ラスビック点滴静注キット 150mg

(ラスクフロキサシン塩酸塩)

第 2 部　CTD の概要(サマリー)

2.4　非臨床試験の概括評価

杏林製薬株式会社

目次

2.4.1 非臨床試験計画概略 4
2.4.1.1 薬理試験計画の概略 4
2.4.1.2 薬物動態試験計画の概略 4
2.4.1.3 毒性試験計画の概略 4
2.4.2 薬理試験 4
2.4.2.1 効力を裏付ける試験 4
2.4.2.2 安全性薬理試験 6
2.4.2.2.1 中枢神経系に対する作用 6
2.4.2.2.2 心血管系及び呼吸系に対する作用 6
2.4.2.2.3 その他 6
2.4.3 薬物動態試験 6
2.4.3.1 吸収 6
2.4.3.2 分布 7
2.4.3.3 代謝 7
2.4.3.4 排泄 7
2.4.4 毒性試験 8
2.4.4.1 単回投与毒性試験 8
2.4.4.2 反復投与毒性試験 8
2.4.4.3 遺伝毒性試験 10
2.4.4.4 がん原性試験 10
2.4.4.5 生殖発生毒性試験 10
2.4.4.6 局所刺激性試験 12
2.4.4.7 光毒性試験 13
2.4.4.8 関節毒性試験 13
2.4.4.9 代謝物の毒性試験 14
2.4.4.10 不純物の毒性試験 15
2.4.5 総括及び結論 15
2.4.5.1 薬理試験 15
2.4.5.1.1 効力を裏付ける試験 15
2.4.5.1.2 安全性薬理試験 16
2.4.5.2 薬物動態試験 16
2.4.5.3 毒性試験 17
2.4.5.4 結論 18
2.4.6 参考文献 18

表一覧

表 2.4.4-1 反復静脈内投与毒性試験で見られた主な所見の無毒性量における血中濃度と臨床血中濃度の比較 8
表 2.4.4-2 各生殖発生毒性試験の無毒性量における血中濃度と臨床血中濃度との比較 11
表 2.4.4-3 AM-1977 の反復静脈内投与試験における薬液濃度及び局所障害性病変発現の関係 13
表 2.4.4-4 イヌにおける関節毒性の無毒性量における血中濃度と臨床血中濃度との比較 14

略語及び専門用語一覧表

抗菌薬等の表記

試験には AM-1977 塩酸塩、AM2012-008(代謝物)及び　物質A＊　塩酸塩(注射剤の不純物)を使用し、本文中の記載は AM-1977、AM2012-008 及び　物質A＊　とした。他の抗菌薬は、試験にはフリー体、塩又は水和物を使用し、本文中の記載は下記の略語を使用した。また、AM-1977、物質A＊　及び他の抗菌薬の投与量及び濃度はフリー体として数値を表記した。

＊新薬承認情報提供時に置き換えた。

略語	用語の説明
CPFX	シプロフロキサシン(Ciprofloxacin)
GRNX	ガレノキサシン(Garenoxacin)
LVFX	レボフロキサシン(Levofloxacin)
MFLX	モキシフロキサシン(Moxifloxacin)
PZFX	パズフロキサシン(Pazufloxacin)

菌種

略語及び専門用語	用語の説明
E. coli	*Escherichia coli*
H. influenzae	*Haemophilus influenzae*
L. pneumophila	*Legionella pneumophila*
M. catarrhalis	*Moraxella catarrhalis*
M. pneumoniae	*Mycoplasma pneumoniae*
S. aureus	*Staphylococcus aureus*
S. pneumoniae	*Streptococcus pneumoniae*
MRSA	methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*
MSSA	methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus*

その他の用語

略語及び専門用語	用語の説明
AUC	血漿中濃度曲線下面積
$AUC_{0\text{-}24}$	投与 0 から 24 時間後までの AUC
AUC_t	投与間隔 t (= 24 時間)までの AUC
C_{max}	最高血漿中濃度
*f*AUC/MIC	血漿中タンパク非結合体濃度曲線下面積の最小発育阻止濃度に対する比
FOB	機能観察総合評価法：Functional Observation Batter
gpt delta ラット	大腸菌 *gpt* 遺伝子導入ラット
hERG	human ether-à-go-go-related gene
IC_{50}	50%阻害濃度
MBC	最小殺菌濃度
MIC	最小発育阻止濃度
MIC_{90}	90%最小発育阻止濃度
MPC	Mutant Prevention Concentration
MPC_{90}	Mutant Prevention Concentration for 90% of isolates
MSW	Mutant Selection Window
PD	薬力学
PK	薬物動態
PMN	末梢血好中球
QTc	補正 QT 間隔
sub MIC	MIC の 1/2 濃度
Tg-rasH2 マウス	ヒト型 c-Ha-ras 遺伝子導入マウス
マウスリンフォーマ *Tk*	マウスリンフォーマ・チミジンキナーゼ

2.4.1　非臨床試験計画概略

ラスビック点滴静注キットの薬理試験、薬物動態試験及び毒性試験の評価はラスビック錠75mg(経口剤)の承認申請時に提出された資料(1.13.1.3)に、一部の試験を追加した。注射剤開発に際して追加した毒性試験及び安全性薬理試験は厚生省令第21号「医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準に関する省令」(平成9年3月26日)を遵守し、AM-1977の投与部位への影響及び代謝物(AM2012-008)の試験は「医薬品の臨床試験及び製造販売承認申請のための非臨床安全性試験の実施についてのガイダンス」(平成22年2月19日、薬食審査0219第4号)、注射剤の不純物(　物質A＊　)に関する試験は「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の改定について」(平成14年12月16日、医薬審発第1216001号)及び「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」(平成15年6月24日、医薬審発第0624001号)に従い、実施した。

2.4.1.1　薬理試験計画の概略

薬理試験では、ヒト血漿中濃度シミュレーションモデルにおける殺菌効果を評価する試験を実施した。

安全性薬理試験では、　物質A＊　の心血管系(hERG電流)に対する作用を評価した。

＊新薬承認情報提供時に置き換えた。

2.4.1.2　薬物動態試験計画の概略

新たな試験は実施していない。

2.4.1.3　毒性試験計画の概略

毒性試験では、ウサギを用いる局所刺激性試験を実施し、ラット及びイヌ反復静脈内投与試験の成績も合わせAM-1977の投与部位における毒性を評価した。代謝物については、ラットを用いる骨髄小核試験を実施し、遺伝毒性を評価した。不純物については、小核誘発性の評価を組み込んだラット2週間反復投与試験、細菌を用いる復帰突然変異試験、ほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験、及び*gpt* deltaラットを用いる遺伝子突然変異試験を実施し、反復投与毒性及び遺伝毒性を評価した。

今回の承認申請にあたり、新たな試験を実施していない場合も、経口剤承認申請資料(1.13.1.3)を引用し、試験成績を要約した。

2.4.2　薬理試験

2.4.2.1　効力を裏付ける試験

AM-1977は好気性及び嫌気性のグラム陽性菌及びグラム陰性菌、並びに非定型菌に対し幅広い抗菌スペクトルを示した。特に、呼吸器感染症の起因菌である臨床分離*S. pneumoniae*、*H. influenzae*及び*M. catarrhalis*に対するMIC_{90}は0.06 μg/mLであり、高い抗菌活性を示した。臨床分離グラム陽性及びグラム陰性嫌気性菌に対して、AM-1977はLVFX、GRNX及びMFLXと同程度以上の高い抗菌活性を示し、特に誤嚥性肺炎の起因菌である口腔内連鎖球菌、*Fusobacterium*属及び*Prevotella*属に対する抗菌活性が高かった。臨床分離非定型菌に対するAM-1977のMIC_{90}は、*L. pneumophila*では0.06 μg/mL、マクロライド耐性*M. pneumoniae*では0.25 μg/mLであり、高い抗菌活性を示した。また、AM-1977のヒトPMNに対する移行性はLVFXよりも3.8倍高く、GRNXと同程度であったことから、*L. pneumophila*、*M. pneumoniae*等の細胞内寄生菌による感染症に対する高い有効性が期待された。

キノロン耐性株に対する AM-1977 の MIC は類薬(LVFX、GRNX 及び CPFX)と同様に標的酵素への点変異の影響を受け上昇した。しかしながら、*S. pneumoniae* 及び *S. aureus* のキノロン耐性化に伴う AM-1977 の MIC 上昇は類薬より小さく、AM-1977 の MIC はキノロン耐性 *S. pneumoniae* (*gyrA*, *parC* 二重変異株)に対して 0.25～0.5 μg/mL、高度キノロン耐性 *S. aureus* (*grlA*, *gyrA*, *grlA*, *gyrA* 四重変異株)に対して 2 μg/mL であり、LVFX、GRNX 及び CPFX よりも 4～128 倍高い抗菌活性を示した。また、キノロン耐性 *E. coli* に対する AM-1977 の MIC は 0.5 μg/mL であり、良好な抗菌活性が認められた。

DNA gyrase 及び Topoisomerase IV に対する AM-1977 の阻害活性は、グラム陽性菌である *S. pneumoniae* 及び *S. aureus* 由来の酵素に対して LVFX 及び GRNX より高かった。特に、キノロン耐性決定領域に一箇所のアミノ酸変異を有する *S. aureus* 由来の DNA gyrase 及び Topoisomerase IV に対する阻害活性は LVFX 及び GRNX より 10 倍以上高く、この高い阻害活性が AM-1977 のキノロン耐性菌を含むグラム陽性菌に対する高い抗菌活性に反映されていることが示唆された。グラム陰性菌である *E. coli* 由来の酵素に対する阻害活性は、LVFX、GRNX 及び CPFX と同程度又はやや低かった。

AM-1977 の殺菌作用について検討したところ、*S. pneumoniae*、*S. aureus* 及び *E. coli* に対する MBC は MIC と同程度であった。また、*S. pneumoniae*、MSSA、MRSA 及び *E. coli* の増殖曲線に対して MIC 又は MIC の 2 倍以上の薬物濃度で濃度依存的な殺菌作用を示した。以上より、AM-1977 はこれらの菌に殺菌的に作用することが明らかとなった。

AM-1977 の耐性菌選択性を検討したところ、*S. pneumoniae*、*S. aureus* 及び *E. coli* を MIC の 4～16 倍濃度の AM-1977 を含有する培地で培養しても耐性菌は出現しなかった。また、*S. pneumoniae* 及び *S. aureus* を sub MIC の薬物存在下で 7 回継代培養した際の AM-1977 に対する薬剤感受性の変化(耐性獲得能)は小さかった。耐性菌出現リスクについて検討するため、AM-1977 の MPC を測定した。MSSA 臨床分離株に対する MPC_{90} は 0.06 μg/mL で、MSW は 0.015～0.06 μg/mL であった。*S. pneumoniae* 標準細菌株及び臨床分離株に対する MPC はいずれも 0.125 μg/mL で、MSW は 0.06～0.125 μg/mL であった。ヒトに AM-1977 を 1 日目 300 mg、2 日目以降 150 mg を反復静脈内投与したときの 1 日目のトラフ値(初回投与の 24 時間後)は 0.847 μg/mL (2.7.2.2.2.2 参照)であり、MSW を上回っていたことから、耐性菌出現リスクは小さいことが示唆された。

ヒト血漿中濃度シミュレーションモデルを用いて、*S. pneumoniae* に対する AM-1977 300 mg 単回静脈内投与時の殺菌効果を検討したところ、LVFX 500 mg 単回静脈内投与モデルで再増殖が認められたキノロン耐性変異株(*gyrA* 変異株又は *parC* 変異株)を用いても再増殖は認められず、AM-1977 が高い殺菌効果を有することが示唆された。

AM-1977 は、*S. aureus* によるマウス全身感染モデルに対して、皮下投与及び経口投与により用量依存的な感染防御効果を示し、その効果は LVFX 及び GRNX と同程度以上であった。AM-1977 は、*S. pneumoniae* によるマウス肺感染モデルに対して、皮下投与及び経口投与により用量依存的な治療効果を示し、その効果は LVFX 及び GRNX に比べ高かった。また、同モデルに対して AM-1977 又は LVFX を単回経口投与の臨床使用時と同程度の曝露となるよう投与し、殺菌効果を経時的に評価したところ、AM-1977 は測定した全ての時間で LVFX と比較して高い殺菌効果を示した。

S. pneumoniae 及び *S. aureus* による免疫抑制マウス大腿筋感染モデルを用いた PK-PD 試験で、AM-1977 の治療効果は *f*AUC/MIC と高い相関を示した。投与開始 24 時間後の大腿筋内菌数が治療開始時の 1/100 (2 log kill)になるのに必要な *f*AUC/MIC を解析したところ、*S. pneumoniae* 感染モデル及び *S. aureus* 感染モデルでそれぞれ 28.3 及び 24.6 であった。健康成人に AM-1977 を 1 日目 300 mg、2 日目以降 150 mg を反復静脈内投与した際の 1 日目の AUC_t (32.5 μg･h/mL)、*S. pneumoniae*

及び *S. aureus* に対する MIC_{90} (0.06 及び 0.015 μg/mL)、並びに AM-1977 のタンパク結合率(0.740)より、これらの菌種における臨床での *f*AUC/MIC はそれぞれ 141 及び 563 であった。これらの値は、マウス大腿筋感染モデルの *f*AUC/MIC よりも大きかったことから、臨床推奨用法・用量で十分な臨床効果が期待できるものと思われた。

2.4.2.2　安全性薬理試験

2.4.2.2.1　中枢神経系に対する作用

ラットの中枢神経系に対し、AM-1977 は、単回経口投与(Irwin 変法)で 1000 mg/kg (血漿中濃度：14.5 μg/mL)まで影響しなかったが、単回静脈内投与(FOB 法)では 50 mg/kg (血漿中濃度：33.3 μg/mL)以上で影響することが示唆された。ラット中枢神経系における安全域は、臨床推奨用量(KRPAM1977Y-I103 試験、2.7.2.2.2.2 参照)の C_{max} (臨床 C_{max}：3.00 μg/mL)の 5 倍程度であった。

2.4.2.2.2　心血管系及び呼吸系に対する作用

心血管系(HEK293 細胞を用いる hERG 電流測定)に対し、AM-1977 は抑制作用(IC_{50}：241 μmol/L)を示し、MFLX の抑制作用(IC_{50}：約 100 μmol/L)より約 2.4 倍弱かった。また、イヌの心血管系(無麻酔非拘束下テレメトリー測定)に対し、単回静脈内投与(1 時間持続注入)において 25 mg/kg(血漿中濃度：12.5 μg/mL)では有意な変化は認められなかったが、50 mg/kg (血漿中濃度：26.7 μg/mL)では QTc 間隔の有意な延長作用を示し、MFLX は 12.5 及び 25 mg/kg で QT 間隔の有意な延長作用を示した。イヌ心血管系における安全域は、臨床 C_{max} の 4 倍であった。

イヌの呼吸系(呼吸数及び血液ガス測定)に対し、単回静脈内投与(1 時間持続注入)で 50 mg/kg まで影響しなかった。イヌ呼吸系における安全域は、臨床 C_{max} の 9 倍であった。

2.4.2.2.3　その他

AM-1977 は 1000 mg/kg 単独経口投与でも、また、4-ビフェニル酢酸(フェンブフェンの活性代謝物)及びフルルビプロフェンアキセチルとの併用でもラットに痙攣を誘発しなかったので、血漿中濃度より推定される安全域は、臨床 C_{max} の 5 倍程度であった。

AM-1977 は、大部分の受容体、イオンチャネル、トランスポーター及び酵素活性に対し、30 μmol/L で阻害率 50%未満であったが、ムスカリン M_3 受容体結合及びアセチルコリンエステラーゼに対しては阻害作用を示した(IC_{50} はそれぞれ 16.2(7.1)及び 10.8(4.7) μmol/L (μg/mL))。

物質A＊　の hERG 電流に対する作用について、hERG を発現させた HEK293 細胞を用いてホールセルパッチクランプ法により検討した。物質A＊　は、hERG 電流を濃度依存的に抑制し、300 μmol/L の抑制率は 47.1%であった。物質A＊　の IC_{50} は約 300 μmol/L と推測されることから、物質A＊　の hERG 電流抑制作用は AM-1977 (IC_{50}：241 μmol/L)と同程度と考えられた。

＊新薬承認情報提供時に置き換えた。

2.4.3　薬物動態試験

2.4.3.1　吸収

[^{14}C]AM-1977 塩酸塩 10.83 mg/kg (AM-1977 として 10 mg/kg)を絶食下のラットに、また、[^{14}C]AM-1977 塩酸塩 2.17 mg/kg (AM-1977 として 2 mg/kg)を絶食下のイヌに単回静脈内投与(溶媒：$MgCl_2$ 含有生理食塩液)したとき、血漿中放射能濃度は、それぞれ投与直後(0.083 h)で最高値(5.46 及び 1.38 μg eq. of AM-1977/mL)に達した。ラット血漿中放射能の半減期は 4.3 時間であった。イヌ血漿中放射能の消失は二相性を示し、一相目(2～24 h)の半減期が 5.7 時間、二相目(36～168 h)の半減期が 43 時間であった。イヌの血液中放射能濃度は、血漿中放射能濃度とほぼ同様に推移した。

ラットに反復静脈内投与したとき、C_{max} 及び AUC は投与量の増加に伴って増加した。同一投与量の C_{max} に明確な雌雄差は認められなかったが、雄の AUC_{0-24} は雌よりわずかに高値であった。イヌに単回及び反復静脈内投与したとき、C_{max} 及び AUC は投与量の増加に伴って増加した。ラットと同様に顕著な雌雄差は認められなかった。

2.4.3.2　分布

[^{14}C]AM-1977 10 mg/kg を絶食下のラットに単回静脈内投与したとき、血漿中の総放射能濃度は投与後 0.5 時間で最高濃度を示した。組織内の総放射能濃度はほとんどの組織で投与 0.5 時間後に最高濃度に達した。この時点では多くの組織で血漿中総放射能濃度より高い値を示した。その後、組織中の総放射能濃度は減少し、投与後 72 時間以降では、ほとんどの組織で総放射能濃度が検出限界未満となった。

この結果より、AM-1977 及びその由来成分は投与後、広く組織に分布することが明らかとなった。また、それらは時間経過に伴い消失し組織残留性を示さなかった。

[^{14}C]AM-1977 10 mg/kg を有色ラットに経口投与したとき、眼球ブドウ膜の総放射能濃度は消失が遅く、AM-1977 及びその由来成分はメラニン親和性を有することが示唆された。しかしながら、緩慢にも消失を示すことから当該組織への分布は不可逆的な蓄積ではないと考えられた。

2.4.3.3　代謝

[^{14}C]AM-1977 をラット、イヌ及びヒト肝細胞懸濁液中に添加したとき、いずれの動物種においても、AM2012-008 及びグルクロン酸抱合体が生成した。AM2012-008 の生成速度はラット肝細胞で大きく、イヌ、ヒトの順であった。

[^{14}C]AM-1977 10 mg/kg を絶食下のラットに単回で静脈内又は経口投与したとき、血漿中には主として未変化体及び AM2012-008 が認められた。尿中には未変化体及び AM2012-008、糞中には未変化体、胆汁中にはグルクロン酸抱合体が認められた。[^{14}C]AM-1977 2 mg/kg を絶食下のイヌに単回で静脈内又は経口投与したとき、血漿中には主として未変化体が、その他にグルクロン酸抱合体及び UK10 認められた。尿中には主に AM2012-008 が、糞中には未変化体が認められた。ラット及びイヌにおいて、AM-1977 の一部は、主として AM2012-008 又はグルクロン酸抱合体へ代謝され、AM2012-008 は尿中へ、グルクロン酸抱合体は主に胆汁中へ排泄された。

2.4.3.4　排泄

[^{14}C]AM-1977 10 mg/kg を絶食下のラットに単回静脈内投与したとき、9.1%が尿中に、90.8%が糞中に排泄された。投与後 48 時間までに、それぞれ投与放射能の 98.8%以上が尿糞中に排泄され、体内からの排泄は速やかであった。また、[^{14}C]AM-1977 10 mg/kg を、胆管カニューレを施した絶食下のラットに単回静脈内投与したとき、投与後 48 時間までに投与量の 71.8%が胆汁中に、8.2%が尿中に、14.3%が糞中にそれぞれ排泄された。この結果より、ラットの主要な排泄経路は胆汁を介した糞中排泄であることが明らかとなった。

[^{14}C]AM-1977 2 mg/kg を絶食下のイヌに単回静脈内投与したとき、14.6%が尿中に、81.4%が糞中に排泄された。同様に経口投与では、投与後 168 時間までに、投与放射能の 14.1%が尿中に、79.2%が糞中に排泄された。投与後 168 時間までに、投与放射能の 94.7%以上が尿糞中に排泄された。以上の結果より、イヌもラット同様に主要な排泄経路は糞中排泄であることが明らかとなった。

2.4.4　毒性試験

2.4.4.1　単回投与毒性試験

ラットについては単回静脈内投与毒性試験を実施しなかったため、反復静脈内投与毒性試験における投与1日目(初回投与後)の試験成績で評価した。雌雄とも100 mg/kgまで死亡は認められず、概略の致死量は100 mg/kg以上であると推定された。一般状態の変化として、100 mg/kg群で不規則呼吸、運動性低下及び半眼といった中枢神経系への影響が観察された。

イヌの単回静脈内投与毒性試験では、75 mg/kgまで死亡例は見られず、概略の致死量は75 mg/kg以上と推定された。一般状態の変化として、75 mg/kg群で運動性低下や強直性痙攣などの中枢神経系への影響が観察された。

2.4.4.2　反復投与毒性試験

反復静脈内投与毒性試験で見られた主な所見の無毒性量における血中濃度と臨床血中濃度との比較を表 2.4.4-1 に示す。

表 2.4.4-1　反復静脈内投与毒性試験で見られた主な所見の無毒性量における血中濃度と臨床血中濃度の比較

毒性所見	動物種	投与経路	投与期間	性	無毒性量 (mg/kg/日)	C_{max} [a] (μg/mL)	AUC_{0-24} [a] (μg·h/mL)	臨床血中濃度 [b] との比	
								C_{max}	AUC
中枢神経系への影響(嘔吐/流涎以外)	ラット	静脈内	2週間 4週間	雌雄	30 30	12.5 14.0	21.9 26.3	4.2 4.7	0.7 0.8
	イヌ	静脈内	2週間 4週間	雌雄	30 30	19.8 14.6	67.5 61.7	6.6 4.9	2.1 1.9
嘔吐/流涎	イヌ	静脈内	2週間 4週間	雌雄	12.5 12.5	6.13 5.81	27.0 23.9	2.0 1.9	0.8 0.7
QTc間隔延長	イヌ	静脈内	2週間 4週間	雌雄	30 30	19.8 14.6	67.5 61.7	6.6 4.9	2.1 1.9
免疫系への影響	ラット	静脈内	2週間	雄	30	13.2	26.3	4.4	0.8
消化管への影響	イヌ	静脈内	2週間	雌雄	30	19.8	67.5	6.6	2.1
白血球減少	イヌ	静脈内	2週間 4週間	雌雄	30 30	19.8 14.6	67.5 61.7	6.6 4.9	2.1 1.9

a：平均値、ただし雌雄の場合は両性を合わせた平均値(投与期間2週間の試験は投与14日目、同4週間の試験は投与28日目の値より算出)

b：AM-1977 150 mg/日 (投与1日目は300 mg/日)を健康成人男性に7日間反復静脈内投与したとき、投与1日目における C_{max} (3.00 μg/mL)及び AUC_t (32.5 μg·h/mL) (KRPAM1977Y-I103試験、2.7.2.2.2.2参照)

AM-1977の反復静脈内投与毒性試験において、中枢神経系、心血管系、免疫系及び消化管への影響、並びに白血球減少が認められた。

中枢神経系への影響については、ラットの100 mg/kg/日投与で流涎、不規則呼吸、運動性低下及び半眼、イヌの75 mg/kg/日投与で運動性低下、よろめき歩行、半眼、振戦、間代性痙攣などの症状が観察された。サルの4週間反復経口投与試験のための用量設定試験において100 mg/kg/日投与で間代性痙攣、傾眠、振戦、散瞳及び体のふらつきなどの症状が観察された。これらの症状に対し、ラットでは臨床 C_{max} の4.2倍、イヌでは4.9倍、サルでは4.4倍の安全域があることが確認された。また、イヌの反復静脈内投与試験及びサルの4週間反復経口投与試験のための用量設定試験では高用量以外にも嘔吐及び流涎が見られ、安全域は臨床推奨用量における C_{max} と比較してそれぞれ1.9倍、1.2倍であった。臨床比較試験(KRPAM1977Y-I301、2.7.3.2.2参照)においてみ

られた有害事象のうち、治験薬との関連性が否定できない神経系障害の発現割合は 0.7%(1/143 例)、悪心及び嘔吐の発現割合はそれぞれ 1.4%(2/143 例)、0.7%(1/143 例)であり、いずれも対照の LVFX 群と同程度の発現割合であった。以上より、臨床使用において中枢神経系への影響が懸念される可能性は低いと考えられた。

心血管系への影響として、イヌの 2 週間及び 4 週間反復静脈内投与試験の 75 mg/kg/日で QTc 間隔の延長が見られた。心血管系に対する無毒性量である 30 mg/kg/日における C_{max} は臨床推奨用量における C_{max} の 4.9 倍であった。サルの 4 週間反復経口投与試験でも QTc 間隔の延長がみられており、無毒性量投与時の C_{max} は臨床の 2.7 倍であった。臨床 QT/QTc 評価試験(KRPAM1977X-T111 試験、2.7.4.4.2.2.2 参照)では、AM-1977 450 mg 以上の単回経口投与で QTc 間隔の延長作用が陽性であり、そのときの C_{max} は 3.44 μg/mL であった。これは静脈内投与の臨床推奨用量における C_{max} の 1.1 倍以上に相当した。以上、非臨床試験では 4.9 倍の安全域が確認されたが、臨床試験において注射剤の臨床推奨用量と同程度の C_{max} から QTc 間隔の延長作用が見られていることから、本剤の臨床使用においては十分注意する必要があると考えられた。

免疫系への影響については、ラット 2 週間反復静脈内投与試験の 100 mg/kg/日の雄において脾臓で白脾髄の胚中心形成が見られたが、血中の白血球数やグロブリン値に変動はなく、その他に免疫応答を示唆するような異常は認められなかった。無毒性量である 30 mg/kg/日の雄における C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24}$ はそれぞれ 13.2 μg/mL 及び 26.3 μg·h/mL であり、臨床と比較すると、C_{max} で 4.4 倍、$AUC_{0\text{-}24}$ で 0.8 倍の安全域であった。4 週間の静脈内投与試験で胚中心形成は観察されておらず、また 2 週間及び 4 週間の経口投与試験を含め、投与期間終了時に胚中心形成が見られたいずれの試験においても、回復性期間終了時には胚中心形成は確認されなかった。イヌの 2 週間及び 4 週間反復静脈内投与試験では、高用量の 75 mg/kg/日まで胚中心形成は認められず、臨床推奨用量における C_{max} 及び AUC_t と比較して、C_{max} で 18 倍、$AUC_{0\text{-}24}$ で 6.0 倍の安全域が確認された。サルにおいても同様の所見は認められず、4 週間経口投与試験の結果から、臨床と比較して C_{max} で 4.4 倍及び $AUC_{0\text{-}24}$ で 4.8 倍の安全域が確認された。また、臨床試験においてリンパ球数の増加や過敏症など、免疫の過剰反応との関連を示唆する有害事象は発現していない。以上、ラット反復投与試験で見られた脾臓の胚中心形成は回復性があり、またイヌ及びサルの反復投与試験で同様の所見は観察されていないことから、ラットに特異的な変化である可能性が考えられた。また、臨床試験で免疫の過剰反応を示唆する有害事象も観察されていないことから、臨床で重篤な影響を及ぼす可能性は低いと考えられた。

消化管への影響として、イヌ 2 週間反復静脈内投与試験の 75 mg/kg/日において胃に変性壁細胞の増加が見られた。しかしながら、胃への直接的な障害像や増殖性病変は観察されず、またイヌ 4 週間静脈内投与試験で認められなかったことから、長期投与により増悪する変化ではないと考えられたため、毒性学的意義の低い変化であると判断した。イヌの反復静脈内投与試験及びサルの 4 週間反復経口投与試験のための用量設定試験において嘔吐が観察され、安全域は臨床推奨用量における C_{max} と比較して、イヌで 1.9 倍、サルで 1.2 倍であった。また、キノロン系抗菌薬でしばしば認められる下痢や軟便は観察されなかった。そのほか、薬理作用による腸内細菌叢の変化に関連したと考えられる脂質系パラメータの変化などが見られたが、既存のキノロン系抗菌薬で認められた変化 [1), 2)] と大きく相違するものは確認されず、臨床で重篤な消化管障害が生じる可能性は低いと考えられた。

血液系への影響として、イヌの反復静脈内投与試験において白血球の減少が見られた。成熟イヌの反復静脈内投与関節毒性試験でも同様の変化が現れており、骨髄検査で骨髄細胞数や顆粒球系細胞数の低値があわせて確認された。白血球数(好中球数、リンパ球数など)や骨髄細胞数(比)の低値は他のキノロン系抗菌薬でも報告されている [1), 3) - 6)]。AM-1977 の試験で見られた変化も骨

髄に影響を及ぼしている可能性はあるものの、イヌの反復静脈内投与試験において、臨床推奨用量における C_{max} 及び AUC_t の 18 倍及び 6.0 倍の曝露となる用量でも骨髄の病理組織学的検査では異常は確認されなかった。また、ラット反復静脈内投与試験及びサル反復経口投与試験では白血球減少は認められておらず、各試験の最高用量における C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24}$ は、臨床推奨用量における C_{max} 及び AUC_t と比較して、それぞれラットで 15 倍及び 2.7 倍、サルで 4.4 倍及び 4.8 倍であった。なお、イヌ反復静脈内投与試験における白血球減少の無毒性量はいずれの試験も 30 mg/kg/日であり、臨床推奨用量における C_{max} 及び AUC_t と比較してそれぞれ 4.9 倍及び 1.9 倍の安全域であった。以上、イヌ反復静脈内投与試験で白血球減少が見られたものの、病理組織学的検査で骨髄組織の異常は観察されず、またラット及びサル反復投与試験で白血球減少は認められなかった。しかしながら、安全域が 1.9 倍と小さいことから、臨床使用において白血球減少に注意が必要であると考えられた。

2.4.4.3 遺伝毒性試験

In vitro 遺伝毒性に関しては細菌を用いる復帰突然変異試験は陰性、ほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験及びマウスリンフォーマ *Tk* 試験は陽性であった。マウスリンフォーマ *Tk* 試験の短時間処理法で遺伝子突然変異誘発作用を示さなかった濃度(15 μg/mL)は、臨床 C_{max} の 5.0 倍であった。

一方、*in vivo* 遺伝毒性に関しては静脈内投与によるラット骨髄小核試験、経口投与によるラット肝不定期 DNA 合成試験及び *gpt* delta ラットを用いる遺伝子突然変異試験はいずれも陰性であった。また、ラットで小核誘発作用が見られなかった 100 mg/kg を単回静脈内投与したときの C_{max} は 38.2 μg/mL(ラット 2 週間反復静脈内投与試験、投与 1 日目(雄))、*gpt* delta ラットで遺伝子突然変異誘発作用が見られなかった 300 mg/kg を 4 週間反復経口投与したときの C_{max} は 14.5 μg/mL であり、それぞれ臨床推奨用量における C_{max} と比較して 13 倍、4.8 倍高いことから、AM-1977 が生体内で遺伝毒性を示す懸念は低いと考えられた。

2.4.4.4 がん原性試験

Tg-rasH2 マウスに 26 週間反復経口投与するがん原性試験を実施した結果、雌雄ともにいずれの組織・器官に対してもがん原性は認められなかった。がん原性が認められなかった雌雄の高用量(雄：200 mg/kg/日、雌：300 mg/kg/日)における C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24}$ は、雄で 5.80 μg/mL 及び 35.8 μg·h/mL、雌で 5.32 μg/mL 及び 50.8 μg·h/mL であり、それぞれ臨床の 1.9 及び 1.1 倍、並びに 1.8 及び 1.6 倍であった。

以上より、がん原性に関して、臨床使用において AM-1977 の毒性学的懸念は低いものと考えられた。

2.4.4.5 生殖発生毒性試験

ラット及びウサギを用いた生殖発生毒性試験(胚・胎児に関する試験) では、先に実施した経口投与による試験で母動物に影響が認められた用量の曝露量を考慮して用量設定し、静脈内投与による予備試験を実施した。その結果、母動物に影響が認められた用量の胚･胎児発生において、経口投与試験で見られなかった毒性は発現しなかったことから、静脈内投与特有の変化は発現しないと判断した。また、予備試験の全身曝露量($AUC_{0\text{-}24}$)を比較すると、投与経路による差異は小さいと考えられた。以上から、AM-1977 の全身曝露による生殖発生毒性は、経口投与と静脈内投与の間に差異はないと判断し、経口剤の申請資料をもとに AM-1977 注射剤の生殖発生毒性の評価を行った。

以下に、各生殖発生毒性試験の無毒性量における血中濃度と臨床血中濃度との比較を示す(表 2.4.4-2)。

表 2.4.4-2　各生殖発生毒性試験の無毒性量における血中濃度と臨床血中濃度との比較

毒性試験		無毒性量 (mg/kg/日)	C_{max} [a] (μg/mL)	AUC_{0-24} [a] (μg·h/mL)	臨床血中濃度 [b] との比	
					C_{max}	AUC
ラット受胎能及び着床までの初期胚発生(経口投与)	雄	80	6.50 [c]	78.7 [c]	2.2	2.4
	雌	<20	2.12 [c]	9.86 [c]	<0.7	<0.3
	初期胚発生及び生殖機能	300	13.5 [c]	170 [c]	4.5	5.2
ラット胚・胎児発生(経口投与)	母動物	3	0.305	0.807	0.1	<0.1
	胚・胎児	30	3.60	22.9	1.2	0.7
	催奇形性	30	3.60	22.9	1.2	0.7
ラット胚・胎児発生(静脈内投与、予備)	母動物	5	1.70	2.74	0.6	0.1
	胚・胎児	80	36.1	83.1	12	2.6
	催奇形性	80	36.1	83.1	12	2.6
ウサギ胚・胎児発生(経口投与)	母動物	1	0.0739	0.514	<0.1	<0.1
	胚・胎児	5	0.532	4.95	0.2	0.2
	催奇形性	30	3.02	24.4	1.0	0.8
ウサギ胚・胎児発生(静脈内投与、予備)	母動物	5	6.09	7.84	2.0	0.2
	胚・胎児	15	22.7	30.5	7.6	0.9
	催奇形性	25	48.1	65.4	16	2.0
ラット出生前及び出生後の発生並びに母体機能(経口投与)	母動物					
	一般毒性	3	0.305 [d]	0.807 [d]	0.1	<0.1
	生殖機能	300	13.9 [d]	162 [d]	4.6	5.0
	出生児	30	3.60 [d]	22.9 [d]	1.2	0.7

a：平均値

b：AM-1977 150 mg/日 (投与 1 日目は 300 mg/日)を健康成人男性に 7 日間反復静脈内投与したとき、投与 1 日目における C_{max} (3.00 μg/mL)及び AUC_t (32.5 μg·h/mL) (KRPAM1977Y-I103 試験、2.7.2.2.2.2 参照)

c：ラット 4 週間反復経口投与試験からの外挿値

d：ラット胚・胎児発生に関する経口投与試験からの外挿値

ラットの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、雄の無毒性量は 80 mg/kg/日、雌の無毒性量は 20 mg/kg/日未満であり、臨床と比較すると、C_{max} 及び AUC_{0-24} では、雄で 2.2 倍及び 2.4 倍、雌で 0.7 倍未満及び 0.3 倍未満であった。親動物の無毒性量の決定要因は一般状態の変化(雄：摂餌量減少に関連したと考えられる排便減少又は無便、雌：変化なし)、体重増加抑制及び摂餌量減少であったが、ラットの一般毒性については、反復投与毒性試験で安全性を担保しており、臨床使用上問題とならないと考えられた。雌雄とも生殖機能及び初期胚発生への影響は認められず、無毒性量は 300 mg/kg/日であり、臨床と比較すると、C_{max} で 4.5 倍、AUC_{0-24} で 5.2 倍であった。

ラットの胚・胎児発生に関して、本試験(経口投与)における妊娠ラットの無毒性量は 3 mg/kg/日であり、臨床と比較すると、C_{max} で 0.1 倍、AUC_{0-24} で 0.1 倍未満であった。胚・胎児発生及び催奇形性に関する無毒性量は 30 mg/kg/日であり、臨床と比較すると、C_{max} で 1.2 倍、AUC_{0-24} で 0.7 倍であった。なお、静脈内投与予備試験では、母動物の一般毒性に関する無毒性量は 5 mg/kg/日であり、臨床と比較すると、C_{max} で 0.6 倍、AUC_{0-24} で 0.1 倍であった。胚・胎児発生及び催奇形性に関する無毒性量は 80 mg/kg/日であり、臨床と比較すると、C_{max} で 12 倍、AUC_{0-24} で 2.6 倍であった。

ウサギの胚・胎児発生に関して、本試験(経口投与)における妊娠ウサギの無毒性量は 1 mg/kg/日であり、臨床と比較すると、C_{max}、AUC_{0-24} ともに 0.1 倍未満であった。また、胚・胎児発生の無毒性量については 5 mg/kg/日であり、臨床と比較すると、C_{max}、AUC_{0-24} ともに 0.2 倍であった。

催奇形性の無毒性量は 30 mg/kg/日であり、臨床と比較すると、C_{max} で 1.0 倍、AUC_{0-24} で 0.8 倍であった。なお、静脈内投与予備試験では、母動物の一般毒性に関する無毒性量は 5 mg/kg/日であり、臨床と比較すると、C_{max} で 2.0 倍、AUC_{0-24} で 0.2 倍であった。胚・胎児発生に関する無毒性量は 15 mg/kg/日、催奇形性に関する無毒性量は 25 mg/kg/日であり、臨床と比較し、各無毒性量における C_{max} 及び AUC_{0-24} は、胚・胎児発生でそれぞれ 7.6 倍及び 0.9 倍、催奇形性でそれぞれ 16 倍及び 2.0 倍であった。

ラットの出生前及び出生後の発生並びに母体機能に関する試験では、母動物の一般毒性に関する無毒性量は 3 mg/kg/日であり、臨床と比較すると C_{max} で 0.1 倍、AUC_{0-24} で 0.1 倍未満であった。母動物の無毒性量の決定要因は、摂餌量及び体重増加量の減少であったが、重篤な変化ではなく、一般状態の変化は認められなかった。母動物の生殖機能に関する無毒性量は 300 mg/kg/日、出生児に関する無毒性量は 30 mg/kg/日であり、臨床と比較すると、各無毒性量における C_{max} 及び AUC_{0-24} は、生殖機能でそれぞれ 4.6 倍及び 5.0 倍、出生児で 1.2 倍及び 0.7 倍であった。出生児の無毒性量における AUC_{0-24} は臨床と比較すると 1 倍未満となったが、高用量群(300 mg/kg/日群)まで、感覚機能、行動、学習能及び生殖機能に影響は認められなかった。なお、300 mg/kg/日群で 4 日生存率の低値及び発育遅延(体重の減少、身体的発達の遅延：耳介展開、切歯萌出及び眼瞼開裂)が認められたが、4 日生存率はごく軽度の低値で施設背景値の範囲内であり、発育遅延は母動物の摂餌量及び体重増加量の減少に関連した変化と考えられた。

以上より、ラット及びウサギの生殖発生毒性試験では、母動物、胚・胎児又は出生児に AM-1977 による影響が認められ、十分な安全域が得られなかった。動物実験で胎盤及び乳汁移行性が確認されていること、ヒトの妊娠中の投与に関する安全性が確立されていないことも踏まえ、妊娠又は妊娠している可能性のある女性には投与しないこととし、授乳中の女性についても本剤投与中の授乳は避けるべきであると考えられた。

2.4.4.6　局所刺激性試験

投与局所への刺激性評価は、ウサギの単回筋肉内投与試験並びにラット及びイヌの反復静脈内投与試験で実施した。

AM-1977 をウサギの外側広筋に単回投与した際の局所刺激性を「注射剤の局所障害性に関する試験法(案)」[7]に基づき評価した結果、0.2 w/v%ではグレード 2 [注1]、0.4 w/v%ではグレード 3 [注2]に分類された。また、0.2 w/v%及び 0.4 w/v% AM-1977 による障害の回復性は良好であった。既に国内で承認されているニューキノロン系抗菌薬の注射剤である、LVFX、CPFX 及び PZFX と比較して、AM-1977 注射剤のウサギ筋肉に対する障害性はこれらの薬剤と比して強いものではないと考えられた。

ラット 2 週間反復静脈内投与試験では 10～100 mg/kg/日のいずれの用量でも投与部位に変化は認められなかった。一方、4 週間反復静脈内投与試験では 100 mg/kg/日の雌で投与 15 日目以降に尾の投与部位やその周辺部(末梢側又は中枢側)に変色や硬化、尾の欠落が認められ、病理組織学的検査でも血管周囲の炎症性変化や皮膚炎といった障害性の病変が認められた。これらの変化は 4 週間の休薬により回復又は回復傾向を示した。イヌ 2 週間反復静脈内投与試験では 12.5～75 mg/kg/日のいずれの用量でも投与部位に変化は認められなかった。一方、4 週間反復静脈内投与試験では 30 mg/kg/日以上で投与部位やその中枢側に血栓が認められた。この所見は静脈壁の変

注 1　投与 2 日後及び 14 日後のいずれの判定結果も 0.425 w/v%酢酸と比べて、その局所障害性が弱いが、いずれかの判定結果が生理食塩水と比べ、その局所障害性が強い。

注 2　投与 2 日後及び 14 日後のいずれの判定結果も 1.7 w/v%酢酸と比べて、その局所障害性が弱いが、いずれかの判定結果が 0.425 w/v%酢酸と比べ、その局所障害性が同等又は強い。

性/壊死及び血管周囲の障害性変化を伴っていたが、これらの所見は休薬期間終了時には確認されなかった。反復静脈内投与試験で使用した投与薬液濃度と局所障害性病変発現の関係を以下の表2.4.4-3に示す。いずれの動物種も、投与期間の延長及び薬液濃度の上昇と障害性変化の発現に関連することが示された。

表 2.4.4-3　AM-1977 の反復静脈内投与試験における薬液濃度及び局所障害性病変発現の関係

反復静脈内投与試験	薬液濃度 (投与量)	局所障害性病変が見られた 薬液濃度 (投与量)
ラット 2 週間投与	1, 3, 10 mg/mL (10, 30, 100 mg/kg/日)	-
ラット 4 週間投与	1, 3, 10 mg/mL (10, 30, 100 mg/kg/日)	10 mg/mL (100 mg/kg/日)
イヌ 2 週間投与	2.5, 6, 15 mg/mL (12.5, 30, 75 mg/kg/日)	-
イヌ 4 週間投与	2.5, 6, 15 mg/mL (12.5, 30, 75 mg/kg/日)	6 mg/mL (30 mg/kg/日) 15 mg/mL (75 mg/kg/日)

-: 局所障害性病変なし

市販予定製剤では、これらの非臨床試験で使用した投与液にトロメタモールが添加されている。不純物のラット 2 週間反復静脈内投与試験において市販予定製剤と同様にトロメタモールを添加した投与液を使用して投与部位の局所障害性を確認したところ、AM-1977 単独投与及び 物質A＊ を添加した AM-1977 の投与のいずれにおいても投与部位に局所障害性の変化は見られなかった。

予定されている臨床使用濃度は 1.5 mg/mL (0.15 w/v%)であり、今回試験したウサギの筋肉内投与試験の濃度よりも低く、ラット及びイヌの反復静脈内投与試験で局所障害性が見られなかった濃度の 1/2～3/5 の濃度であること、並びにトロメタモールを添加した投与液においてもラットへの 2 週間反復静脈内投与により局所障害性の変化が見られていないことから、AM-1977 注射剤の臨床使用において局所障害性が生じる懸念は低いものと考えられた。

＊新薬承認情報提供時に置き換えた。

2.4.4.7　光毒性試験

ラットの単回経口投与光毒性試験では光毒性反応は認められなかった。このときの血漿中濃度は臨床 C_{max} の 8.7 倍以上であり、本剤の光毒性に関する懸念は小さいと考えられた。

2.4.4.8　関節毒性試験

ラットの反復投与毒性試験では関節への影響は認められなかった。若齢イヌ(投与開始 6 箇月齢)の反復静脈内投与毒性試験において、大腿骨又は上腕骨の関節軟骨にブリスター及び関節腔の滑液増加が観察された(1.13.1.3：ラスビック錠 75mg：2.6.6.3.7)が、C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24}$ で臨床のそれぞれ 4.9 倍、1.9 倍の安全域を有していた(表 2.4.4-4)。一方、関節軟骨の成長ピークを過ぎたと考えられる成熟イヌ(投与開始 16 箇月齢)に 2 週間反復静脈内投与することにより関節への影響を検討したところ、C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24}$ で臨床のそれぞれ 19 倍、7.3 倍の用量まで肩、肘、手根、股、膝及び足根関節に影響は見られなかった(表 2.4.4-4)。

関節毒性はヒトでは起こりにくいと考えられていることに加え、若齢イヌでは関節毒性が見られたものの無毒性量における C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24}$ は臨床 C_{max} 及び AUC_t を上回り、成熟イヌでは関節毒性は認められなかった。

以上のことから、本剤が臨床で関節毒性を発現する懸念は低いものと考えられた。

表 2.4.4-4　イヌにおける関節毒性の無毒性量における血中濃度と臨床血中濃度との比較

	月齢 (性別)	期間	無毒性量 (mg/kg/日)	C_{max} [a] (μg/mL)	AUC_{0-24} [a] (μg·h/mL)	臨床血中濃度 [b] との比	
						C_{max}	AUC
AM-1977	6 (雌雄)	2 週間	30	19.8	67.5	6.6	2.1
		4 週間	30	14.6	61.7	4.9	1.9
	16 (雄)	2 週間	75	57.8[c]	236[c]	19	7.3

a：平均値、ただし雌雄の場合は両性を合わせた平均値(投与期間 2 週間の試験は投与 14 日目、同 4 週間の試験は投与 28 日目の値より算出)

b：AM-1977 150 mg/日 (投与 1 日目は 300 mg/日)を健康成人男性に 7 日間反復静脈内投与したとき、投与 1 日目における C_{max} (3.00 μg/mL)及び AUC_t (32.5 μg·h/mL) (KRPAM1977Y-I103 試験、2.7.2.2.2.2 参照)

c：イヌ 2 週間反復静脈内投与試験(75 mg/kg/日、投与 14 日目、雄平均)

2.4.4.9　代謝物の毒性試験

AM-1977 150 mg(1 日目は 300 mg)を健康成人男性に 1 日 1 回、7 日間反復点滴静注した際(KRPAM1977Y-I103 試験、2.7.2.2.2.2 参照)、投与 1 日目における代謝物(AM2012-008)の曝露量が総曝露量の 10%程度であったため、AM2012-008 の安全性評価を実施した。代謝物(AM2012-008)の安全性評価に際して、新たにラットを用いる皮下投与による骨髄小核試験を実施し、提出済みの経口剤の申請資料と合わせて、一般毒性、*in vitro* 遺伝毒性、胚・胎児発生毒性を評価した。

代謝物の一般毒性は AM-1977 のサル 4 週間経口投与毒性試験で評価したところ、当該試験で見られた毒性所見は他の毒性試験と同様であった。サルに AM-1977 30 mg/kg/日を反復経口投与したときの AM2012-008 の曝露量は臨床 C_{max} (0.157 μg/mL)の 3.0 倍、臨床 AUC_t (2.74 μg·h/mL)の 2.5 倍になることから、代謝物の一般毒性評価はなされているものと判断した。

In vitro 遺伝毒性試験については、AM2012-008 の細菌を用いる復帰突然変異試験は陰性、マウスリンフォーマ *Tk* 試験は陽性であった。マウスリンフォーマ *Tk* 試験及び予備的に実施したほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験の結果から、AM2012-008 の *in vitro* 染色体異常誘発能は AM-1977 と同程度と考えられた。なお、マウスリンフォーマ *Tk* 試験の短時間処理法で遺伝子突然変異誘発作用を示さなかった濃度(10 μg/mL)は、臨床 C_{max} (0.157 μg/mL)の約 64 倍であった。AM2012-008 の *in vitro* 遺伝毒性試験成績は主薬である AM-1977 と同様の試験成績であったことから、*in vivo* における遺伝子突然変異誘発能の評価として *gpt* delta ラットに皮下投与した際の肝臓及び骨髄の変異頻度を指標とした遺伝子突然変異試験を実施した。*In vivo* 染色体異常誘発能の評価については、主薬の *in vivo* 小核試験において代謝物の曝露量(AUC_{0-24})が臨床 AUC の約 0.5 倍で陰性の結果が得られているが、新たにラットに AM2012-008 を皮下投与した際の骨髄細胞における小核誘発能を指標とした骨髄小核試験を実施した。その結果、*gpt* delta ラットにおいて遺伝子突然変異誘発作用は認められず、またラット骨髄細胞に対して小核誘発作用を示さなかった。AM2012-008 を *gpt* delta ラットに 4 週間反復皮下投与したときの C_{max} 及び AUC_{0-8} は、0.974 μg/mL 及び 1.63 μg·h/mL、ラットに 30 mg/kg 単回皮下投与したときの C_{max} 及び AUC_{0-8} は、1.54 μg/mL 及び 3.84 μg·h/mL であり、それぞれ臨床 C_{max} (0.157 μg/mL)及び AUC_t (2.74 μg·h/mL)の 6.2 倍及び 0.6 倍、9.8 倍及び 1.4 倍になることから、代謝物の *in vivo* 遺伝毒性評価はなされているものと判断した。

AM2012-008 を直接皮下投与したラット胚・胎児発生毒性に関する試験において、母動物の一般毒性及び胚・胎児発生のいずれも高用量の 30 mg/kg/日まで毒性学的影響は認められなかった。そのときの C_{max} は 1.85 μg/mL、AUC_{0-24} は 4.39 μg·h/mL であり、臨床 C_{max} 及び AUC_t との比較では、それぞれ 12 倍及び 1.6 倍になることから、代謝物の胚・胎児発生毒性評価はなされているものと判断した。

以上より、臨床使用においてAM2012-008の毒性学的懸念は低いものと考えられた。

2.4.4.10　不純物の毒性試験

注射剤の申請にあたり、安全性確認の閾値である0.2%を超える可能性のある製剤中不純物(物質A*)について、一般毒性試験としてラットを用いる2週間反復静脈内投与試験、*in vitro*遺伝毒性試験として細菌を用いる復帰突然変異試験及びほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験、並びに*in vivo*遺伝毒性試験として*gpt* deltaラットを用いる遺伝子突然変異試験を実施した。なお、ラット反復静脈内投与毒性試験では、骨髄細胞における小核誘発能を指標とした*in vivo*遺伝毒性評価も併せて実施した。

ラット2週間反復静脈内投与試験では、AM-1977単独投与で認められた症状や所見が 物質A* の添加により増強されることはなく、また、新たな投与起因性の変化も認められなかった。遺伝毒性については、遺伝子突然変異誘発能の評価として実施した細菌を用いる復帰突然変異試験及び*gpt* deltaラットを用いる遺伝子突然変異試験ではともに遺伝子突然変異を誘発せず、陰性を示した。一方、染色体異常誘発能の評価として実施したほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験では、AM-1977処理において確認されている染色体構造異常に加え、短時間処理法の代謝活性化系非存在下で倍数性異常の誘発が見られた。しかしながら、反復投与毒性試験にて検討した*in vivo*遺伝毒性評価では 物質A* 添加による影響は認められず、AM-1977単独投与と同様にラット骨髄細胞に対して小核誘発作用は示さなかった。

以上より、臨床使用において 物質A* の毒性学的懸念は低いものと考えられた。

＊新薬承認情報提供時に置き換えた。

2.4.5　総括及び結論

AM-1977の非臨床試験を実施し、明らかになった特徴を以下に示す。

2.4.5.1　薬理試験

2.4.5.1.1　効力を裏付ける試験

呼吸器感染症及び耳鼻科領域感染症の主要な起因菌である*S. pneumoniae*、*H. influenzae*、*M. catarrhalis*、*M. pneumoniae*、*L. pneumophila*等の各種好気性のグラム陽性菌及びグラム陰性菌、並びに非定型菌に対し、幅広い抗菌スペクトルを示した。中でもグラム陽性菌に対するAM-1977の抗菌活性は高く、既存のキノロン系抗菌薬に耐性化したグラム陽性菌に対しても高い抗菌活性を有し、キノロン耐性化の影響を受けにくいことが示唆された。また、嫌気性のグラム陽性菌及びグラム陰性菌に対して、AM-1977は類薬に比べて同程度以上の高い抗菌活性を示した。

AM-1977は、300 mg静脈内投与時のヒト血漿中濃度シミュレーションモデルにおいて、キノロン耐性変異株(*gyrA*変異株、*parC*変異株及び*gyrA*, *parC*二重変異株)を含む*S. pneumoniae*に対して高い殺菌効果を示し、24時間後まで菌の再増殖は認められなかった。また、*S. pneumoniae*によるマウス肺感染モデルに対し、単回経口投与の臨床使用時と同程度の曝露となるよう投与した際の殺菌効果を経時的に測定したところ、AM-1977は高い初期殺菌効果を示し、24時間後まで菌の再増殖が認められなかった。

キノロン系抗菌薬は、臨床での薬効発現及び耐性菌出現の抑制に際して、高いAUC/MIC及び高い血漿中濃度を有することが重要である。免疫抑制マウス大腿筋感染モデルを用いたPK-PD試験で、AM-1977の有効性は*f*AUC/MICと高い相関を示した。投与開始24時間後の大腿筋内菌数が治療開始時の1/100 (2 log kill)になるのに必要な*f*AUC/MICは、*S. pneumoniae*感染モデル及び*S. aureus*感染モデルでそれぞれ28.3及び24.6であった。健康成人におけるAM-1977を1日目300 mg、2日目以降150 mgを反復静脈内投与した際の1日目の*f*AUC/MICを*S. pneumoniae*及び*S. aureus*

に対する MIC_{90} より算出した場合、それぞれ 141 及び 563 であった。これらの値はマウス大腿筋感染モデルの *f*AUC/MIC と比較して大きかったことから、臨床での殺菌効果が期待された。このことはシミュレーションモデル及びマウス肺感染モデルの結果からも支持された。また、投与 1 日目のトラフ値(初回投与の 24 時間後)は 0.847 μg/mL であり(2.7.2.2.2.2 参照)、AM-1977 の *S. pneumoniae* 及び *S. aureus* 臨床分離株に対する MSW よりも高かった。これらのことから、臨床推奨用法・用量で十分な薬効発現及び耐性菌出現の抑制が期待できるものと思われた。

2.4.5.1.2　安全性薬理試験

AM-1977 は、ラットにおいて、臨床推奨用量(KRPAM1977Y-I103 試験、2.7.2.2.2.2 参照)の C_{max} (臨床 C_{max} : 3.00 μg/mL)の 5 倍程度の血漿中濃度で一般症状に影響を及ぼさず、抗炎症薬との併用でも痙攣誘発作用を示さなかったことから、中枢神経系に対して重大な影響を示さないことが示唆された。

心血管系について、AM-1977 の hERG 電流抑制作用の IC_{50} は 241 μmol/L (106 μg/mL)で、臨床 C_{max} の 35 倍(血漿中タンパク非結合体比では 136 倍)と推測された。また、イヌテレメトリー試験における無影響量の血漿中濃度(12.5 μg/mL)は臨床 C_{max} の 4 倍であったことから、心血管系に対して重大な影響を示さないことが示唆された。不純物の　物質A＊　も AM-1977 と同程度に hERG 電流を抑制したが、製剤中の　物質A＊　含量は AM-1977 よりも少ないことから催不整脈リスクに及ぼす影響は小さいものと考えられる。

その他、コリン系で認められた M_3 受容体拮抗作用及びアセチルコリンエステラーゼ阻害作用については臨床 C_{max} のそれぞれ 2.4 及び 1.6 倍(血漿中タンパク非結合体比では 9 及び 6 倍)で認められる作用であった。しかし、中枢神経系、心血管系及び呼吸系のいずれの *in vivo* 試験でもムスカリン M_3 受容体及びアセチルコリンエステラーゼが関与するような作用は認められていないことから、臨床推奨用量付近では懸念すべき作用が発現する可能性は低いと推察された。

以上、AM-1977 は、安全性薬理学的に臨床推奨用量付近で大きな問題となる作用はないと考えられる。

＊新薬承認情報提供時に置き換えた。

2.4.5.2　薬物動態試験

[^{14}C]AM-1977 をラットに静脈内投与したとき、血漿中の放射能濃度は投与後、速やかに最高濃度を示した。同時に中枢組織を除くほとんどの組織において、血漿中放射能濃度より高い値を示した。その後、組織中の放射能濃度は減少し、投与後 72 時間以降では、ほとんどの組織で放射能濃度が検出限界未満となった。このことから、AM-1977 及びその由来成分は投与後、広く組織に分布することが明らかとなった。また、それらは時間経過に伴い消失し組織残留性を示さなかった。同様に妊娠ラットに経口投与したとき、AM-1977 及びその由来成分は速やかに胎児へ移行した。母体及び胎児の組織へ分布した AM-1977 及びその由来成分は投与 24 時間後までに速やかに消失し、残留性を示さなかった。有色ラットに経口投与したとき、眼球ブドウ膜の放射能濃度は消失が遅く、AM-1977 及びその由来成分はメラニン親和性を有することが示唆された。

[^{14}C]AM-1977 をラット、イヌ及びヒト肝細胞反応液中に添加したとき、いずれの動物種においても、AM2012-008 及びグルクロン酸抱合体が生成した。AM2012-008 の生成速度はラット肝細胞で大きく、イヌ、ヒトの順であった。ラット及びイヌの生体内において、AM-1977 の一部は、主として AM2012-008 又はグルクロン酸抱合体へ代謝され、AM2012-008 は尿中へ、グルクロン酸抱合体は主に胆汁中へ排泄された。

[^{14}C]AM-1977 をラット及びイヌに静脈内投与したとき、速やかに尿又は糞中に排泄された。尿中への排泄率は小さく、主要な排泄経路は胆汁を介した糞中排泄であると考えられた。

[^{14}C]AM-1977 10 mg/kg をラットに単回経口投与したとき、投与 24 時間後までに胆汁中に投与量の 60.7%が排泄された。この胆汁をラットに単回十二指腸内投与したとき、投与放射能のうち 38%が再吸収され、AM-1977 の腸肝循環が認められた。

[^{14}C]AM-1977 10 mg/kg を授乳ラットに経口投与したときの結果より、AM-1977 及びその由来成分の一部は乳汁中へ移行し、血漿中濃度と並行な減少を示し、排泄された。

2.4.5.3　毒性試験

AM-1977 の反復静脈内投与による変化として、中枢神経系、心血管系、免疫系、消化管及び血液系に影響が見られた。

ラット及びイヌの反復静脈内投与試験において、中枢神経系への影響とされる症状が観察されているが、ラットでは臨床 C_{max} の 4.2 倍、イヌでは 4.9 倍の安全域があることが確認された。サルの反復経口投与試験においても中枢神経系への影響とされる症状が観察されているが、臨床 C_{max} の 4.4 倍の安全域が確認された。また、イヌの反復静脈内投与試験及びサルの 4 週間反復経口投与試験のための用量設定試験では高用量以外にも嘔吐及び流涎が見られ、臨床 C_{max} と比較してそれぞれ 1.9 倍、1.2 倍の安全域であった。臨床比較試験(KRPAM1977Y-I301、2.7.3.2.2 参照)においてみられた有害事象のうち、治験薬との関連性が否定できない神経系障害、並びに悪心及び嘔吐の発現割合はいずれも対照の LVFX 群と同程度であった。以上より、臨床使用において中枢神経系への影響が懸念される可能性は低いと考えられた。心血管系への影響として、イヌ反復投与試験の 75 mg/kg/日で QTc 間隔の延長が見られているが、作用が見られない 30 mg/kg/日における C_{max} は臨床の 4.9 倍であった。一方、臨床 QT/QTc 評価試験(KRPAM1977X-T111 試験、2.7.4.4.2.2.2 参照)において、AM-1977 450 mg 単回経口投与で QTc 間隔の延長作用が陽性であり、そのときの C_{max} は 3.44 μg/mL であった。これは静脈内投与の臨床推奨用量における C_{max} の 1.1 倍に相当した。以上、非臨床試験では 4.9 倍の安全域が確認されたが、臨床試験において注射剤の臨床推奨用量と同程度の C_{max} から QTc 間隔の延長作用が見られていることから、本剤の臨床使用においては十分注意する必要があると考えられた。ラット反復静脈内投与試験で脾臓の胚中心形成が見られたが、回復性が認められており、同様の所見がイヌ及びサルでは観察されていないこと、並びに臨床試験で免疫の過剰反応を示唆する有害事象が観察されていないことから、安全域は臨床 AUC_t 比で 1 倍を下回るものの、臨床で重篤な影響を及ぼす可能性は低いと考えられた。消化管への影響としては、既存のキノロン系抗菌薬で見られた変化と大きく相違するものはなく、臨床で重篤な消化管障害が生じる可能性は低いと考えられた。嘔吐については、臨床 C_{max} 比で 1.2 倍以上、臨床 AUC_t 比で 1.2 倍以下の安全域であったが、臨床第 I 相試験(KRPAM1977Y-I102、2.7.2.2.2.2 参照)において臨床推奨用量を上回る投与条件(400 mg を投与 1 日目は 1 日 2 回、2 日目以降は 1 日 1 回 6 日間)で反復静脈内投与した際にも嘔吐は見られておらず、また、臨床比較試験(KRPAM1977Y-I301、2.7.3.2.2 参照)においても悪心及び嘔吐の発現割合は対照の LVFX 群と同程度であったことから、臨床上、問題となる可能性は低いと考えられた。イヌ反復静脈内投与試験で白血球減少が見られたが、骨髄組織での病理組織学的変化は観察されず、またラット及びサルの反復投与試験で白血球減少は認められなかった。安全域は臨床 AUC_t 比で 1.9 倍と小さいことから、臨床使用において注意が必要であると考えられた。

遺伝毒性については、ほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験及びマウスリンフォーマ *Tk* 試験で陽性が見られたものの、静脈内投与骨髄小核試験、肝不定期 DNA 合成試験及び *gpt* delta ラットを用いる遺伝子突然変異試験ではいずれも陰性であり、生体内で遺伝毒性を示す懸念は低いと考えられた。

がん原性については、Tg-rasH2 マウスを用いた経口投与による短期がん原性評価において、雌

雄ともに高用量(雄：200 mg/kg/日、雌：300 mg/kg/日)までいずれの組織・器官に対しても認められなかった。

生殖発生毒性については、十分な安全域は得られなかった。またラットで胎盤移行性及び乳汁移行性が既に確認されていることに加え、妊婦又は妊娠している可能性のある女性に対する使用経験はなく、ヒトの妊娠中の投与に関する安全性が確立されていないことからも、妊娠又は妊娠している可能性のある女性に対する使用は禁忌とし、授乳期の女性についても服用中の授乳は避けるべきであると考えられた。

局所刺激性については、ウサギ単回筋肉内投与試験において軽度の局所刺激性があることが確認されたが、その回復性は良好であり、また筋肉に対する障害性は類剤と比して強いものではないと考えられた。ラット及びイヌの 4 週間反復静脈内投与試験で投与部位に影響がみられたが、市販予定製剤の 1.7 倍～2.0 倍の濃度まで局所障害性は観察されなかった。不純物のラット 2 週間反復静脈内投与試験において市販予定製剤と同様にトロメタモールを添加した製剤を使用してその影響を確認したところ、投与部位に局所障害性の変化は見られなかった。以上のことから、AM-1977 注射剤の臨床使用での局所障害が生じる懸念は低いものと考えられた。

光毒性試験において光毒性反応を示さなかったことから、本剤の光毒性に関する懸念は低いと考えられた。関節毒性はヒトでは起こりにくいと考えられていることに加え、若齢イヌの無毒性量における C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24}$ は臨床 C_{max} 及び AUC_t を上回り、更に成熟イヌでは関節に異常は認められなかったことから、本剤が関節毒性を発現する可能性は低いと考えられた。

代謝物(AM2012-008)について、経口剤の申請資料と合わせ、一般毒性、遺伝毒性、胚・胎児発生毒性を評価したところ、臨床使用において代謝物(AM2012-008)の毒性学的懸念は低いものと考えられた。

不純物(　物質A＊　)については、ラット 2 週間反復静脈内投与試験において AM-1977 単独投与で認められた所見が　物質A＊　の添加により増強されることはなく、また新たな投与起因性の変化も認められなかった。細菌を用いる復帰突然変異試験及び *gpt* delta ラットを用いる遺伝子突然変異試験ではともに遺伝子突然変異を誘発せず、陰性を示した。ほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験では、染色体構造異常に加え、倍数性異常の誘発が認められたが、*in vivo* 遺伝毒性評価ではラット骨髄細胞に対して小核誘発作用は示さなかった。以上のことから、臨床使用において不純物(　物質A＊　)の毒性学的懸念は低いものと考えられた。

＊新薬承認情報提供時に置き換えた。

2.4.5.4　結論

ラスビック錠 75mg(経口剤)申請時の提出資料より、AM-1977 の呼吸器感染症における主要な起因菌に対して高い抗菌活性が示されている。また、標的酵素に変異を有するキノロン耐性菌にも高い抗菌活性を示すことに加え、耐性菌を選択しにくい性質を有することが複数の試験により明らかにされており、マウス肺感染モデルを含む実験的感染モデルで、高い感染防御効果又は治療効果を示している。薬物動態的な性質として、AM-1977 は速やかな組織分布を示しており、生体内の AM-1977 は AM2012-008 及びグルクロン酸抱合体へ代謝され、尿及び胆汁中へ排泄され体内から消失した。毒性は、さらに、追加した非臨床試験成績を含め、既存のキノロン薬の注射剤で知られていない新規の毒性は認められていない。以上より、臨床使用にあたり注意喚起することにより毒性リスクは管理可能であり、AM-1977 は注射剤として、呼吸器感染症の新たな選択肢となると考えられた。

2.4.6　参考文献

1)　申請資料概要．ジェニナック錠 200 mg に関する資料．富山化学工業株式会社

http://www.pmda.go.jp/drugs/2007/P200700040/index.html (参照 2016-10-14)
2) 申請資料概要．オゼックス細粒小児用 15%に関する資料．富山化学工業株式会社 http://www.pmda.go.jp/drugs/2009/P200900055/index.html (参照 2016-10-14)
3) 医薬品インタビューフォーム．クラビット錠 250 mg、500 mg、細粒 10%．第一三共株式会社 https://www.medicallibrary-dsc.info/di/cravit_tablets_500mg/pdf/if_cvh_1508_12.pdf (参照 2016-10-14)
4) 申請資料概要．グレースビット錠 50 mg、細粒 10%(シタフロキサシン水和物)に関する資料．第一三共株式会社 http://www.pmda.go.jp/drugs/2008/P200800006/index.html (参照 2016-10-14)
5) New Drug Application. Levaquin (levofloxacin). Application No. 20634. U.S. Food and Drugs Administration.
6) 申請資料概要．プルリフロキサシンの概要．日本新薬株式会社、明治製菓株式会社、十全化学株式会社 http://www.pmda.go.jp/drugs/2002/P200200034/index.html (参照 2016-10-14)
7) 厚生省．注射剤の局所障害性に関する試験法(案)．医薬ジャーナル．1979;15(3):447-449
[資料番号 4.3-1]