断した。無毒性量におけるベダキリンの曝露量 (AUC_{24h}) は、雄 40.1 µg·h/mL 及び雌 48.1 µg·h/mL であった。

イヌ 13 及び 26 週間投与試験【2.6.6.3.11】では、ベダキリンを 0, 2.5, 10 及び 40 mg/kg/日の用量で連日強制経口投与した。40 mg/kg/日群では、雌 2 例が重篤な症状 (痩せ, 冷感/体温低下, 自発運動の低下又は振戦) を呈して切迫屠殺された。状態悪化の主な原因は、心筋変性/壊死, 重度の亜急性脾炎及び胃底腺粘膜の変性/壊死であった。そのため、同群の用量を投与 17 週から 20 mg/kg/日に減量した。全投薬群で用量依存的な体重減少がみられた。病理組織学的検査では、本薬投与に関連した所見が MPS, 胃, 脾臓, 卵巣及び心臓にみられた。MPS の変化として、13 及び 26 週間投与群の全投薬群で種々の組織 (主にリンパ系組織, 腸管及び肺) に色素沈着マクロファージがみられた。また、13 又は 26 週間投与群の 10 mg/kg/日以上群では、肺及び膝窩/

腸間膜リンパ節、13週間投与群の40 mg/kg/日群では、脾臓で泡沫状マクロファージが認められた。13週間投与群の40 mg/kg/日群では、胃底腺粘膜の変性/壊死がみられたが、26週間投与群の生存例には認められなかった。13及び26週間投与群の10 mg/kg/日以上群では、胃に混合性炎症細胞浸潤が色素沈着マクロファージを伴ってみられた。13週間投与群の40 mg/kg/日群及び26週間投与群の10 mg/kg/日以上群では亜急性膵炎がみられた。26週間投与群の40/20 mg/kg/日群では、卵巣の黄体壊死がみられ、雌2例では心筋の変性/壊死/線維化（左心室心内膜下）がみられた。2.5 mg/kg/日群のMPSの変化（泡沫状/色素沈着マクロファージ）は有害な所見とは判断せず、本試験の無毒性量は2.5 mg/kg/日と判断した。無毒性量における曝露量（AUC_{24h}）は、ベダキリンで雄22.8 µg·h/mL及び雌22.1 µg·h/mL、代謝物M2で雄14.2 µg·h/mL及び雌17.5 µg·h/mLであった。

イヌ2及び6カ月間投与機序検討試験【2.6.6.3.12】では、標的器官の毒性及び骨格筋、心筋、脾臓及び胃障害のバイオマーカーについて検討した。ベダキリンフマル酸塩を0、10及び40 mg/kg/日の用量で連日強制経口投与、又は140 mg/kg/日の用量で週2回強制経口投与した。40 mg/kg/日群では、体重減少及び摂餌量減少を伴う状態悪化（脱水、自発運動の低下）がみられたため、投与57日から20 mg/kg/日に減量した。死亡は認められなかった。本薬投与に関連した変化はQT間隔の延長、眼及び精巣の所見を除き、概して13及び26週間投与試験【2.6.6.3.11】と同様であった。バイオマーカーでは、血清中の心筋トロポニンI（cTnI）及びミオグロビンの増加がみられ、心臓及び骨格筋障害に関連すると考えられた。しかし、脾臓及び胃については、病理組織学的な変化がみられたにもかかわらず、アミラーゼ、リパーゼ、cTLI及び血清ガストリン-17濃度に変化は認められなかった。心電図検査では、投与8週に40 mg/kg/日群で心拍数減少（最大22%）によるQT間隔の延長（最大25%）を示し、心拍数による補正後も軽微なQTc間隔延長を示した。20 mg/kg/日へ減量後に、QT間隔の延長及び心拍数減少は軽減し、QTc間隔への影響は認められなくなった。投与6カ月後には心電図の変化は認められなかった。眼科学的検査では結膜充血、流涙及び散瞳後の異常な光不耐がみられ、第三眼瞼のリンパ系組織における線維性組織球増生がみられた。精巣の慢性炎症及び萎縮は6カ月間投与群のみでみられた。

2及び6カ月間投与試験では、40 mg/kg/日から20 mg/kg/日への減量により、曝露量が雌では約40%減少したが、雄では同程度であった。13及び26週間投与試験では、40 mg/kg/日から20 mg/kg/日へ減量しても曝露量は同程度だった。2及び6カ月間投与試験では、40 mg/kg/日の連日投与で忍容性は認められなかったが、140 mg/kg/日週2回投与ではベダキリン及びM2の曝露量が40 mg/kg/日の連日投与群と同様か高値を示したにもかかわらず、忍容性は良好であった。

イヌ39週間投与試験及び13週間回復性試験【2.6.6.3.13】では、ベダキリンフマル酸塩を0、2、6及び18 mg/kg/日の用量で連日投与、又は14 mg/kg/日の用量で週3回投与した。18 mg/kg/日群では、体重減少及び脱水等の状態悪化を呈した雄1例及び雌2例が投与204、226及び257日に切迫屠殺された。状態悪化の原因は、雌1例では膵炎及び腹膜炎と考えられたが、他の2例については特定できなかった。眼科学的検査及び心電図検査に本薬投与による変化は認められなかった。18 mg/kg/日群ではcTnIの増加がみられた。また、脾臓及び胸腺重量の減少がみられた。MPSの変化として、6 mg/kg/日以上群及び14 mg/kg/日週3回投与群で種々の器官/組織（主にリンパ系組織、肺、脾臓、胃、肝臓、心臓及び乳腺）に色素沈着マクロファージ又は泡沫状マクロファージ集簇がみられた。これらの用量では、脾臓（慢性炎症及び腺房細胞萎縮）及び胃（胃

底腺粘膜の萎縮，胃底腺粘膜固有層に色素沈着マクロファージの集簇を伴う炎症細胞浸潤）の変化がみられ，18 mg/kg/日群では卵巣（黄体壊死）及び精巣（慢性炎症及び精細管上皮変性）の変化がみられた。心臓及び肝臓の所見は，色素沈着マクロファージのみであった。本試験の無毒性量は2 mg/kg/日と判断した。無毒性量における曝露量（AUC_{24h}）はベダキリンで雄 27.9 µg·h/mL 及び雌 21.3 µg·h/mL，M2 で雄 11.7 µg·h/mL 及び雌 13.3 µg·h/mL であり，M2 の曝露量はベダキリンの0.4～0.6 倍，M3 の曝露量はベダキリンの0.08～0.12 倍であった。いずれの変化も休薬により回復又は回復傾向を示した。

主要なイヌ反復投与毒性試験における病理組織所見の要約を表 2.4.4-3 に示す。

表 2.4.4-3 イヌ反復投与毒性試験における病理組織所見の要約

投与期間	所見	ベダキリン投与量 (mg/kg/日)							
		0	2	2.5	6	10	18	40	160
1 カ月間 2.6.6.3.10 GLP	MPS:マクロファージ肥大;主に肺,リンパ節,パイエル板,脾臓,胃	-				-		MF	MF
	胃(胃底腺):変性	-				-		MF	MF
	肝臓:肝細胞肥大,空胞化	-				-		-	MF
	骨格筋:線維性組織球浸潤	-				-		-	F1
	心筋:変性	-				-		-	F1
13/26 週間 2.6.6.3.11 GLP	MPS:色素沈着/泡沫状マクロファージ;主に肺,リンパ系組織,腸,胃	-		MF		MF		MF ^a	
	胃(胃底腺):変性/壊死	-		-		-		MF ^a	
	脾臓:亜急性脾炎	-		-		M		MF ^a	
	骨格筋(舌を含む):変性/壊死	-		-		-		MF ^a	
	心筋:変性/壊死	-		-		-		F2 ^{a,b}	
2/6 カ月間 2.6.6.3.12 GLP	MPS:色素沈着/泡沫状マクロファージ;主に肺,リンパ系組織	-				MF		MF ^c	
	胃(胃底腺):変性	-				MF		MF ^c	
	心筋:変性	-				-		MF ^c	
	心臓:QTc 延長	-				-		MF ^{c,d}	
	肝臓:肝細胞肥大	-				-		MF ^{c,e}	
	骨格筋(舌を含む):変性/壊死	-				-		MF ^{c,d}	
	精巣:慢性炎症/萎縮	-				M ^e		M ^{c,e}	
	脾臓:慢性炎症	-				M ^e		MF ^{c,e}	
39 週間 2.6.6.3.13 GLP	MPS:色素沈着/泡沫状マクロファージ;主に肺,リンパ系組織,肝臓,胃,心臓,乳腺	-	-		MF		MF		
	脾臓:慢性炎症,腺房細胞萎縮	-	-		MF		MF		
	胃(胃底腺):萎縮	-	-		F1		M1F1		

連日投与試験のみを示す。M=雄，F=雌

^a: 40 mg/kg/日群は投与 17 週から 20 mg/kg/日に減量した。

^b: 26 週間投与群のみ。

^c: 40 mg/kg/日群は投与 9 週（投与 57 日）に 20 mg/kg/日へ減量した。

^d: 2 カ月間投与群のみ。

^e: 6 カ月間投与群のみ。

2.4.4.3 遺伝毒性試験

ベダキリンの遺伝毒性は，細菌を用いる復帰突然変異試験【2.6.6.4.2】，マウスリンフォーマ Tk 試験【2.6.6.4.4】及びマウス骨髓小核試験【2.6.6.4.6】で検討した。これら *in vitro* 及び *in vivo* 試験の結果から，遺伝子突然変異頻度及び染色体異常の増加は認められず，ベダキリンに遺伝毒

性はないと判断した。マウス骨髄小核試験の高用量群（640 mg/kg）における曝露量（AUC_{8h}）の平均値は、雄 52.6 µg·h/mL 及び雌 42.0 µg·h/mL であった。

2.4.4.4 がん原性試験

2.4.4.4.1 マウス

マウスはベダキリンに対する忍容性が低く、*N*-モノ脱メチル化ベダキリン（M2）の生成の程度がヒトと異なることから、がん原性試験は実施しなかった。マウスではベダキリンが速やかかつ多く代謝され、M2 の血漿中濃度が未変化体を大きく上回る（未変化体の 2～7 倍）。このため、ラット曝露量及び臨床推奨用法・用量を投与したときのヒト曝露量に比べて、マウスのベダキリン曝露量は低かった。また、マウスではベダキリンより M2 の組織内濃度が高く、肝臓、脾臓及び肺の M2/ベダキリン比はマウスで 40～60、ラットで 4～18 であった。筋肉の M2/ベダキリン比は、ラット及びマウスとも血漿の M2/ベダキリン比と同様であった。しかし、マウスは他の動物種より血漿中 M2 濃度が高いため、より高い筋肉内 M2 濃度を示した【2.6.5.5.B】【2.6.5.5.G】。M2 は細胞毒性が強く、*in vitro* リン脂質症誘発性がベダキリンより強かった【2.4.4.7.5】。ベダキリンフマル酸塩を投与したマウス 13 週間反復投与試験では、20 及び 30 mg/kg/日群の忍容性は低かった。この試験でみられた体重減少、状態悪化及び死亡率増加は、骨格筋の変性及び壊死に関連していると考えられる。同様な変化はマウス 28 日間反復投与毒性試験の 30 及び 60 mg/kg/日群及びマウス 5 日間反復投与毒性試験の 100 mg/kg/日群でもみられている【2.4.4.2.1】。よって、マウス反復投与試験でみられた毒性には M2 が重要な役割を果たしていると考えられる【2.4.4.7.3】。以上のことから、ベダキリンのがん原性をマウスで適切に評価することはできないと考え、マウスがん原性は実施しなかった。

2.4.4.4.2 ラット

ラットがん原性試験【2.6.6.5.1】では、Sprague Dawley ラット（1 群雌雄各 70 例）に 20% HP-β-CD に溶解したベダキリンフマル酸塩を 0（脱塩水）、0（溶媒）、2.5、5、10 及び 20 mg/kg/日の用量で 104 週間連日強制経口投与した。20 mg/kg/日群では、死亡率が増加したため、雌は投与 61 週、雄は 100 週に試験を終了した。死因は主に骨格筋の炎症性筋肉変性であり、加えて雄では前立腺の膿瘍及び下垂体前葉の腺腫であった。これらのことから、20 mg/kg/日は長期投与における最大耐量を超えていると判断した。その他の群は 104 週間の投与を完了した。

腫瘍性病変

腫瘍性病変の発生頻度増加は認められなかった。報告された所見は、すべて本系統のラットで自然発生的に認められる範囲内であった。

非腫瘍性病変

非腫瘍性病変は主に 10 及び 20 mg/kg/日群で広範囲の組織にみられた。主な所見として、リンパ節の泡沫状マクロファージ及び肉芽腫性炎症、肝臓及び雌生殖器の肉芽腫性炎症、雄泌尿生殖器の膿瘍並びに骨格筋の炎症性筋肉変性がみられた。さらに 10 又は 20 mg/kg/日では、投与に関連する非腫瘍性病変として、精巣の変性/萎縮、副腎髄質過形成及び甲状腺の濾胞上皮細胞肥大を伴う肝臓の小葉中心性肝細胞肥大も認められた。腎臓では、5 mg/kg/日以上群の雌雄で慢性

腎症の発生率が増加し、雄では腎盂/腎乳頭の鉍質沈着、10 mg/kg/日以上 of 群の雌では皮髓境界部の鉍質沈着の発生頻度増加を伴っていた。10 mg/kg/日以上 of 群の雌雄では腎尿細管の色素沈着の発生率も増加した。心臓では、10 mg/kg/日以上 of 群の雌で慢性心筋症の発生率の増加がみられた。

2.4.4.5 生殖発生毒性試験

2.4.4.5.1 受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

Sprague Dawley ラットにベダキリンフマル酸塩を 0, 1.5, 6 及び 24 mg/kg/日の用量で、雄では交配前 4 週間から交配期間を経て剖検日まで、雌では交配前 2 週間から妊娠 7 日まで強制経口投与した【2.6.6.6.1】。その結果、雌雄とも交尾能及び受胎能への影響は認められなかった。高用量群の雄の少数例で胚/胎児が得られなかったが、病理組織学的検査で精巣及び精巣上体に異常は認められなかったことから、本薬投与との関連性は明らかではなかった。以上のことから、雄親動物の一般毒性及び生殖能に対する無毒性量はともに 6 mg/kg/日、雌親動物の一般毒性に対する無毒性量は 6 mg/kg/日、雌親動物の生殖能及び初期胚発生に関する無毒性量は 24 mg/kg/日と判断した。

2.4.4.5.2 胚・胎児発生に関する試験

Sprague Dawley 妊娠ラットにベダキリンを 0, 5, 15 及び 45 mg/kg/日の用量で妊娠 6～17 日に強制経口投与した【2.6.6.6.3】。その結果、45 mg/kg/日群で、母動物の体重増加量及び摂餌量の減少、補正体重増加量の減少傾向及び妊娠子宮重量の減少並びに胎児の体重減少がみられた。以上のことから、母動物及び胎児に対する無毒性量は 15 mg/kg/日と判断した。

New Zealand White 妊娠ウサギの妊娠 6～19 日にベダキリン（Methocel 懸濁液）を 0, 10, 30 及び 100 mg/kg/日の用量で強制経口投与した【2.6.6.6.6】。母動物では、30 mg/kg/日群で摂餌量の減少がみられた。100 mg/kg/日群では糞便減少、体重増加量、摂餌量及び妊娠子宮重量の減少がみられ、1 例が体重減少及び流産のため屠殺された。胎児では、100 mg/kg/日群で胎児体重の増加がみられ、内臓検査で膀胱拡張の軽度な発生頻度増加がみられた。膀胱拡張は胎児の正常発生の一部と考えられ、対照群でもよくみられる所見である。したがって、この所見は胎児が大きいことを反映したものであり、毒性学的意義に乏しいと考えられた。以上のことから、母動物に対する無毒性量は 30 mg/kg/日、胎児に対する無毒性量は 100 mg/kg/日以上と判断した。

2.4.4.5.3 出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験

Sprague Dawley 妊娠ラットにベダキリンフマル酸塩を 0, 5, 15 及び 45 mg/kg/日の用量で妊娠 6 日～授乳 20 日まで強制経口投与した【2.6.6.6.8】。その結果、45 mg/kg/日群では、F₀ 母動物で授乳期間中の体重、体重増加量及び摂餌量の減少、F₁ 出生児では出生時の体重減少、授乳期間中の体重増加量の減少及び低体重による離乳前の空中立ち直り反応の獲得日の遅延がみられた。授乳期間中の F₁ 出生児の体重増加量減少は、交叉哺育試験の結果から、子宮内曝露によるものではなく、乳汁を介した曝露によるものと考えられた。F₀ 母動物の分娩、F₁ 出生児の機能発達及び

生殖能への影響は認められなかった。これらのことから、F₀母動物に対する無毒性量は 15 mg/kg/日、F₁ 出生児の成長に対する無毒性量は 15 mg/kg/日、F₁ 出生児の機能発達及び生殖能に対する無毒性量は 45 mg/kg/日と判断した。

ベダキリン濃度は血漿中よりも乳汁中の方が高く、15 mg/kg/日群の授乳 7 日の乳汁中ベダキリン濃度は 7.6 µg/mL であった。乳汁中の M2 濃度はベダキリン濃度より低かった。

2.4.4.5.4 幼若動物を用いた試験

24 日齢の Sprague Dawley 幼若ラットにベダキリンフマル酸塩を 0, 5, 15 又は 45 mg/kg/日の用量で 37 日間連日強制経口投与した【2.6.6.6.9】。その結果、15 mg/kg/日までの忍容性は良好であり、無毒性量は 15 mg/kg/日と判断した。45 mg/kg/日群では、成熟ラットと同様に、筋肉（骨格筋、食道及び舌の変性/壊死又は炎症）、肝臓（肝細胞肥大を示す小葉中心性好酸性変化）及び腎臓（皮髄境界部の鉍質沈着）の変化がみられた。約 8 週間の休薬後には、腎臓を除くすべての変化が回復した。幼若ラットにおいて、新たな毒性標的器官は認められなかった。

2.4.4.6 局所刺激性試験

ベダキリンは、BCOP 試験で眼刺激性を示さず【2.6.6.7.1】、マウス LLNA で皮膚感作性は認められなかった【2.6.6.7.4】。Balb/c 3T3 マウス線維芽細胞を用いた *in vitro* 光毒性試験で陽性を示したが【2.6.6.7.2】、有色ラットを用いた *in vivo* 光毒性試験で光毒性を示唆する皮膚又は眼の反応は認められなかったことから【2.6.6.7.3】、本薬に光毒性はないと判断した。

2.4.4.7 その他の毒性試験

2.4.4.7.1 免疫毒性試験

反復投与毒性試験において MPS、特にマクロファージへの影響が認められたため、ベダキリンが免疫系に及ぼす影響を 2 つの試験で評価した【2.6.6.8.1.1/2】。Wistar ラットにベダキリンを 60 mg/kg/日までの用量で 4 週間連日強制経口投与し、最初の試験はヒツジ赤血球に対する T 細胞依存性抗体産生試験、2 つ目の試験はリステリア菌に対する宿主抵抗性試験で評価したが、ベダキリン投与による免疫毒性は認められなかった。

2.4.4.7.2 機序検討試験

マウス、ラット及びイヌの反復投与毒性試験で肝臓の変化がみられた。肝臓の変化と投与スケジュールの関係を評価するため、ラットを用いた 1 カ月間及び 10 週間投与試験で種々の間欠投与を検討した【2.6.6.8.2.1/2】。間欠投与は、2 週に 1 回、週 1 回、週 2 回及び週 5 回とした。その結果、週あたりの投与回数に関係なく、1 週間の総投与量が 75 mg/kg 未満では肝臓の病理組織学的変化は認められなかった。

2.4.4.7.3 代謝物の毒性試験

M2 は、非臨床試験の全動物種及びヒトにおける血漿中主代謝物である。特にマウスでは血漿中 M2 濃度が高く、M2 曝露量は未変化体の 2～7 倍高値を示す。しかし、ラット、ウサギ、イヌ及びヒトにおける M2 曝露量は、ベダキリン曝露量と同程度か低値を示した。

M2 の毒性について検討するため、マウスに M2 又はベダキリンフマル酸塩をそれぞれ 4 又は 5 日間連日強制経口投与し、両者の毒性を比較した【2.6.6.8.3.1】。ベダキリンフマル酸塩の投与量は 0, 80 及び 100 mg/kg/日、M2 の投与量は 100 及び 130 mg/kg/日とした。M2 投与群の忍容性はいずれの用量でも低く、状態悪化及び用量依存的な死亡が認められた。死因は横紋筋融解症と考えられた。ALT, AST, CPK 及びミオグロビンの増加は、肝臓及び骨格筋の病理組織学的変化と関連していた。肝臓ではグリコーゲン様内容の減少、肝細胞肥大及び脂肪陽性（Oil red O 染色）がみられ、骨格筋（大腿四頭筋）では用量依存的な変性/壊死がみられた。胃では胃腺窩上皮細胞の変性がみられた。

M2 とベダキリン（フマル酸塩）の毒性プロファイルは概して類似していたが、ベダキリンに曝露されていない M2 投与群の方が高い死亡率を示し、病理組織学的変化も顕著であった。ベダキリン投与群では、ベダキリン曝露量より M2 曝露量が 5～6 倍高い（AUC）。したがってベダキリンの反復投与試験でみられた毒性には M2 が重要な役割を果たしていると考えられる。このことは、*in vitro* で M2 がベダキリンより強い細胞毒性を示すことと一致している【2.4.4.7.5】。

2.4.4.7.4 不純物の毒性試験

原薬には、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（ICH Q3A）で安全性の確認の対象となる不純物「**類縁物質A***」が含まれる。このため、2%「**類縁物質A***」を添加したベダキリンフマル酸塩を用いて安全性を評価した。細菌を用いる復帰突然変異試験及びマウスリンフォーマ Tk 試験はいずれも陰性であった【2.6.6.8.4.1/2】。また、ラット 2 週間反復投与毒性試験において、2%「**類縁物質A***」添加ベダキリンフマル酸塩とベダキリンフマル酸塩の毒性プロファイルに大きな違いは認められなかった【2.6.6.8.4.3】。

2.4.4.7.5 *In vitro* 細胞毒性及びリン脂質症誘発性

ベダキリン、M2 及び M3 の細胞毒性及びリン脂質症誘発性を *in vitro* 試験で評価した【2.6.6.8.6/7】。ベダキリンはイヌ及びヒト肝細胞よりマウス及びラット肝細胞に対して強い細胞毒性を示した。また、M2 及び M3 はベダキリンよりも細胞毒性及びリン脂質症誘発性が強く、M2 は M3 よりもわずかに細胞毒性及びリン脂質症誘発性が強いと考えられた。

2.4.4.8 毒性試験の評価

2.4.4.8.1 死亡

ベダキリン又はベダキリンフマル酸塩を反復投与後にマウス及びイヌでみられた死亡は、概して骨格筋/心筋変性又は膵炎によるものであり、本薬投与に関連したものと考えられた。

マウスでは、ベダキリンの単回投与試験で 800 mg/kg 群の 6/10 例が死亡又は切迫屠殺、5 日間投与試験の 100 mg/kg/日群で 1/10 例が死亡、28 日間投与試験の 60 mg/kg/日群の全例（20/20 例）及び 30 mg/kg/日群の 1/20 例が切迫屠殺、13 週間投与試験で 30 mg/kg/日群の 6/20 例が切迫屠殺された。28 日間投与試験及び 13 週間投与試験の死亡又は切迫屠殺の主な原因は、骨格筋の変性/壊死と考えられた。

ラットでは、14 日間投与試験の 100 mg/kg/日群で全例（5/5 例）が死亡又は切迫屠殺されたが、死因は特定できなかった。

イヌでは、13 及び 26 週間投与試験の 40/20 mg/kg/日群で 2/14 例が切迫屠殺された。状態悪化の原因は、1 例では心筋の変性/壊死（心内膜下及び心外膜下）及び亜急性膵炎、他の 1 例は亜急性膵炎であった。39 週間投与試験の 18 mg/kg/日群では 3/12 例が切迫屠殺された。状態悪化の原因は、1 例では膵炎及び腹膜炎と考えられたが、他の 2 例については特定できなかった。

2.4.4.8.2 安全域

ヒトに 6 カ月間投与した場合のベダキリン及び M2 の安全域は、イヌ 39 週間投与試験の無毒性量（2 mg/kg/日）、ラット 26 週間投与試験の最小毒性量（5 mg/kg/日）及び臨床推奨用法・用量における曝露量（AUC_{24h}）から算出した。ラット 26 週間投与試験で無毒性量は求められなかったが、5 mg/kg/日（低用量）群の変化はリンパ節の泡沫状/好酸性マクロファージの増加、肝細胞肥大及び空胞化の増加並びに腎臓の軽微な変化のみであり、最小毒性量と考えられた。マウスは、他の動物種やヒトと代謝の程度が異なり、ベダキリンより M2 の曝露量が高いため、安全域の評価には適切でないと判断した。マウスの曝露量は表 2.4.3-1 に示す。

ベダキリンフマル酸塩の臨床推奨用法・用量は、「400 mg を 1 日 1 回 2 週間投与した後、200 mg を週 3 回 22 週間経口投与する」である。安全域の算出は、患者にベダキリンフマル酸塩 400 mg を 1 日 1 回 2 週間投与した後、200 mg を週 3 回 6 週間（stage 1）又は 22 週間（stage 2）投与したときのヒト曝露量（C208 試験）に基づいた。なお、stage 2 より stage 1 のベダキリン及び M2 の曝露量が高いため、標的器官の安全域については stage 1 の高い曝露量を用いて評価した。

無毒性量又は最小毒性量におけるベダキリン及び M2 の動物/ヒト曝露比を表 2.4.4-4（stage 1）及び表 2.4.4-5（stage 2）に示す。ラット最小毒性量及びイヌ無毒性量における安全域は、ベダキリンについてはおおむね 1 倍程度で、M2 については 1 倍を上回った。反復投与時のベダキリン及び代謝物の血漿中濃度推移は平坦であるため、C_{max} 又は AUC_{24h} のいずれを用いて算出した場合も動物/ヒト曝露比は同程度であった。なお、ラット及びイヌでは M3 についても測定した。M3 の動物/ヒト曝露比は表 2.4.3-2 に示す。

表 2.4.4-4 無毒性量又は最小毒性量における動物/ヒト曝露比（ヒト 8 週間投与）

種	試験	無毒性量 (mg/kg/日)	ベダキリン				M2			
			AUC _{24h} ($\mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$)		曝露比 (動物/ヒト)		AUC _{24h} ($\mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$)		曝露比 (動物/ヒト)	
			雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
ラット	26 週間	5(最小毒性量)	6.6	16.8	0.30	0.76	5.1	8.9	0.85	1.48
イヌ	39 週間	2	27.9	21.3	1.27	0.97	11.7	13.3	1.95	2.22
ヒト	C208 ^a		22				6			

^a: ヒト曝露量は C208 試験 stage 1 (400 mg を 1 日 1 回 2 週間投与した後, 200 mg を週 3 回 6 週間投与) に基づく。AUC_{24h} は AUC_{48h} を 2 で除して算出した。

表 2.4.4-5 無毒性量又は最小毒性量における動物/ヒト曝露比（ヒト 24 週間投与）

種	試験	無毒性量 (mg/kg/日)	ベダキリン				M2			
			AUC _{24h} ($\mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$)		曝露比 (動物/ヒト)		AUC _{24h} ($\mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$)		曝露比 (動物/ヒト)	
			雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
ラット	26 週間	5(最小毒性量)	6.6	16.8	0.47	1.2	5.1	8.9	1.42	2.47
イヌ	39 週間	2	27.9	21.3	1.99	1.52	11.7	13.3	3.25	3.69
ヒト	C208 ^a		14				3.6			

^a: ヒト曝露量は C208 試験 stage 2 (400 mg を 1 日 1 回 2 週間投与した後, 200 mg を週 3 回 22 週間投与) に基づく。AUC_{24h} は AUC_{48h} を 2 で除して算出した。

2.4.4.8.3 一般毒性の評価

2.4.4.8.3.1 MPS/リン脂質症

ベダキリン及び主代謝物 M2 は CAD の特徴を有している。一般に、CAD は pK_a 及び疎水性に依存して細胞内に取り込まれ、リソソーム内でプロトン化されてリン脂質と複合体を形成し、リソソーム内に蓄積する。CAD-リン脂質複合体は、一定濃度に達すると電子顕微鏡で層板状構造として観察される^{2), 3)}。CAD-リン脂質複合体の蓄積のメカニズムとしては、CAD がリソソーム内の分解酵素を直接阻害する、リン脂質の合成に影響を及ぼす、あるいはリソソームとファゴソームとの融合を阻害する等が考えられている。細胞内でリン脂質と薬物が蓄積した状態がリン脂質症であり、種々の細胞、組織、動物種及び年齢で認められる³⁾。

ベダキリンによるリン脂質症は、非臨床反復投与試験に用いたすべての動物種（マウス、ラット、イヌ）でみられ、主に MPS で顕著であった。リン脂質症は、光学顕微鏡検査ではリンパ系組織（リンパ節及び脾臓）、肺、肝臓、胃、骨格筋、膵臓及び子宮の色素沈着/泡沫状マクロファージの増加として、電子顕微鏡検査ではリソソーム内の層板状構造/ミエロイド小体として観察された。リン脂質症の誘発は、いずれの種においても高用量では短期間投与後にみられ、低用量では長い半減期のため血漿中及び組織内濃度が上昇する長期間投与後にみられた。代謝物 M2 のリン脂質症誘発能はベダキリンより強かった。ラット及びイヌでは、M2 の血漿中濃度がベダキリンと同程度か低値を示したが、M2 の組織内濃度はほとんどの組織でベダキリンより高値を示し、M2 のリン脂質症誘発能がベダキリンより強いことと一致していた。動物と比較し、ヒト血漿中 M2 濃度はベダキリン濃度より低いため、ヒトでは毒性に対する M2 の寄与は小さいと考えられる。

リン脂質症の可逆性^{2), 3)} はラット 26 週間投与試験及びイヌ 39 週間投与試験で検討され、いずれも 12 又は 13 週間の休薬により回復又は回復傾向を示した。

リン脂質症の毒性学的意義は不明である。リン脂質症を示す細胞及び組織で機能的変化を示す場合もあるが、リン脂質症との関連性は明らかにはなっていない^{2)・3)}。リン脂質症は毒性変化というより異物処理過程あるいはその適応性変化と考える意見が多い^{2)・3)}。したがって、毒性試験でベダキリン投与後に筋組織、胃又は膵臓の障害がみられた場合でも、リン脂質症の誘発と関連しているかどうかは不明である。

ラット 26 週間投与試験の 5 mg/kg/日（低用量）群では、リンパ系組織に適応性変化と考えられる泡沫状/好酸性マクロファージの増加がみられた。5 mg/kg/日群における曝露量（AUC_{24h} 平均値、ベダキリン：11.7 µg·h/mL，M2：7 µg·h/mL）は、臨床推奨用法・用量で 8 週間投与したときのヒト曝露量（C208 試験 stage 1 の AUC_{24h} 平均値、ベダキリン：22 µg·h/mL，M2：6 µg·h/mL）と比較して、ベダキリンは低く、M2 は同程度であった。一方、イヌ 39 週間投与試験の無毒性量は 2 mg/kg/日であり、この用量における曝露量（AUC_{24h} 平均値、ベダキリン：24.6 µg·h/mL，M2：12.5 µg·h/mL）は、ヒトと比較してベダキリンは同程度、M2 は高かったが、リン脂質症は認められなかった。臨床推奨用法・用量は、最初の 2 週間に 400 mg を 1 日 1 回投与し、その後は 200 mg を週 3 回投与するため、用量減量後はベダキリン及び M2 の蓄積が抑制され、リン脂質症の誘発リスクも低下する。臨床推奨用法・用量で 24 週間投与したときのヒト曝露量（C208 試験 stage 2 の AUC_{24h} 平均値、ベダキリン：14 µg·h/mL，M2：3.6 µg·h/mL）は 8 週間投与より低いため、安全域は更に広いと考えられる。なお、動物で観察されたリン脂質症は、必ずしもヒトで同様な発現を予測するものではない²⁾。

2.4.4.8.3.2 骨格筋及び心筋

骨格筋：骨格筋の変化はすべての動物種でみられ、最も強くみられたのはマウスであった。マウスでは、死亡又は切迫屠殺例が 100 mg/kg/日を 5 日間投与後、60 mg/kg/日を 10 日間投与後、30 mg/kg/日を 13 週間投与後にみられ、骨格筋の変性及び壊死が観察された。ラットでは、13 週間投与試験の 24 mg/kg/日群及び 26 週間投与試験の 10 mg/kg/日以上群で筋肉変性がみられた。イヌでは、雌 1 例を除き、最高 160 mg/kg/日を 1 カ月間投与しても、骨格筋の変化は認められなかった。イヌ 13 及び 26 週間投与試験の 40/20 mg/kg/日群では骨格筋の変性/壊死がみられた。40 mg/kg/日群では投与 12 週に CPK の増加がみられたが、投与 17 週に 20 mg/kg/日へ減量した結果、投与 25 週までに回復した。イヌ 2 及び 6 カ月間投与機序検討試験では、2 カ月間投与（中間屠殺）群の 40 mg/kg/日群で骨格筋の変性/壊死とともに ALT，AST，CPK 及びミオグロビンの増加がみられた。しかし、投与 57 日に 20 mg/kg/日へ減量した結果、6 カ月間投与（最終屠殺）群では骨格筋に変化は認められず、バイオマーカーの変化も減弱又は回復した。6 カ月間投与群の 10 mg/kg/日群及び 140 mg/kg/日週 2 回投与群では、骨格筋の変化は認められなかった。イヌ 39 週間投与試験では、最高用量の 18 mg/kg/日まで投与しても骨格筋の変化は認められなかった。

CAD には実験動物やヒトで筋肉変性を誘発するものがある。げっ歯類の特徴的な変化は細胞質空胞化及び筋線維壊死であり、この所見は本薬でも観察された。しかし、これら変性性変化の原因は明らかではなく、リン脂質症の発現とは直接関連しないと考えられている。CAD の壊死作用については、生体膜の脂質/水界面から CAD が取り込まれた後に極性脂質と相互作用することによると説明されている。これが膜機能に影響する可能性がある。また、この作用がリソソーム膜の損傷とその後のタンパク質分解酵素の漏出に関連している可能性も示唆されている。筋肉

の変性は、ヒトでは高用量を長期間投与後のみに認められる傾向があり、通常は投与中止により回復する^{4), 5), 6)}。

ラット 26 週間投与試験の骨格筋に対する無毒性量は 5 mg/kg/日であった。この用量における曝露量 (AUC_{24h} 平均値, ベダキリン : 11.7 µg·h/mL, M2 : 7 µg·h/mL) は、臨床推奨用法・用量で 8 週間投与したときのヒト曝露量 (C208 試験 stage 1 の AUC_{24h} 平均値, ベダキリン : 22 µg·h/mL, M2 : 6 µg·h/mL) と比較して、ベダキリンは低く、M2 は同程度であった。イヌ 39 週間投与試験の骨格筋に対する無毒性量は 18 mg/kg/日 (最高用量) であった。この用量における曝露量 (AUC_{24h} 平均値, ベダキリン : 173 µg·h/mL, M2 : 53 µg·h/mL) は、ヒト曝露量より約 8~9 倍高かった。

C208 試験の治験薬投与期に CPK 及び LDH の高値が、プラセボ群と比較してベダキリン群で多く認められたが、LDH の最高値は基準値上限の 2 倍以下であり、CPK 高値の大多数はごく軽微な増加であった【2.5.5.5.1】。また、海外第 IIb 相試験及び TBC2001 試験において、横紋筋融解症/ミオパチーSMQ に該当する有害事象は報告されなかった【2.5.5.4.5】。

心筋：ラット反復投与試験では 6 カ月間まで投与しても心筋への影響は認められなかった。イヌ 1 カ月間投与試験では、160 mg/kg/日群の雌 1 例で心筋細胞の軽微な変性及び線維性組織球浸潤がみられた。イヌ 13 及び 26 週間投与試験では、26 週間投与群の 40/20 mg/kg/日群で、雌 2 例の左心室心内膜下の心筋に変性/壊死/線維化がみられた。40 mg/kg/日群では、投与 12 週に ALT, AST 及び CPK の増加がみられたが、投与 17 週に 20 mg/kg/日へ減量した結果、投与 25 週までに回復した。QT/QTc 間隔への影響は認められなかった。イヌ 2 及び 6 カ月間投与機序検討試験では、2 カ月間投与 (中間屠殺) 群の 40 mg/kg/日群及び 140 mg/kg/日週 2 回投与群で心筋変性がみられた。40 mg/kg/日群では QT/QTc 間隔の延長, CPK, cTnI 及びミオグロビンの増加がみられたが、140 mg/kg/日週 2 回投与群でみられたのは CPK 及び cTnI の増加のみであった。40 mg/kg/日から 20 mg/kg/日へ減量した結果、QT/QTc 間隔及び心筋障害バイオマーカーの変化は回復性を示した。6 カ月間投与 (最終屠殺) 群では、40/20 mg/kg/日群及び 140 mg/kg/日週 2 回投与群でリンパ・組織球性浸潤を伴う心筋の単細胞変性がみられ、140 mg/kg/日週 2 回投与群では心室の心内膜下の線維化もみられた。140 mg/kg/日週 2 回投与群では、投与期間を通して cTnI の増加がみられた。イヌ 39 週間投与試験では 18 mg/kg/日まで投与したが、18 mg/kg/日群で cTnI の増加がみられたにもかかわらず、心筋及び QT/QTc 間隔の変化は認められなかった。

心臓病変は、chloroquine 及びその誘導体 (CAD) を投与した実験動物でも報告されている⁷⁾。

1 カ月間休薬後又は用量減量後のイヌでは、筋組織所見の明らかな回復性が認められた。イヌ 2 及び 6 カ月間投与機序検討試験の 10~40 mg/kg/日群では、血漿中薬物濃度が用量比を下回って増加し【2.6.6.3.12】、組織内濃度が用量とともに増加した【2.6.4.4.3.3】。この傾向はイヌ 13 及び 26 週間投与試験でも同様であった。このような薬物の血漿中濃度と組織内濃度との関係から、10 mg/kg/日から 40 mg/kg/日で毒性が急激に増強したこと、及び 40 mg/kg/日から 20 mg/kg/日へ減量した場合の血漿中濃度は減量前と同程度 (雄) か軽度に減少 (雌) したにもかかわらず、動物の一般状態が回復したことを説明できると考えられる。つまり、40 mg/kg/日から 20 mg/kg/日へ減量後には、組織から薬物が排出されることにより一般状態が回復したと考えられた。

イヌ 39 週間投与試験の心臓に対する無毒性量は 6 mg/kg/日であり、この用量における曝露量 (AUC_{24h} 平均値, ベダキリン : 60.3 µg·h/mL, M2 : 34.2 µg·h/mL) は、臨床推奨用法・用量で 8 週間投与したときのヒト曝露量 (C208 試験 stage 1 の AUC_{24h} 平均値, ベダキリン : 22 µg·h/mL, M2 : 6 µg·h/mL) と比較して、ベダキリンで約 3 倍, M2 で約 6 倍高かった。臨床推奨用法・用量で 24 週間投与したときのヒト曝露量 (C208 試験 stage 2 の AUC_{24h} 平均値, ベダキリン : 14 µg·h/mL, M2 : 3.6 µg·h/mL) は 8 週間投与より低いため、安全域は更に広い。

C208 試験で、治験薬投与期にトロポニン I の高値が認められた被験者の割合にベダキリンの影響は示唆されなかった【2.5.5.5.3.2(3)】。

2.4.4.8.3.3 胃

胃底腺の変性/萎縮はマウス及びイヌでみられたが、ラットでは認められなかった。マウス 5 日間投与試験【2.6.6.3.1】では、ベダキリンの 60 mg/kg/日以上で胃腺窩上皮細胞の変性がみられた。ベダキリンと代謝物 M2 を比較したマウス 5 日間投与試験【2.6.6.8.3.1】では、ベダキリンの 80 mg/kg/日以上で胃腺窩上皮細胞の変性がみられ、M2 投与群の少数例では軽度な前胃壊死もみられたため、胃に対する作用はベダキリンより M2 の方が強いと考えられた。マウス 28 日間投与試験の 60 mg/kg/日群及びマウス 13 週間投与試験の 30 mg/kg/日群では、胃の変化は同程度であった。イヌ 1 カ月間投与試験、又は 13 及び 26 週間投与試験では、40 mg/kg/日以上で胃底腺の変性がみられた。この所見は 2 及び 6 カ月間投与試験の 10 mg/kg/日群及び 140 mg/kg/日週 2 回投与群でもみられたが、いずれも軽微又は軽度の変化であった。胃底腺の変化は、イヌ 39 週間投与試験の 6 mg/kg/日以上で胃底腺の変性がみられた。この所見は 2 及び 6 カ月間投与試験の 10 mg/kg/日群及び 140 mg/kg/日週 2 回投与群でもみられた。これらの変化は胃底部の壁細胞及び主細胞に局限しており、主に幽門腺の G 細胞から分泌されるガストリン-17 の血清中濃度に変化は認められなかった。1 カ月間投与試験と長期投与試験を比較したが、長期投与しても胃の所見の重篤化は認められなかった。

イヌでみられた胃粘膜の色素沈着マクロファージを伴う炎症細胞浸潤は、CAD 誘発性リン脂質症でみられる典型的な全身性の色素沈着/泡沫状マクロファージ集簇と関連するものであった。高用量では色素沈着/泡沫状マクロファージを有するイヌで炎症性変化がみられたが、多くの例で胃の変性は認められなかった。したがって、この炎症細胞浸潤は胃の変性/萎縮とは異なる所見と考えられた。

イヌ 13 及び 26 週間投与試験では、40 mg/kg/日群の 13 週間投与後に胃底腺粘膜の変性/壊死がみられたが、20 mg/kg/日へ減量した結果、投与 26 週間後には認められなくなった。イヌ 39 週間投与試験では、13 週間の休薬後に胃の変化は回復傾向を示した。

イヌ 39 週間投与試験の胃に対する無毒性量は 2 mg/kg/日であった。この用量における曝露量 (AUC_{24h} 平均値, ベダキリン : 24.6 µg·h/mL, M2 : 12.5 µg·h/mL) は、臨床推奨用法・用量で 8 週間投与したときのヒト曝露量 (C208 試験 stage 1 の AUC_{24h} 平均値, ベダキリン : 22 µg·h/mL, M2 : 6 µg·h/mL) と比較して、ベダキリンは同程度, M2 は 2 倍高かったが、臨床推奨用法・用量で 24 週間投与したときのヒト曝露量 (C208 試験 stage 2 の AUC_{24h} 平均値, ベダキリン : 14 µg·h/mL, M2 : 3.6 µg·h/mL) は 8 週間投与より低いため、安全域は更に広い。

海外第 IIb 相試験では、胃腸障害（悪心、嘔吐など）と臨床パラメータ（ガストリン、ペプシノゲン I 及び II）の高値及び低値との間に、明らかな相関は認められなかった。また、ベダキリンの影響を示唆するこれらの臨床パラメータの変動は認められなかった【2.5.5.5.1.3】。

2.4.4.8.3.4 膵臓（外分泌）

膵臓の変化はマウス及びイヌでみられたが、ラットでは認められなかった。マウスでは、5 日間投与試験【2.6.6.3.1】の 100 mg/kg/日群、28 日間投与試験の 60 mg/kg/日群及び 13 週間投与試験の 30 mg/kg/日群で、腺房細胞の微小空胞化又は軽微な単細胞壊死がみられた。13 週間投与試験では、血清アミラーゼの増加がみられた。マウス 5 日間投与試験【2.6.6.8.3.1】では、ベダキリン及び M2 の両投与群でアミラーゼ及びリパーゼの増加がみられたが、病理組織学的な変化は認められなかった。イヌ 13 及び 26 週間投与試験では、40/20 mg/kg/日群の屠殺雌 2 例で亜急性膵炎がみられた。雌 1 例は重度の亜急性膵炎により状態悪化を呈したため投与 15 週に切迫屠殺された。また、投与 19 週に切迫屠殺された他の雌 1 例でも軽微な亜急性膵炎がみられた。慢性膵炎は、イヌ 2 及び 6 カ月間投与機序検討試験の 6 カ月間投与群の 40/20 mg/kg/日群及び 140 mg/kg/日週 2 回投与群、39 週間投与試験の 6 及び 18 mg/kg/日群及び 14 mg/kg/日週 3 回投与群でもみられた。イヌでは、膵炎に関連した血清アミラーゼ、リパーゼ及び cTLI の変化は認められなかった。イヌ 39 週間投与試験では、13 週間の休薬後に膵臓の変化は回復傾向を示した。

マウス及びイヌでは、膵臓の変化がリン脂質症とともにみられた。リン脂質症に関連した膵腺房細胞の微小空胞化は、他の CAD でも報告されている⁸⁾。

イヌ 39 週間投与試験の膵臓に対する無毒性量は 2 mg/kg/日であった。この用量における曝露量（AUC_{24h} 平均値、ベダキリン：24.6 µg·h/mL，M2：12.5 µg·h/mL）は、臨床推奨用法・用量で 8 週間投与したときのヒト曝露量（C208 試験 stage 1 の AUC_{24h} 平均値、ベダキリン：22 µg·h/mL，M2：6 µg·h/mL）と比較して、ベダキリンは同程度、M2 は 2 倍高かったが、臨床推奨用法・用量で 24 週間投与したときのヒト曝露量（C208 試験 stage 2 の AUC_{24h} 平均値、ベダキリン：14 µg·h/mL，M2：3.6 µg·h/mL）は 8 週間投与より低いため、安全域は更に広い。

海外第 IIb 相試験では、ベダキリンの影響を示唆するトリプシン様免疫活性物質の変動は認められなかった【2.5.5.5.1.3】。また、ベダキリン群に急性膵炎 SMQ（血中アミラーゼ増加及び血中ビリルビン増加）が報告されているが、重篤な有害事象は認められなかった。TBC2001 試験では急性膵炎 SMQ は認められなかった【2.5.5.4.2】。

2.4.4.8.3.5 肝臓

すべての動物種で小葉中心性肝細胞肥大がみられ、肝臓の血液生化学的パラメータの変化もみられた。マウスでは、5 日間投与試験の 60 及び 100 mg/kg/日群、28 日間投与試験の 30 及び 60 mg/kg/日群で肝臓の変化がみられた。同様な変化は 13 週間投与試験の 20 及び 30 mg/kg/日群でもみられ、ときに単細胞壊死及び壊死又は肉芽腫性炎症等を伴っていた。ラットでは、（小葉中心性）肝細胞肥大が 15 日間投与試験の 12 mg/kg/日以上群、13 週間投与試験の 24 mg/kg/日群、26 週間投与試験の 5 mg/kg/日以上群でみられ、空胞化又はリンパ・組織球性浸潤を伴っていた。肝臓の電子顕微鏡検査では、小葉中心性肝細胞に SER 増加及び層板状/結晶様構造が観察され、それぞれ酵素誘導及びリン脂質症を示すと考えられた。ラットでは、肝臓の変化は週あた

りの総投与量と関連していた。週あたりの総投与量が 75 mg/kg までであれば、肝臓の変化は全く認められないか軽度な適応性変化（小葉中心性肥大）のみが認められた。週あたりの総投与量が 84 mg/kg から 175 mg/kg では、軽度な肝毒性（単細胞/限局性壊死）がみられたが、休薬 1 カ月後には回復傾向を示した。週あたりの総投与量が 500 mg/kg では明らかな肝毒性が認められた。イヌ 2 及び 6 カ月間投与機序検討試験では、2 カ月間投与（中間屠殺）群の 40 mg/kg/日群で胆管変性がみられたが、投与 57 日に 20 mg/kg/日へ減量した結果、6 カ月間投与群では適応性変化（肝細胞肥大及びリン脂質症）のみがみられた。肝細胞肥大は 6 カ月間投与（最終屠殺）群の 10 mg/kg/日群及び 39 週間投与試験の 18 mg/kg/日群では認められなかった。

肝細胞肥大は、ラット 26 週間投与試験では 12 週間の休薬により完全に回復し、イヌ 1 カ月間投与試験では 1 カ月間の休薬後に回復傾向を示した。

肝細胞肥大は酵素誘導による適応性変化と考えられた⁹⁾。これはベダキリン投与によりラット肝臓の電子顕微鏡検査で SER 増加が観察されたこと【2.6.6.3.6】、並びにラット及びイヌを用いた *ex vivo* 酵素誘導試験の結果【2.6.4.5.3.2】から示された。

肝臓における CAD 誘発性リン脂質症は、実験動物で多く報告されている。これらの多くはヒトでリン脂質症は認められていないが、ヒトの肝臓でリン脂質症及び肝障害がみられたとの報告が少数ある⁹⁾。

肝臓に対する無毒性量は、ラット 26 週間投与試験で 5 mg/kg/日未満、イヌ 39 週間投与試験で 18 mg/kg/日と考えられた。ラットの 5 mg/kg/日群における曝露量（AUC_{24h} 平均値、ベダキリン：11.7 µg·h/mL，M2：7 µg·h/mL）は、臨床推奨用法・用量で 8 週間投与したときのヒト曝露量（C208 試験 stage 1 の AUC_{24h} 平均値、ベダキリン：22 µg·h/mL，M2：6 µg·h/mL）と比較して、ベダキリンは低く、M2 は同程度であった。一方、イヌの 18 mg/kg/日における曝露量（AUC_{24h} 平均値、ベダキリン：173 µg·h/mL，M2：53 µg·h/mL）は、ヒト曝露量と比較して約 8～9 倍高かった。臨床推奨用法・用量は、最初の 2 週間に 400 mg を 1 日 1 回、その後は 200 mg を週 3 回投与するため、用量減量後はベダキリン及び M2 の蓄積が抑制される。臨床推奨用法・用量で 24 週間投与したときのヒト曝露量（C208 試験 stage 2 の AUC_{24h} 平均値、ベダキリン：14 µg·h/mL，M2：3.6 µg·h/mL）は 8 週間投与より低いため、安全域は更に広い。

海外第 IIb 相試験において、ベダキリン及びプラセボ群とも AST 高値が報告されたが、発現割合はベダキリン群の方が高かった【2.5.5.5.1】。また、ベダキリン群で肝障害 SMQ が認められたが、重篤な有害事象は認められなかった。国内外臨床試験において、肝不全は報告されなかった【2.5.5.4.1】。

2.4.4.8.3.6 その他の器官

(1) 腎臓

腎臓の変化はラットのみでみられた。ラット反復投与試験では、13 週間投与試験（24 mg/kg/日群）、26 週間投与試験（5 mg/kg/日以上群）又は幼若ラット反復投与試験（45 mg/kg/日群）では、雌雄で皮髄境界部の鉍質沈着がみられ、雄で尿細管の好塩基性変化又は腎症がみられた。血清尿素窒素、クレアチニン、K 又は標準的な尿検査パラメータの変化は認められなかった。血漿中の Ca 増加又は無機 P 減少がみられたが、回復期間終了後にこれらの所見は回復し、皮髄境界部の鉍質沈着及び腎症は回復傾向を示した。腎症はリン脂質症誘発剤の長期投与に対する適応

性変化と考えられ¹⁰⁾，本薬投与により自然発生性の所見が軽度が増悪したと考えられた。ラットで観察された腎臓所見の臨床的意義は限定的と考えられる。

(2) 眼

イヌ 2 及び 6 カ月間投与機序検討試験では、40/20 mg/kg/日群の投与 2 カ月に化膿性結膜炎、投与 3 及び 4 カ月に散瞳後の異常な光不耐がみられた。投与 3 カ月以降には 40/20 mg/kg/日群及び 140 mg/kg/日週 2 回投与群で角膜混濁/薄濁がみられた。その他にはタペタムの反射低下及び斑点形成も認められた。これらの所見には、2 及び 6 カ月間投与群の病理組織学的検査で観察された涙腺（第三眼瞼リンパ組織）の線維性組織球増生や全身状態悪化が関連している可能性がある。39 週間投与試験では、18 mg/kg/日まで投与しても眼科学的検査及び病理組織学的検査で眼の変化は認められなかった。ラットを用いたベダキリンの定量的全身オートラジオグラフィーではブドウ膜に放射能濃度が認められたが【2.6.5.5E】，マウス及びラット反復投与試験で眼への影響は認められなかった【2.4.3.3】。

CAD の中には、実験動物及びヒトにおいて、角膜、タペタム又は網膜でリン脂質症様の変化が観察されているものがあるが、角膜の変化は、通常、可逆的である¹¹⁾。

(3) 精巣

イヌ 2 及び 6 カ月間投与機序検討試験では、6 カ月間投与群の全投薬群で慢性炎症（精細管周囲の炎症細胞浸潤）及び精細管萎縮が観察された。この変化はセルトリ細胞間の密着結合が障害された場合に生殖細胞に対する免疫反応として生じるため、セルトリ細胞が標的細胞である可能性が示唆される。セルトリ細胞は精上皮内で貪食細胞としての機能を有するため、リン脂質症を誘発することが知られている¹²⁾。本試験では精巣上体頭部に非常に軽微な空胞が観察され、リン脂質症と一致する変化であった¹³⁾。しかし、精巣の変化は 2 カ月間投与（中間屠殺）群で認められなかったことから、細胞の機能が障害されてファゴリソソームが形成されるまでに長期間要すると考えられる。

精巣の萎縮は、CAD であるクロロキンのげっ歯類への投与で報告されている¹⁴⁾。

(4) 甲状腺

ラットで甲状腺の濾胞上皮細胞肥大が、1 カ月間投与試験の 75 mg/kg/日週 2 回投与群、13 週間投与試験の 24 mg/kg/日群、26 週間投与試験の 20 mg/kg/日群及び 20 mg/kg/日週 2 回投与群でみられ、26 週間投与試験では 12 週間の休薬後に完全に回復した。Ex vivo 試験のベダキリン高用量では、ラット及びイヌで UDP-GT の活性が誘導された【2.4.3.4】。

ラットにおける甲状腺濾胞上皮細胞の肥大は、肝薬物代謝酵素活性の増加に関連したサイロキシシンクリアランスの増加によって代償性に生じたものと考えられた¹⁵⁾。この変化はげっ歯類に特異的であり、ヒトで生じる可能性は低いと考えられる¹⁶⁾。

2.4.4.8.4 遺伝毒性の評価

細菌を用いる復帰突然変異試験、マウスリンフォーマ *Tk* 試験及びマウス骨髄小核試験の結果から、ベダキリンに遺伝毒性はないと判断した。マウス骨髄小核試験の高用量群（640 mg/kg）における曝露量（AUC_{8h}）の平均値は、雄 52.6 µg·h/mL 及び雌 42.0 µg·h/mL であった。

2.4.4.8.5 がん原性の評価

ラットがん原性試験でベダキリンフマル酸塩を雄に 20 mg/kg/日まで、雌に 10 mg/kg/日まで投与しても腫瘍性病変の増加は認められず、ベダキリンにがん原性はないと判断された。この用量における曝露量（AUC_{24h} 平均値、ベダキリン：雄 22.4 µg·h/mL 及び雌 41.2 µg·h/mL，M2：雄 18.5 µg·h/mL 及び雌 14.7 µg·h/mL）は、臨床推奨用法・用量で 8 週間投与したときのヒト曝露量（C208 試験 stage 1 の AUC_{24h} 平均値、ベダキリン：22 µg·h/mL，M2：6 µg·h/mL）と比較して、ベダキリンについては雄で 1.0 倍、雌で 1.9 倍であり、M2 については雄で 3.1 倍、雌で 2.5 倍であった。

マウスはベダキリンに対して忍容性が低いこと、また、他の動物種及びヒトと代謝の程度が異なり、代謝物 M2 の血漿中濃度がベダキリンより高く、ベダキリンの血漿中濃度が治療量を投与したヒト曝露量より低いことから、マウスがん原性試験は実施しなかった。

2.4.4.8.6 生殖発生毒性の評価

ラット受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験において、雌雄とも交尾能及び受胎能への影響は認められなかった。高用量群の雄の少数例で胚/胎児が得られなかったが、本試験及び 6 カ月までのラット反復投与試験で精巣及び精巣上体の病理組織学的検査で異常は認められなかったことから、本薬投与との関連性は明らかではなかった。雄親動物の生殖能に対する無毒性量は 6 mg/kg/日であり、この用量における曝露量（AUC_{24h}）はラット 13 週間投与試験からベダキリンで 6.9 µg·h/mL，M2 で 6.7 µg·h/mL と推定された。また、雌親動物の生殖能及び初期胚発生に関する無毒性量は 24 mg/kg/日であり、この用量における曝露量はベダキリンで 46.7 µg·h/mL，M2 で 37.2 µg·h/mL と推定された。雄親動物の生殖能に対する無毒性量におけるベダキリンの曝露量は、臨床推奨用法・用量で 8 週間投与したときのヒト曝露量（C208 試験 stage 1 の AUC_{24h} 平均値、ベダキリン：22 µg·h/mL，M2：6 µg·h/mL）より低く、M2 の曝露量はヒト曝露量と同程度であった。雌親動物の無毒性量におけるベダキリン及び M2 の曝露量は、臨床推奨用法・用量で 8 週間投与したときのヒト曝露量（C208 試験 stage 1）の 2 倍以上高かった。

ラット及びウサギ胚・胎児発生に関する試験では、母体毒性を示す用量でも催奇形性は認められなかった。ラットでは 45 mg/kg/日群で体重増加量及び摂餌量の減少、胎児体重の減少がみられた。ウサギでは 100 mg/kg/日群で体重増加量及び摂餌量の減少、流産、着床前胚損失率の増加による着床数及び生存胎児数の減少がみられた。着床前胚損失率の増加については、着床後に投与が開始されたことから、本薬投与に関連するものではないと判断した。また、胎児体重の増加がみられ、内臓検査で膀胱拡張の軽度な発生頻度増加がみられた。膀胱拡張は胎児の正常発生の一部と考えられ、対照群でもよくみられる所見であることから、胎児が大きいことを反映するものであり、毒性学的意義に乏しいと考えられた。母動物及び胎児に対する無毒性量は、ラットで

ともに 15 mg/kg/日（母動物の AUC_{24h} 平均値、ベダキリン：50.2 $\mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$ ，M2：12.1 $\mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$ ），ウサギでそれぞれ 30 mg/kg/日及び 100 mg/kg/日以上（母動物の AUC_{24h} 平均値，ベダキリン：31.8 $\mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$ ，M2：8.7 $\mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$ ）であった。妊娠ラットでベダキリンの胎盤通過が認められたが、胎児の曝露量は低値であった【2.4.3.3】。胎児に対する無毒性量におけるラット及びウサギ母動物の曝露量は、臨床推奨用法・用量で 8 週間投与したときのヒト曝露量（C208 試験 stage 1 の AUC_{24h} 平均値，ベダキリン：22 $\mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$ ，M2：6 $\mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$ ）と比較して、ベダキリンで 2.3 倍及び 1.4 倍，M2 で 2.0 倍及び 1.5 倍であった。

ラット出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験では、母動物の分娩、出生児の機能発達及び生殖能に対する影響は認められなかった。45 mg/kg/日群では、 F_0 母動物で授乳期間中の体重増加量及び摂餌量の減少、 F_1 出生児で出生時の体重減少、授乳期間中の体重増加量の減少及び離乳前の空中立ち直り反応の獲得日の遅延がみられた。授乳期間中の体重増加量の減少については、交叉哺育試験の結果から、子宮内曝露によるものではなく、乳汁を介した曝露によるものと考えられた。乳汁中のベダキリン濃度は、母動物の血漿中濃度より高く、授乳 7 日の 15 mg/kg/日群で 7.6 $\mu\text{g/mL}$ であった。乳汁中の M2 濃度はベダキリンの 1/3～1/6 であった【2.6.6.6.8】。また、空中立ち直り反応の獲得日の遅延は、 F_1 出生児に対する直接的な影響ではなく、低体重によるものと考えられた。 F_0 母動物に対する無毒性量は 15 mg/kg/日、 F_1 出生児の成長に関する無毒性量は 15 mg/kg/日、 F_1 出生児の機能発達及び生殖能に対する無毒性量は 45 mg/kg/日と判断した。15 mg/kg/日群における F_0 母動物の AUC_{24h} はベダキリンで 22.4 $\mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$ ，M2 で 11.2 $\mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$ ， F_1 出生児の AUC_{24h} はベダキリンで 58.1 $\mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$ ，M2 で 13.5 $\mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$ であった。これらは、臨床推奨用法・用量で 8 週間投与したときのヒト曝露量（C208 試験 stage 1 の AUC_{24h} 平均値，ベダキリン：22 $\mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$ ，M2：6 $\mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$ ）と比較して、ベダキリンは F_0 母動物で同程度， F_1 出生児で 2.6 倍，M2 は F_0 母動物で 1.9 倍， F_1 出生児で 2.3 倍であった。

2.4.4.8.7 幼若動物の評価

ベダキリンフマル酸塩を生後 24～60 日齢の幼若ラットに投与したが、忍容性は良好であり、無毒性量は 15 mg/kg/日であった。45 mg/kg/日群（高用量群）でみられた変化は成熟ラットと同様であり、新たな毒性標的器官は認められなかった。無毒性量における雄及び雌の曝露量（ AUC_{24h} ）は、ベダキリンで 13.1 及び 35.6 $\mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$ ，M2 で 10.5 及び 16.3 $\mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$ であり、ベダキリンを同用量投与した成熟ラットと同程度であった。これらは、臨床推奨用法・用量で 8 週間投与したときのヒト曝露量（C208 試験 stage 1 の AUC_{24h} 平均値，ベダキリン：22 $\mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$ ，M2：6 $\mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$ ）と比較して、ベダキリンは 1.1 倍，M2 は 2.2 倍であった。

2.4.4.8.8 不純物の評価

原薬には、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（ICH Q3A）で安全性の確認の対象となる不純物【類縁物質A*】が含まれる。このため、2%【類縁物質A*】を添加したベダキリンフマル酸塩を用いて安全性を評価した。その結果、細菌を用いる復帰突然変異試験及びマウスリンフォーマ Tk 試験はいずれも陰性であった。また、ラット 2 週間反復投与毒性試験において、2%【類縁物質A*】添加ベダキリンフマル酸塩とベダキリンフマル酸塩の毒性プロファイルに大き

な差は認められなかった。本不純物の規格限度値は、毒性学的に安全性が確認されたレベル未満に設定されている【2.3.S.3.2】。

2.4.5 総括及び結論

ベダキリンは *M. tuberculosis*（多剤感受性及び耐性株）を含むマイコバクテリウム属に対して殺菌活性を示し、マイコバクテリウム属以外の菌種に対しては活性がない。マウス及びモルモット *M. tuberculosis* 感染モデルに対してベダキリンは、単独投与及び既存の抗結核薬との併用投与によって殺菌作用を示した。

ベダキリンの代謝物 M2 及び M3 の抗菌活性は、ベダキリンと比較すると M2 は 1/4～1/7，M3 は 1/100～1/300 であった。

副次的薬理試験において、ベダキリンと受容体、イオンチャネル又はトランスポーターとの *in vitro* 相互作用を検討した。ベダキリンはヒスタミン 2 受容体、ナトリウムチャネル及びドパミントランスポーターと相互作用を示した。

ベダキリンは、ヒト曝露量を超える濃度で中枢神経系及び呼吸系に影響を及ぼさなかった。

ベダキリン及び M2 は、*in vitro* 試験で I_{Kr} 及び I_{Ks} 電流を阻害したが、*in vitro* 及び *in vivo* で心筋細胞の再分極を遅延させず、無麻酔イヌ又はテレメトリー装着イヌにおいて心電図に影響を及ぼさなかった。イヌ 6 カ月間反復投与試験では、投与 8 週に 40 mg/kg/日群で QTc 間隔延長がみられたが、20 mg/kg/日へ減量後に認められなくなった。イヌ 9 カ月間反復投与試験において QT/QTc 間隔への影響は認められなかった。臨床試験では有害事象として心電図 QT 延長が認められた。

マウス、ラット、イヌ及びサルにベダキリン又はベダキリンフマル酸塩を単回経口投与したとき、ベダキリンの吸収は良好であり、消失は緩やかであった。M2 の曝露量はマウスではベダキリンよりも高かったのに対し、ラット、ウサギ、イヌ及びサルではベダキリンと同程度又はやや低かった。マウス、ラット及びイヌにベダキリン又はベダキリンフマル酸塩を反復経口投与したとき、ベダキリン及び M2 の曝露量はいずれの動物種においても用量の増加とともに増加し、マウスでは M2 の方がベダキリンよりも高かったが、ラット及びイヌでは同程度又はベダキリンの方が M2 よりもやや高かった。また、イヌでは投与 13 週までに定常状態に達していることが考えられた。ベダキリン及び M2 はいずれも組織に広範に分布し、概して副腎、肺、脾臓、リンパ節及び胸腺に多く認められた。組織内濃度が概して M2 の方がベダキリンよりも高かったことは、リン脂質症誘発能が M2 の方がベダキリンよりも高かったことと一致した。ベダキリン及び M2 の血漿中タンパク結合率は極めて高かった。ベダキリンの代謝に関与する主要な CYP 分子種は CYP3A4 であった。ベダキリンの代謝は緩やかであり、ヒトを含むすべての種で *N*-モノ脱メチル化された M2 が主要な代謝物であり、M2 はさらに *N*-モノ脱メチル化されて M3 が生成された。ベダキリンは CYP 分子種を顕著に誘導又は阻害しなかったため、薬物動態学的相互作用が起こる可能性は低いと考えられた。また、M2 は数種の CYP 分子種を阻害したが、臨床用量で投与しても CYP 分子種を阻害する可能性は低いと考えられた。一方、CYP3A4 誘導剤はベダキリンの曝露量を減少させる可能性があり、CYP3A4 阻害剤であるケトコナゾールとの併用により、ベダキリンの曝露量はわずかに増加した。ラット、イヌ及びサルに ^{14}C -ベダキリン又はベダキリンフマル酸塩を単回経口投与したとき、放射能は主に糞中に排泄された。ラットの出生前及び出生後

の発生に関する試験では、ベダキリン及び M2 は乳汁中に排泄された。

反復経口投与毒性試験におけるベダキリンの主な標的器官は、MPS、筋肉（骨格筋及び心筋）、胃、膵臓及び肝臓であった。

ベダキリン及び主代謝物 M2 は CAD の特徴を有しており、主として MPS にリン脂質症を誘発した。リン脂質症はすべての動物種（マウス、ラット、イヌ）でみられ、主にリンパ系組織（リンパ節及び脾臓）、肺、肝臓、胃、骨格筋、膵臓及び子宮で色素沈着又は泡沫状マクロファージ増加として観察された。リン脂質症は、毒性変化というより主に適応性変化と考えられている。また、休薬により回復するとされ、ベダキリンでもイヌ及びラットで回復性が確認された。ヒトへの関連性は不明である。

骨格筋の変性/壊死がマウス、ラット及びイヌでみられ、AST、CPK 又はミオグロビンの増加を伴っていた。この所見は高用量又は長期投与でみられ、休薬又は減量により回復性が認められた。臨床試験では、これらに関連する安全性上重大な問題は認められなかった。

心筋の変性/壊死がイヌのみでみられた。この所見は心筋細胞の変性を伴う軽微なリンパ・組織球性浸潤又は軽微な心内膜下の線維化としてみられ、CPK 及び cTnI の増加を伴っていた。臨床試験では、これらに関連する安全性上重大な問題は認められなかった。

胃底腺の変性/萎縮がマウス及びイヌでみられた。臨床試験では、胃のバイオマーカーに重要な変化は認められなかった。

膵臓の腺房細胞萎縮を伴う慢性膵炎がイヌでみられ、腺房細胞の微小空胞化及び軽微な単細胞壊死がマウスでみられた。マウスではアミラーゼ及びリパーゼの増加も認められた。臨床試験では、これらに関連する安全性上重大な問題は認められなかった。

肝細胞肥大が、マウス、ラット及びイヌでみられた。この所見は酵素誘導を示す適応性変化であり、ヒトに対する毒性学的な意義は乏しいと考えられた。ラット及びイヌへの間欠投与では、連日投与より良好な忍容性を示した。ラットでは肝臓の変化がベダキリンの週あたりの総投与量に関連し、週あたりの投与回数にかかわらず、75 mg/kg/週までは適応性変化を示し、84 mg/kg/週以上では肝毒性を示した。

MPS、骨格筋、心筋、胃、膵臓又は肝臓所見の明らかな回復性がラット及びイヌでは休薬 1 又は 3 カ月後に認められ、イヌでは毒性用量から減量後にも回復性が認められた。

その他に腎臓、眼、精巣及び甲状腺の変化がみられたが、1 試験のみでみられるか他の所見に続発してみられるものであり、重要性は低いと考えられた。

In vitro 及び *in vivo* 遺伝毒性試験の結果から、ベダキリンに遺伝毒性は認められなかった。

ラットがん原性試験では、ベダキリンフマル酸塩投与に関連した腫瘍の増加は認められなかった。

生殖発生毒性試験では、ラットで受胎能及び生殖能への影響は認められなかった。受胎能試験の高用量群の雄少数例で胚/胎児が得られなかったが、受胎能試験及び 6 カ月間までの反復投与試験で精巣及び精巣上体に病理組織学的な異常は認められず、本薬投与との関連性は明らかではなかった。ラット及びウサギで催奇形性は認められなかった。ラットで母動物の分娩、出生児の機能発達及び生殖能への影響は認められなかった。授乳期間中の出生児の体重増加量減少は、乳汁を介したベダキリン曝露によるものと考えられた。ベダキリンに対する幼若ラットの忍容性は良好であった。

ベダキリンに免疫毒性，光毒性，皮膚感作性及び眼刺激性は認められなかった。

以上の非臨床試験の結果は，MDR-TB 患者にベダキリンとして 400 mg を 1 日 1 回 2 週間経口投与した後，200 mg を週 3 回 22 週間経口投与したときの有用性及び安全性を支持するものであった。

2.4.6 参考文献

- 1) de Zwart L, et al. The ontogeny of drug metabolizing enzymes and transporters in the rat. *Reprod Toxicol.* 2008;26(3-4):220-30.
- 2) Lüllmann H, et al. Drug-induced phospholipidoses. II. Tissue distribution of the amphiphilic drug chlorphentermine. *CRC Crit Rev Toxicol.* 1975;4(2):185-218.
- 3) Reasor MJ, et al. Drug-induced phospholipidosis: Issues and future directions. *Expert Opin Drug Saf.* 2006;5(4):567-83.
- 4) Greaves P. Musculoskeletal system. In: *Histopathology of preclinical toxicity studies: Interpretation and relevance in drug safety evaluation*, fourth edition. Amsterdam: Elsevier AP;2012.P.157-206(P.191).
- 5) Drenckhahn D, et al. Experimental myopathy induced by amphiphilic cationic compounds including several psychotropic drugs. *Neuroscience.* 1979;4(4):549-62.
- 6) Vonderfecht SL, et al. Myopathy related to administration of a cationic amphiphilic drug and the use of multidose drug distribution analysis to predict its occurrence. *Toxicol Pathol.* 2004;32(3):318-25.
- 7) Greaves P. Cardiovascular system. In: *Histopathology of preclinical toxicity studies: Interpretation and relevance in drug safety evaluation*, fourth edition. Amsterdam: Elsevier AP;2012.P.263-324 (P.271,279).
- 8) Stebbins KE, et al. Spinosad insecticide: subchronic and chronic toxicity and lack of carcinogenicity in CD-1 mice. *Toxicol Sci.* 2002;65(2):276-87.
- 9) Greaves P. Liver and pancreas. In: *Histopathology of preclinical toxicity studies: Interpretation and relevance in drug safety evaluation*, fourth edition. Amsterdam: Elsevier AP;2012.P.433-535 (P.459-461).
- 10) Greaves P. Urinary tract. In: *Histopathology of preclinical toxicity studies: Interpretation and relevance in drug safety evaluation*, fourth edition. Amsterdam: Elsevier AP;2012.P.537-614 (P.552-555).
- 11) Greaves P. Nervous system and special sense organs. In: *Histopathology of preclinical toxicity studies: Interpretation and relevance in drug safety evaluation*, fourth edition. Amsterdam: Elsevier AP;2012.P.799-866 (P.826-827,831).

- 12) Greaves P. Male genital tract. In: Histopathology of preclinical toxicity studies: Interpretation and relevance in drug safety evaluation, fourth edition. Amsterdam: Elsevier AP;2012.P.615-666 (P.645).
- 13) Creasy DM. TOX7305: 6 Month repeated dose oral toxicity study of TMC207 with 3 month interim kill in the Beagle dog (Mechanistic study). Histopathological review of testes and epididymides. Expert Report to Study No. TMC207-NC165, February 2007.
- 14) Fitzhugh OG, et al. The chronic oral toxicity of chloroquine. J Pharmacol Exp Ther. 1948;93(2): 147-52.
- 15) Wu KM, et al. Preclinical development of new drugs that enhance thyroid hormone metabolism and clearance: inadequacy of using rats as an animal model for predicting human risks in an IND and NDA. Am J Ther. 2006;13(2):141-4.
- 16) Capen CC. Thyroid and parathyroid toxicology, mechanisms of toxicity: Thyroid follicular cells. In: Harvey PW, Rush KC, Cockburn A, editors. Endocrine and hormonal toxicology. Chichester: John Wiley & Sons;1999.P.42-47.