

2.6.6 毒性試験の概要文

2.6.7 毒性試験の概要表

## 2.6.6 毒性試験の概要文

### 2.6.6.1 まとめ

アレンドロネートの単回投与毒性、反復投与毒性、遺伝毒性、がん原性、生殖発生毒性、局所刺激性及びその他の毒性試験結果については、既承認の静注剤 [4.3.1] 及び1日1回投与製剤 (5mg錠) 資料概要 [4.3.2] 中で報告した。欧米における市販後の副作用事例報告に関する再評価において、一部の患者 (特に、本薬の服用に関する使用上の注意を遵守しない場合あるいは胃食道逆流疾患を有する患者の場合) で食道に対する刺激性が報告されている。しかし、マウス、ラット及びイヌを用いた一般毒性試験において、本薬の食道刺激性を示唆する所見はみられなかった。これらの試験では胃管を用いて薬物を直接胃内に投与しており、食道刺激性を評価するにはより長時間にわたり薬物を食道に滞留させる必要があると考えられた。したがって、食道に薬液が逆流した条件を模したイヌの試験系を用いて、本薬及び他のビスホスホネート系薬物 (リセドロネート及びティルドロネート) の食道刺激性試験を実施した。その結果、ビスホスホネート系薬物による食道刺激性は投与量 (ビスホスホネート濃度) 及び投与薬液の pH 並びに投与頻度に依存することが示唆された。すなわち、食道刺激性を誘発するには人工胃液 (pH2.0 以下) に溶解した高濃度薬液を連日反復注入する必要があることが判明した。

今回、アレンドロネートの食道刺激性と投与間隔の関係を調査する目的で、高濃度溶液の単回投与及び間歇反復投与後の食道刺激性について追加検討した。その結果、高濃度アレンドロネート溶液 (0.8mg/mL、pH2.0) の単回投与あるいは週1回、4週間間歇反復投与では食道刺激性がほとんど認められなかったが、その半分の濃度 (0.4mg/mL、pH2.0) の週2回、4週間間歇反復投与では食道刺激性が認められた。したがって、投与間隔をあけることで、アレンドロネートの食道刺激性は減弱することが示唆された。

これらの追加試験は [REDACTED]にて FDA (米国食品医薬品局) の GLP に準拠して実施された。

### 2.6.6.2 単回投与毒性試験

該当資料なし。

### 2.6.6.3 反復投与毒性試験

該当資料なし。

### 2.6.6.4 遺伝毒性試験

該当資料なし。

#### 2.6.6.5 がん原性試験

該当資料なし。

#### 2.6.6.6 生殖発生毒性試験

該当資料なし。

#### 2.6.6.7 局所刺激性試験

##### 2.6.6.7.1 イヌにおける単回投与食道刺激性試験 [4.2.3.6.1]

ペプシン含有人工胃液 (pH2.0) に 0.8mg/mL の濃度になるように溶解したアレンドロネート溶液 50mL を麻酔下のイヌの食道 (口腔側 1/3 の部位) に 30 分間かけて持続注入した。10 例中 5 例の動物を翌日に、残りの 5 例の動物については 7 日後に屠殺し、食道粘膜に対する刺激性を検討した。その結果、アレンドロネートの食道刺激性を示唆する食道の肉眼的変化は認められなかった。病理組織学的検査において、食道の糜爛や潰瘍はみられなかったが、投与翌日解剖群では 2/5 例に粘膜下織の細胞浸潤、3/5 例に粘膜上皮の空胞化及び 1/5 例に粘膜上皮の限局性巣状壊死が認められた。また、投与 7 日後解剖群では、3/5 例に粘膜上皮及び粘膜下織のごく軽度の細胞浸潤並びに 1/5 例に粘膜下織の限局性壊死が認められたが、投与翌日での所見に比べ軽度であった。

##### 2.6.6.7.2 イヌにおける間歇 (週 2 回) 反復投与食道刺激性試験 [4.2.3.6.2]

ペプシン含有人工胃液 (pH2.0) に 0.4mg/mL の濃度に溶解したアレンドロネート溶液 50mL を週 2 回、4 週間投与し、最終投与 4 日後に解剖して、その食道刺激性を検討した。その結果、6 例全例で主に中等度から重度の糜爛性又は潰瘍性食道炎を伴う著しい刺激性が認められた。

##### 2.6.6.7.3 イヌにおける間歇 (週 1 回) 反復投与食道刺激性試験 [4.2.3.6.3]

単回投与食道刺激性試験 [4.2.3.6.1] と同様の高濃度アレンドロネート溶液 (0.8mg/mL、pH2.0) 50mL を 1 週間間隔で 4 週間投与し、最終投与 8 日後に解剖して、その食道刺激性を検討した。その結果、いずれの動物にも食道刺激性を示唆する所見は観察されなかった。

#### 2.6.6.8 その他の毒性試験

アレンドロネート新製剤の製造工程中及び保存中に新たに生成もしくは増加する不純物や分解物は検出されず、原薬由来の不純物も増加しなかったことから、既承認のアレンドロネート製剤規格との比較において、新製剤中の不純物・分解物の安全性は確認されていると考えられた。したがって、その他の毒性試験については実施しなかった。

### 2.6.6.9 考察及び結論

既承認時に提出した毒性試験成績を補完する目的で、イヌにおける単回投与及び間歇反復投与食道刺激性について追加検討した。

単回投与食道刺激性試験 [4.2.3.6.1] において、高濃度である 0.8mg/mL (pH2.0) のアレンドロネートを単回投与した結果、食道粘膜下組織の軽度な細胞浸潤、限局性壊死並びに食道粘膜上皮の軽度な細胞浸潤、空胞化、限局性巣状壊死が観察されたが、肉眼的及び病理組織学的検査において食道潰瘍は認められなかった。一方、既提出資料にて報告したアレンドロネートの 5 日間連続投与試験 [4.3.2 添付資料；ニ-38] では、低濃度 (0.2mg/mL、pH2.0) の薬液を 5 日間投与したほとんどの動物に潰瘍又は著明な潰瘍性食道炎が観察されている。これらの所見は、今回の単回投与試験でみられた細胞浸潤及び空胞化の組織像に比べ、病理診断学的にみて明らかにより重篤であった。このことは、アレンドロネート投与に起因する局所刺激性が投与頻度に依存して発現することを示している。また、今回の単回投与試験でみられた組織学的変化は、既提出資料 [4.3.2] にて報告した 5 日間食道刺激性試験系において人工胃液 (pH2.0) のみを投与した動物、すなわち溶媒対照群動物でもみられる変化と病理学的に類似していた (表 2.6.6.9 参照)。したがって、今回の単回投与試験での所見はアレンドロネートの直接作用によるものとは考えがたい。

表2.6.6.9 アレンドロネートの単回投与 (0.8mg/mL; pH2.0) あるいは溶媒である人工胃液 (pH2.0) を5日間毎日注入したイヌにおける病理組織学的変化

	ALN単回投与 <sup>1)</sup>		溶媒 <sup>2)</sup>		溶媒 <sup>3)</sup>	
	雌	雄	雌	雄	雌	雄
観察動物数	4	1	1	1	3	3
所見なし	1	0	0	0	1	1
粘膜下組織						
細胞浸潤	2	0	1	1	2	2
多巣性糜爛	0	0	0	0	0	1
粘膜上皮						
巣状壊死	1	0	0	0	0	0
巣状空胞化	0	1	0	0	0	0
多巣性空胞化	2	0	0	0	0	0
糜爛	0	0	0	1	0	0

ALN：アレンドロネート

1) [4.2.3.6.1] (投与翌日の所見)

2) [4.3.2 添付資料；ニ-38]

3) [4.3.2 添付資料；ニ-41]

また、臨床使用条件と同様の間隔でアレンドロネートを投与し、その食道刺激性を評価することを目的として、週 2 回あるいは週 1 回投与による反復投与食道刺激性試験を実施した。その結果、0.4mg/mL (pH2.0) アレンドロネート溶液の週 2 回、4 週間反復投与では、中等度から重度

の糜爛性又は潰瘍性食道炎を伴う著しい食道刺激性が認められたが、その倍の高濃度溶液（0.8mg/mL、pH2.0）の週1回、4週間反復投与では食道刺激性は認められなかった。したがって、投与期間中の総投与量が同じ場合には、アレンドロネートの投与間隔をあけることで、その食道刺激性は減弱することが示唆された。また、アレンドロネートは、本試験系においても、週1回の投与では食道刺激性を誘発しないことが示された。これらの試験成績は、本薬の週1回投与の安全性を担保するものであると考えられる。

なお、上記の週2回投与試験及び週1回投与試験では、次回投与直前での食道の状態を観察するため、所見の観察時期がそれぞれ最終投与4日後及び8日後と異なっている。しかし、糜爛性あるいは潰瘍性食道炎のような食道粘膜の障害は、投与8日後であっても組織病理学的変化として検出できることから[4.3.15]、両試験における所見の観察時期の差異は食道刺激性の評価に影響しなかったと考えられる。

#### 2.6.6.10 図表

今回の申請のために実施した追加試験成績を下記の表にまとめた。

表 2.6.6.10 イヌにおける食道刺激性試験のまとめ

動物種、系統、月齢、性、体重		ビーグル犬、約10～22ヵ月齢、♂♀：7～14kg	
投与方法		食道内 30 分間持続注入、50mL/dog	
試験の種類	被験物質（溶媒）	匹数	刺激性
単回投与＋7日間回復	アレンドロネート 0.8mg/mL （ペプシン含有人工胃液：pH 2.0）	♂2、♀8	中間解剖（投与翌日；♂1、♀4）： 剖検：変化なし 組織：2/5 例に粘膜下織の細胞浸潤、3/5 例に粘膜上皮の空胞化、1/5 例に粘膜上皮の限局性巣状壊死 最終解剖（投与後 7 日；♂1、♀4）： 剖検：変化なし 組織：3/5 例に粘膜上皮及び粘膜下織のごく軽度の細胞浸潤、1/5 例に粘膜下織の限局性壊死（中間解剖に比べ軽度）
週 2 回、4 週間投与	対照 （ペプシン含有人工胃液：pH 2.0）	♂1、♀1	変化なし
	アレンドロネート 0.4mg/mL （ペプシン含有人工胃液：pH 2.0）	♂2、♀4	剖検：5/6 例に灰赤色から赤色の色調変化 組織：6 例全例で著しい刺激性（主に、中等度から重度の糜爛性又は潰瘍性食道炎）
週 1 回、4 週間投与	対照 （ペプシン含有人工胃液：pH 2.0）	♂1、♀1	変化なし
	アレンドロネート 0.8mg/mL （ペプシン含有人工胃液：pH 2.0）	♂3、♀3	変化なし

## 参考文献

- 4.3.1 テイロック注／オンクラスト注射液 5mg、10mg（アレンドロン酸ナトリウム 水和物）資料概要
- 4.3.2 フォサマック錠5／ボナロン錠5mg（アレンドロン酸ナトリウム 水和物）資料概要
- 4.3.15 Cotran RS, Kumar V, Collins T. Robbins pathologic basis of disease. 6th ed. W.B. Saunders Company; 1999: 108-9.

## 2.6.7 毒性試験の概要表

表 2.6.7.1 毒性試験：一覧表

被験物質：alendronic acid

試験の種類	動物種／ 系統	投与方法	投与期間	投与液濃度	GLP 適用	実施施設	試験番号	記載箇所
食道刺激性試験 (単回投与試験)	イヌ／ ビーグル	食道内持 続注入	単回 (7日間回復)	0.8mg/mL (ペプシン含有 人工胃液：pH2.0)	適		TT# 057-0	4.2.3.6.1
食道刺激性試験 (間歇反復投与試験)	イヌ／ ビーグル	食道内持 続注入	4週間 (週2回投与)	対照 (ペプシン含有人工 胃液：pH2.0) 0.4mg/mL (ペプシン含有 人工胃液：pH2.0)	適		TT# 004-0	4.2.3.6.2
食道刺激性試験 (間歇反復投与試験)	イヌ／ ビーグル	食道内持 続注入	4週間 (週1回投与)	対照 (ペプシン含有人工 胃液：pH2.0) 0.8mg/mL (ペプシン含有 人工胃液：pH2.0)	適		TT# 080-0	4.2.3.6.3

- 表 2.6.7.2 トキシコキネティクス : トキシコキネティクス試験の一覧表  
表 2.6.7.3 #1 トキシコキネティクス試験成績の一覧  
図 2.6.7.3 #2 トキシコキネティクス試験成績の総括

被験物質 : alendronic acid

以上該当資料なし



表 2.6.7.4 毒性試験 : 被験物質 (使用ロット) 一覧

被験物質 : alendronic acid

規格設定された不純物について該当資料なし

(本剤は既承認のフォサマック錠 5/ボナロン錠 5mg のスケールアップ製剤であり、製剤の製造工程中及び保存中に新たに生成若しくは増加する不純物や分解物はみられなかった。また原薬由来の不純物も増加しなかったため、毒性試験に使用した薬剤の安全性は確認されていると考えられた。)

- 表 2.6.7.5 単回投与毒性試験
- 表 2.6.7.6 反復投与毒性試験 : 重要な試験以外の試験
- 表 2.6.7.7 反復投与毒性試験 : 重要な試験
- 表 2.6.7.8 *In Vitro* 遺伝毒性試験
- 表 2.6.7.9 *In Vivo* 遺伝毒性試験
- 表 2.6.7.10 がん原性試験
- 表 2.6.7.11 生殖発生毒性試験 : 重要な試験以外の試験
- 表 2.6.7.12 生殖発生毒性試験 : 受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験
- 表 2.6.7.13 生殖発生毒性試験 : 胚・胎児発生に関する試験
- 表 2.6.7.14 生殖発生毒性試験 : 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
- 表 2.6.7.15 新生児を用いた試験

被験物質 : alendronic acid

以上該当資料なし

表 2.6.7.16 #1 局所刺激性試験 : 単回投与試験

被験物質 : alendronic acid

動物種／ 系統	投与方法	投与液濃度	性別及び一群の 動物数	特記すべき所見	試験番号
イヌ／ ビーグル	ペプシン含有人工胃液 (pH 2.0) に溶解したアレンドロネート溶液 50mL を麻酔下で食道内 30 分間持続注入	0.8mg/mL	♂ : 2 ♀ : 8	中間解剖 (投与翌日 : ♂1、♀4) : 剖検 : 変化なし 組織 : 2/5 例に粘膜下織の細胞浸潤、3/5 例に粘膜上皮 の空胞化、1/5 例に粘膜上皮の限局性巣状壊死 最終解剖 (投与後 7 日 : ♂1、♀4) : 剖検 : 変化なし 組織 : 3/5 例に粘膜上皮及び粘膜下織のごく軽度の細 胞浸潤、1/5 例に粘膜下織の限局性壊死 (中間解剖 に比べ軽度)	TT# 057-0

表 2.6.7.16 #2 局所刺激性試験 : 週 2 回、4 週間反復投与試験

被験物質 : alendronic acid

動物種／ 系統	投与方法	投与液濃度	性別及び一群 の動物数	特記すべき所見	試験番号
イヌ／ ビーグル	ペプシン含有人工胃液 (pH 2.0) に溶解したアレンドロネート溶液 50mL を麻酔下で食道内 30 分間持続注入 週 2 回、4 週間投与	対照 (ペプ シン含有人 工胃液)  0.4mg/mL	♂ : 1 ♀ : 1  ♂ : 2 ♀ : 4	最終投与の 4 日後に剖検し、食道を肉眼的及び病理組織学的に観察した結果、刺激性を示唆する所見が認められた。  剖検 : 5/6 例に灰赤色から赤色の色調変化 組織 : 6 例全例で著しい刺激性 (主に、中等度から重度の糜爛性又は潰瘍性食道炎)	TT# [REDACTED] 004-0

表 2.6.7.16 #3 局所刺激性試験 : 週 1 回、4 週間反復投与試験

被験物質 : alendronic acid

動物種／ 系統	投与方法	投与液濃度	性別及び一群 の動物数	特記すべき所見	試験番号
イヌ／ ビーグル	ペプシン含有人工胃液 (pH 2.0) に溶解したアレンドロネート溶液 50mL を麻酔下で食道内 30 分間持続注入 週 1 回、4 週間投与	対照 (ペプ シン含有人 工胃液)  0.8mg/mL	♂ : 1 ♀ : 1  ♂ : 3 ♀ : 3	最終投与の 8 日後に剖検し、食道を肉眼的及び病理組織学的に観察した結果、刺激性を示唆する所見は認められなかった。	TT# 080-0

表 2.6.7.17 その他の毒性試験

被験物質 : alendronic acid

該当資料なし

## 2.6.7 毒性試験の概要表