

タプロス点眼液 0.0015%
CTD 第 2 部（資料概要）

2.4 非臨床に関する概括評価

参天製薬株式会社

タプロス点眼液 0.0015%

モジュール 2.4 非臨床試験の概括評価

参天製薬株式会社

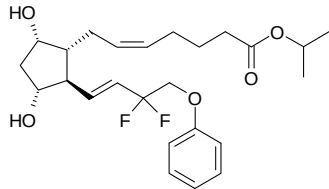
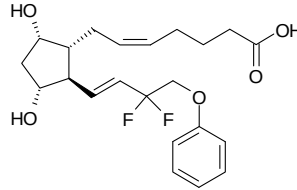
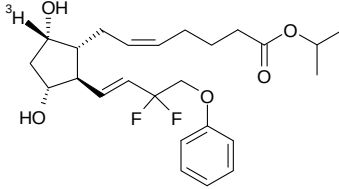
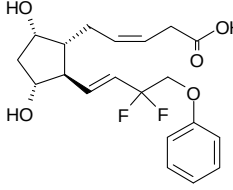
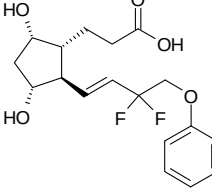
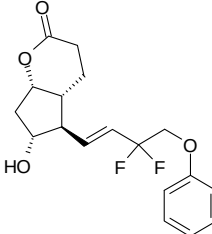
目次

2.4 非臨床に関する概括評価.....	5
2.4.1 非臨床試験計画概略.....	5
2.4.2 薬理試験.....	7
2.4.3 薬物動態試験.....	10
2.4.4 毒性試験.....	18
2.4.5 総括及び結論.....	30

表 2.4 非臨床概括評価で用いた略語一覧

略語	略さない表現
ALP :	alkaline phosphatase (アルカリホスファターゼ)
ALT (GPT) :	alanine aminotransferase (glutamic pyruvic transaminase) アラニンアミノトランスフェラーゼ (グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ)
AST (GOT) :	aspartate aminotransferase (glutamic oxaloacetic transaminase) アスパラギン酸アミノ基転移酵素 (グルタミン酸オキサロ酢酸トランスアミナーゼ)
AUC :	血漿中濃度-時間曲線下面積 (ng·hr/mL または ng eq.·hr/g)
CHL 細胞 :	Chinese hamster lung (チャイニーズハムスター肺) 細胞
C _{max} :	最高血漿中もしくは組織中濃度の実測値 (ng/mL または ng eq./g)
γ-GTP :	γ-guanosine triphosphate (γ-グアノシン三リン酸)
hERG :	human ether-a-go-go related gene
LC-MS/MS :	液体クロマトグラフィー/タンデム型質量分析法
LSC :	液体シンチレーションカウンター
MCH :	mean corpuscular hemoglobin (平均赤血球ヘモグロビン)
MCV :	mean corpuscular volume (平均赤血球容積)
ng eq./g :	ng equivalent of ³ H-タフルプロスト/g tissue
PGF _{2α} :	prostaglandin (プロスタグランジン) F _{2α}
PG :	prostaglandin
T _{1/2}	消失半減期 (hr)
T _{max}	最高血漿中濃度到達時間 (hr)

表 2.4-2 化合物一覧

化合物名	由来	構造式
タフルプロスト	原薬	
タフルプロスト カルボン酸体 (AFP-172)	タフルプロストの 活性代謝物	
³ H-タフルプロスト	放射標識体	
DinorAFP-172	タフルプロストの 代謝物	
TetranorAFP-172	タフルプロストの 代謝物	
TetranorAFP-172 lactone	タフルプロストの 代謝物	

2.4 非臨床に関する概括評価

2.4.1 非臨床試験計画概略

タフルプロストは、ラタノプロストをはじめとする既存の $\text{PGF}_{2\alpha}$ 誘導体の化学構造に共通する 15 位の水酸基及び水素に代わって、フッ素原子を 2 つ導入した化学構造的に新規な $\text{PGF}_{2\alpha}$ イソプロピルエステル誘導体である^{1,2)}。タフルプロストは点眼後、角膜に存在するエステラーゼにより活性代謝物であるタフルプロストカルボン酸体に速やかに代謝され、プロスタノイド FP 受容体アゴニストとして強力な眼圧下降作用を発揮する¹⁾。本薬は、プロスタノイド FP 受容体に対する親和性を高め、且つ眼局所副作用の発現を軽減した眼圧下降薬を目指して開発された。

薬理試験：効力を裏付ける試験としては、タフルプロストの受容体親和性及び選択性に関する試験、眼圧下降に関する薬効薬理試験、作用機序に関する試験、他剤との併用効果に関する試験、並びに代謝物の薬理試験を実施した。副次的薬理試験としては、タフルプロスト点眼液のウサギ眼血流に及ぼす影響を検討した。安全性薬理試験としては、一般症状・行動及び中枢神経に及ぼす影響をマウス静脈内投与で検討した。呼吸・循環器系への影響を麻酔イヌ静脈内投与で検討した。また、遅延整流カリウム電流への影響、活動電位持続時間への影響、摘出子宮への影響を *in vitro* で検討した。なお、これらの *in vitro* の試験は医薬品副作用被害救済・研究振興調査機構（医薬品機構）の初回治験相談（平成 〇〇 年 〇 月 〇 日）において、医薬品機構の専門家より本剤の心臓に対する作用、並びに子宮に対する作用に関して、より適切な説明ができるよう資料を整備しておくことを勧められたことを受け、実施した。安全性薬理試験のうち 7 試験は GLP を遵守して実施し、1 試験は GLP に準じて実施した。

薬物動態試験：タフルプロストの薬物動態を明らかにする目的で、点眼及び静脈内投与時の血漿中濃度、体内分布、*in vitro* 及び *in vivo* 代謝、並びに排泄試験を実施した。また、トキシコキネティクスデータを用いて、タフルプロストカルボン酸体の反復投与時の薬物動態を検討した。

毒性試験： ICH ガイドラインに従い、新有効成分医薬品の製造承認申請に必要な試験を実施した。臨床投与経路である点眼での急性の眼刺激性評価に白色ウサギ及びサルを用い、静脈内投与時の急性毒性評価にラット及びイヌを用い、そして、経口投与時の急性毒性評価にラットを用いた。点眼での反復投与毒性試験はサルを用いて、1 ヶ月、3 ヶ月及び 12 ヶ月毒性試験を行った。また、全身投与時の毒性プロファイルを把握する目的で、静脈内投与でラットの 1 ヶ月及び 6 ヶ月毒性試験並びにイヌ 1 ヶ月及び 9 ヶ月毒性試験を実施した。その他、*in vitro* 及び *in vivo* の遺伝毒性試験、がん原性試験、ラット及びウサギの生殖発生毒性試験、並びにモルモットを用いた皮膚感作性試験を実施した。すべての毒性試験は GLP を遵守して実施した。

2.4.2 薬理試験

2.4.2.1 効力を裏付ける試験

(1) 受容体親和性及び選択性に関する試験……………添付資料 4.2.1.1-001、4.2.1.1-002

タフルプロストの活性代謝物であるタフルプロストカルボン酸体を用い、プロスタノイド受容体及びその他の受容体やトランスポーターに対する結合活性を *in vitro* で検討した。タフルプロストカルボン酸体は、プロスタノイド FP 受容体に対し高い親和性 (K_i 値: 0.40 nM) を有し、この受容体親和性は類薬であるラタノプロストカルボン酸体の 12 倍及びウノプロストンの 1,700 倍高いものであった。一方、本薬は FP 受容体以外のプロスタノイド受容体、及びその他の受容体やトランスポーターに対してほとんど親和性を示さなかった。

(2) 眼圧下降に関する薬効薬理試験……………添付資料 4.2.1.1-003、4.2.1.1-004、4.2.1.1-005

正常眼圧サルにタフルプロスト点眼液を単回点眼した結果、0.0005%以上で基剤点眼群に比し有意な眼圧下降作用を認めた。一方、比較対照薬であるラタノプロスト点眼液は 0.005%で有意な眼圧下降作用を示し、0.0005%タフルプロスト点眼液と 0.005%ラタノプロスト点眼液の眼圧下降強度は同程度であった。緑内障モデルであるレーザー誘発高眼圧サルにタフルプロスト点眼液を単回点眼した結果、0.0025%以上で基剤点眼群に比し有意な眼圧下降作用を認めた。正常眼圧サルに 0.001%、0.0025%あるいは 0.005%タフルプロスト点眼液を 1 日 1 回、5 日間反復点眼した結果、すべての濃度で安定した眼圧下降を示し、作用の減弱は認められなかった。さらに、点眼後 24 時間の眼圧（トラフ眼圧）もすべての濃度で基剤点眼群に比し有意に下降した。一方、0.005%ラタノプロスト点眼液も明らかな眼圧下降作用を示したが、トラフ眼圧の下降は認められなかった。

(3) 作用機序に関する試験……………添付資料 4.2.1.1-006

正常眼圧サルを用い、タフルプロスト点眼後の房水動態をフルオロフォトメトリー法、two-level constant pressure perfusion 法及び ^{125}I - ^{131}I 標識アルブミン灌流法により検討した結果、房水産生量に変化は見られず、ぶどう膜強膜流出量の有意な増大が見られた。

(4) 併用効果に関する試験……………添付資料 4.2.1.1-007

正常眼圧サルを用い 0.0015%タフルプロスト点眼液と β 遮断薬である 0.5%マレイン酸チモロール点眼液の併用点眼による眼圧下降作用を検討した。併用時の最大眼圧下降幅は、タフルプロストあるいはマレイン酸チモロール各単剤点眼時よりも有意に大きく、両薬剤

併用による相加作用が認められた。

(5) 代謝物の薬理試験 添付資料 4.2.1.1-008

タフルプロストの代謝物であるタフルプロストカルボン酸体 (AFP-172)、dinorAFP-172、tetranorAFP-172 及び tetranorAFP-172 lactone の各溶液を、正常眼圧サルにそれぞれ前房内に単回投与して眼圧下降作用の有無を検討した。タフルプロストカルボン酸体は眼圧下降作用を示したが、dinorAFP-172、tetranorAFP-172 及び tetranorAFP-172 lactone に明らかな眼圧下降作用は認められなかった。

2.4.2.2 副次的薬理試験 添付資料 4.2.1.2-001

正常ウサギを用い 0.0015%タフルプロスト点眼液あるいは 0.005%ラタノプロスト点眼液を 1 日 1 回、28 日間反復点眼し、点眼開始 14 日目及び 28 日目にレーザースペックル法で視神経乳頭部組織血流（眼血流）を測定した。タフルプロストの点眼により、14 日目及び 28 日目のトラフ眼血流が、基剤点眼群に比し有意に増加した。一方、ラタノプロストの点眼においても眼血流増加を認めたが、この変化の程度はタフルプロストより小さかった。

2.4.2.3 安全性薬理試験

タフルプロストの安全性薬理試験として、一般症状・行動及び中枢神経に及ぼす影響をマウスに静脈内投与して検討した。呼吸・循環器系に及ぼす影響を麻酔イヌに静脈内投与して検討した。また、遅延整流カリウムイオン電流に及ぼす影響、活動電位持続時間に及ぼす影響、ラット及びウサギ摘出子宮に及ぼす影響を *in vitro* で検討した。

(1) 一般症状・行動及び中枢神経に及ぼす影響 添付資料 4.2.1.3-001、4.2.1.3-002

タフルプロストの一般症状・行動及び中枢神経に及ぼす影響をマウスに最高 100 µg/kg までの用量を単回静脈内投与して検討した。その結果、30 µg/kg まで影響は認められなかったが、100 µg/kg で投与後一過性に反応性亢進、運動機能低下を示唆する所見が認められた。

(2) 呼吸・循環器系に及ぼす影響 添付資料 4.2.1.3-003、4.2.1.3-004、4.2.1.3-005、4.2.1.3-006

タフルプロストの呼吸・循環器系に及ぼす影響を、プロポフォール麻酔イヌへの累積静脈内投与で検討した。0.003 及び 0.01 µg/kg では呼吸・循環器系に影響は認められなかった。

0.1 µg/kg 以上で一過性の血圧上昇、心拍数、心収縮力及び呼吸数の増加がみられ、1 µg/kg ではそれに加えて心電図に T 波高と RR 間隔の減少及び QTc 延長が一過性にみられた。追加検討として、イソフルラン麻酔イヌでタフルプロストの呼吸・循環器系に及ぼす影響を PGF_{2α} 及びラタノプロストと比較検討した。その結果、タフルプロストの 0.01 µg/kg では、呼吸・循環器系に影響は認められなかった。タフルプロストにより、0.1 µg/kg 以上で呼吸数増加、1 µg/kg 以上で血圧上昇及び T 波高の減少が認められたが、最高用量である 10 µg/kg においても QTc 延長はみられなかった。

タフルプロストの活性代謝物であるタフルプロストカルボン酸体を用いて *in vitro* 電気生理学的検討を行った。タフルプロストカルボン酸体は hERG チャネルを発現させた HEK293 細胞の遅延整流カリウムイオン電流の速い成分 (I_{Kr}) に対して 100 ng/mL の濃度で影響を及ぼさず、イヌ心筋プルキンエ線維の活動電位持続時間に対して 100 ng/mL の濃度まで影響を及ぼさなかった。

(3) その他……………添付資料 4.2.1.3-007、4.2.1.3-008

タフルプロストカルボン酸体を用いて、*in vitro* でラット及びウサギの摘出子宮に対する影響を評価した。タフルプロストカルボン酸体はラット摘出子宮では 0.01 ng/mL まで影響が無く、0.1 ng/mL 以上で収縮力を増大させた。ウサギ摘出子宮では 0.1 ng/mL まで影響が無く、1 ng/mL 以上で収縮力を増大させた。

2.4.2.4 薬力学的薬物相互作用試験

該当する試験はない。

2.4.2.5 薬理総括

効力を裏付ける試験として、受容体の親和性及び選択性を検討した結果、活性代謝物であるタフルプロストカルボン酸体はプロスタノイド FP 受容体に対して高い親和性（ラタノプロストカルボン酸体の 12 倍、ウノプロストンの 1,700 倍）を有することが明らかとなった。薬効薬理試験の結果、タフルプロスト点眼液は高眼圧サルのみならず正常眼圧サルにおいても類薬であるラタノプロスト点眼液に比し強力な眼圧下降作用を示した。また、房水動態試験の結果、タフルプロストはぶどう膜強膜流出路からの房水流出を増大させることが明らかとなった。さらに代謝物の薬理試験の結果、タフルプロストカルボン酸体に眼

圧下降作用を認めた。以上の結果から、本剤は点眼後、眼内でタフルプロストカルボン酸体に代謝されたのちプロスタノイド FP 受容体に作用し、ぶどう膜強膜流出路から房水流出を促すことで、眼圧下降効果を発揮するものと考えられた。なお、タフルプロスト点眼液の推定用法は 1 日 1 回、薬効濃度は 0.0005%以上と考えられた。

また本剤の薬理学的特徴として、異なる作用機序の眼圧下降薬との相加効果及び眼血流増加作用を併せ持つことが明らかとなった。

安全性薬理試験では、マウスを用いた試験において、30 µg/kg までの用量で、一般症状・行動及び中枢神経に影響を及ぼさなかった。麻酔イヌを用いた試験において血圧上昇、心拍数、心収縮力、呼吸数の増加及び QTc 延長等がみられたが、*in vitro* 電気生理学的検討では心臓に対する影響はみられなかった。また、*in vitro* の試験ではラット及びウサギ摘出子宮に対する作用がみられた。呼吸・循環器系及び摘出子宮への作用はタフルプロストに特異的な変化ではなく、PGF_{2α}などにおいても認められるものであった。

2.4.3 薬物動態試験

タフルプロストの非臨床薬物動態試験では、薬理試験及び毒性試験で用いた動物種であるラット及びサルにおける単回及び反復点眼時、並びに単回静脈内投与時の薬物動態を検討した。また、トキシコキネティクスデータを用いて、マウス、ラット、イヌ及びサルにおける反復投与時の薬物動態を検討した。

標識化合物を用いた試験では、³H で標識したタフルプロスト (³H-タフルプロスト) を用いた。組織中放射能は、採取した組織をサンプルオキシダイザーで燃焼あるいは可溶化剤で溶解した後に、LSC を用いて測定した。代謝試験では、HPLC によりタフルプロスト及び代謝物を分画後、LSC で放射能を測定した。一部の試験では、RI 検出器を接続した HPLC を用いて放射能を測定した。代謝物の構造解析には LC-MS/MS を用いた。

トキシコキネティクスにおける血漿中タフルプロスト及びタフルプロストカルボン酸体の定量のために、LC-MS/MS を用いた定量法を開発し、バリデートした。血漿試料の調製及び保存過程におけるタフルプロストからタフルプロストカルボン酸体への変換を防ぐために、採血後直ちにエステラーゼ阻害剤であるジイソプロピルフルオロリン酸を添加して混和した後、遠心分離によって血漿を得た。

2.4.3.1 血漿中濃度

(1) 標識化合物による検討 添付資料 4.2.2.2-001、4.2.2.2-002、4.2.2.2-003

ラット及びサルに ^3H -タフルプロストを単回点眼または単回静脈内投与したときの血漿中放射能濃度を検討した。血漿中放射能の薬物動態パラメータを表 2.4.3.1 に示す。いずれの動物種及び投与経路においても血漿中放射能濃度は投与後 5 分（最初の測定時点）で最高血漿中濃度（ $C_{\max}$ ）となった後、速やかに消失した。血漿中放射能濃度の AUC から求めた静脈内投与に対する点眼時の放射能の吸収率（全身循環への移行率）は、ラット及びサルでそれぞれ 100.8%（雄性）/97.1%（雌性）及び 70.3%（雄性）/59.4%（雌性）であった。

ラットに ^3H -タフルプロストを 1 日 1 回、21 日間反復点眼したとき、血漿中放射能濃度の $C_{\max}$ は点眼第 1 日と第 21 日で変化せず、 $\text{AUC}_{0-24 \text{ hr}}$ は第 14 日までは点眼回数に従って増加したが、その後第 21 日までの期間では変化しなかった。

表 2.4.3.1 ^3H -タフルプロストをラット及びサルに単回点眼または単回静脈内投与したときの血漿中放射能濃度から求めた薬物動態パラメータ

動物種	投与経路	M / F	投与量 (μg /動物)	$T_{\max}$ (hr)	$C_{\max}$ (ng eq./g)	$\text{AUC}_{0-24 \text{ hr}}$ (ng eq.·hr/g)	$T_{1/2}$ (hr)	添付資料
ラット	点眼 ^a	M	0.5	0.083	1.80	1.70	11.5	4.2.2.2-001
		F	0.5	0.083	2.00	1.65	17.3	
	静脈内 ^b	M	0.35	0.083	0.686	1.18	20 ^d	4.2.2.2-003
		F	0.35	0.083	1.07	1.19	20 ^d	
サル	点眼 ^c	M	1.58	0.083	0.870	0.621	12.1	4.2.2.2-002
		F	1.82	0.083	1.25	0.654	7.86	
	静脈内 ^c	M	2.27	0.083	1.26	1.27	9.64	
		F	2.23	0.083	1.79	1.35	9.61	

データは平均値（a: 6 例から得られた血漿をプールして測定、b: 4 例を個別別に測定し、測定時点ごとに平均値を算出して解析、c: n = 3）

d: 試験内で定めた $T_{1/2}$ 算出のための基準を満たさなかったため、参考値として表示

(2) トキシコキネティクス 添付資料 4.2.3.2-001、4.2.3.2-002、4.2.3.2-003、4.2.3.2-004、4.2.3.2-005、4.2.3.2-006、4.2.3.2-007、4.2.3.4-002、4.2.3.4-004

毒性試験のトキシコキネティクスとして、タフルプロストをラット及びイヌに反復静脈内投与したとき、マウス及びラットに反復皮下投与したとき、並びにサルに反復点眼したときの全身曝露量を検討した。タフルプロストはラット静脈内投与時の 1 例及びイヌ静脈内投与時の高用量群においてのみ定量された。一方、タフルプロストカルボン酸体の $C_{\max}$ 及び AUC は用量の増加に伴って上昇し、反復投与によるタフルプロストカルボン酸体の

蓄積は認められなかった。

2.4.3.2 分布

(1) 組織分布……………

添付資料 4.2.2.2-001、4.2.2.2-003、4.2.2.3-001、4.2.2.3-002、4.2.2.3-003、4.2.2.3-004

ラット及びサルに ^3H -タフルプロストを単回点眼または単回静脈内投与したときの組織中放射能濃度を測定し、組織分布を検討した。点眼時においては、ラットのほぼすべての眼組織及びサルの角膜及び結膜中放射能濃度が点眼後 5～15 分で $C_{\max}$ に到達し、サルのその他の眼組織では点眼後 2 時間に $C_{\max}$ に到達した。眼組織以外の全身組織では点眼後 5 分～1 時間に、肝臓、腎臓、胃、十二指腸及び消化管内容物等における放射能濃度が $C_{\max}$ に到達したことから、点眼後のタフルプロストまたはその代謝物は鼻涙管を経由して、鼻粘膜または消化管から吸収され全身組織へ分布したと考えられた。静脈内投与時においては、放射能濃度はほぼすべての組織において投与後 5～10 分で最高となった。いずれの投与経路においても、眼組織及び全身組織中放射能は投与後 24 時間までに速やかに消失した。

ラットに ^3H -タフルプロストを 1 日 1 回、21 日間反復点眼したとき、第 21 日ではほぼすべての眼組織において点眼後 15 分に組織中放射能濃度が $C_{\max}$ となった後、速やかに減少した。点眼後 24 時間における眼組織中濃度は、雌雄ともに第 7 日あるいは第 14 日まで点眼回数に従って増加したが、その後第 21 日までは変化しなかった。全身組織については、第 21 日では多くの組織中放射能濃度が点眼後 30 分から 1 時間で $C_{\max}$ に達した後、点眼後 24 時間には血漿中放射能濃度と同程度あるいはそれ以下となるまで消失した。

(2) タンパク結合……………添付資料 4.2.2.2-001、4.2.2.3-001、4.2.2.3-005

ラット及びサルに ^3H -タフルプロストを点眼したときに得られた血漿を用いて、放射能の血漿タンパクに対する結合率を *ex vivo* で検討したところ、点眼後 15 分ではラット及びサルで 71～84%であったが、時間経過とともにタンパク結合率は減少した。また、ラット、ウサギ、イヌ及びヒト血清アルブミンに対する結合率を *in vitro* で検討したところ、ラット、ウサギ及びイヌでは 92.6～97.0%であり、ヒトでは 99.2%であった。

(3) 血球移行……………添付資料 4.2.2.2-001、4.2.2.3-001

ラット及びサルに ^3H -タフルプロストを単回点眼したときの血漿中及び全血中放射能濃度とヘマトクリット値を用いて、放射能の血球移行率を *ex vivo* で求めたところ、ラットで

は雌雄ともに点眼後 30 分では 1～2%であったが、点眼後 24 時間では 29～30%に増加した。サルでは点眼後 30 分では 11.5%であったのに対し、点眼後 24 時間では 0.6%であった。

(4) 胎盤通過試験……………添付資料 4.2.2.3-006

妊娠 12 及び 18 日の雌性ラットに ^3H -タフルプロストを単回点眼したときの点眼後 24 時間までの母体及び胎児の組織への分布を検討した。母体の血漿中放射能濃度は点眼後 15 分に $C_{\max}$ となり、羊水及び胎児中放射能濃度は点眼後 1～4 時間に $C_{\max}$ となった。すべての測定時点において、胎児中放射能濃度は血漿中放射能濃度を超えることはなかった。

2.4.3.3 代謝……………

添付資料 4.2.2.2-001、4.2.2.4-001、4.2.2.4-002、4.2.2.4-003、4.2.2.4-004、4.2.2.4-005、4.2.2.4-006、4.2.2.4-007、4.2.2.4-008、4.2.2.4-009、4.2.2.4-010、4.2.2.5-001

In vivo 及び *in vitro* 試験において、タフルプロストの代謝を検討した。 ^3H -タフルプロスト点眼液を点眼後のラット及びサル眼組織にはタフルプロストがほとんど認められず、主としてタフルプロストカルボン酸体 (AFP-172) に代謝されていた。ウサギ角膜を用いた検討の結果、タフルプロストは主としてカルボキシエステラーゼにより加水分解され、AFP-172 に代謝されと考えられた。AFP-172 はラット及びサルの眼組織及び全身組織において、 β 酸化により *dinor*AFP-172、次いで *tetranor*AFP-172 へ代謝され、さらにそれぞれの水酸化体へと代謝された。尿中及び糞中には *dinor*AFP-172 及び *tetranor*AFP-172 とそれぞれの水酸化体及びグルクロン酸抱合体が検出され、AFP-172 は全く検出されなかったことから、AFP-172 は生体内で速やかに代謝されたものと考えられた。ラットでは、*tetranor*AFP-172 や *tetranor*AFP-172 水酸化体等の高極性な代謝物が雄性に比べて雌性の尿中に多く検出され、第二相代謝物と考えられる構造未知の M1 が雌性に比べて雄性の胆汁中及び糞中に多く検出された。このことから、ラットにおいては、抱合反応を含む代謝の雌雄差が放射能の排泄における雌雄差を生じさせたものと考えられた。推定代謝経路を図 2.4.3.3 に示す。

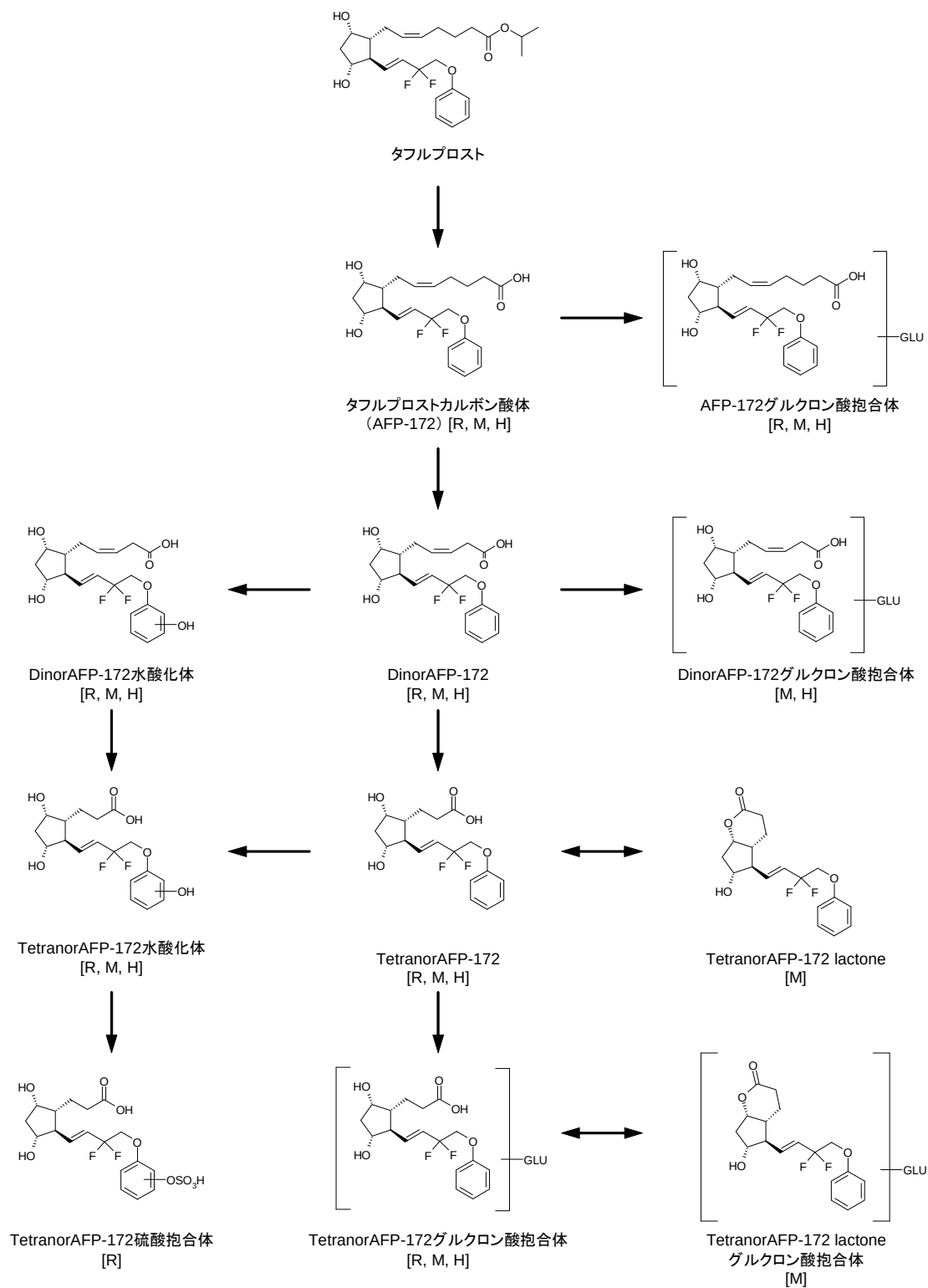


図 2.4.3.3 タフルプロストの推定代謝経路

R: ラット (*in vivo* 及び *in vitro*)

M: サル (*in vivo* 及び *in vitro*)

H: ヒト (*in vitro*)

2.4.3.4 排泄.....

添付資料 4.2.2.2-001、4.2.2.2-002、4.2.2.2-003、4.2.2.3-006、4.2.2.5-001

ラット及びサルに ^3H -タフルプロストを単回点眼または単回静脈内投与したとき、ほぼすべての放射能は尿中及び糞中へ排泄された。雄性ラットでは、尿中より糞中に多くの放射能が排泄され、雌性では糞中に多くの放射能が排泄された。サルでは雌雄とも糞中より尿中に多くの放射能が排泄された。ラットに ^3H -タフルプロストを 21 日間反復点眼したときの放射能の排泄率は投与期間を通じて変化せず、尿中排泄率と糞中排泄率の比はラット単回点眼時とほぼ同じであった。

ラットを用いた胆汁排泄試験において、 ^3H -タフルプロスト点眼液を単回点眼後 48 時間の胆汁中及び尿中にはそれぞれ 50.20% (雄性) / 32.81% (雌性) 及び 25.29% (雄性) / 41.18% (雌性) の放射能が排泄された。

ラットに ^3H -タフルプロスト点眼液を単回点眼後のドナー動物から分泌された胆汁を、レシピエント動物の胆管へ直接導入して腸肝循環を検討したところ、点眼後 48 時間までにドナー動物への投与量の約 20% がレシピエント動物において再吸収された。このことから、タフルプロストまたはその代謝物は腸肝循環しているものと考えられた。

授乳期の雌性ラットに ^3H -タフルプロスト点眼液を単回点眼したとき、血漿中及び乳汁中放射能濃度はそれぞれ点眼後 30 分及び 2 時間に $C_{\max}$ となり、タフルプロストまたはその代謝物の乳汁への移行が認められた。点眼後 24 時間には血漿中及び乳汁中放射能濃度は $C_{\max}$ のおよそ 1/100 まで減少した。

2.4.3.5 非臨床薬物動態総括

^3H -タフルプロスト点眼時の薬物動態の概略を図 2.4.3.5 に示す。ラット及びサルに ^3H -タフルプロスト点眼液を単回点眼したときの吸収は速やかであり、血漿中放射能濃度は投与後 5 分に $C_{\max}$ となった後、速やかに消失した。また、胆汁排泄試験の結果から、ラットにおけるタフルプロストの吸収率は雄性で 75% 以上、雌性で 73% 以上であると考えられた。

マウス、ラット、イヌ及びサルにタフルプロストを点眼、静脈内または皮下投与したトキシコキネティクスの結果、タフルプロストはラット静脈内投与時の 1 例及びイヌ静脈内投与後の早い時間に定量された以外は血漿中に認められず、タフルプロストカルボン酸体のみが定量された。このことから、タフルプロストは動物へ投与された後、活性代謝物であるタフルプロストカルボン酸体 (AFP-172) へ速やかに代謝されることが明らかになっ

た。すべての動物種及び投与経路において、投与量に伴ったタフルプロストカルボン酸体の全身曝露量の上昇が認められ、反復投与による蓄積は認められなかった。

ラット及びサルに ^3H -タフルプロスト点眼液を点眼したとき、ラットのほぼすべての眼組織、並びにサルの角膜及び結膜における放射能濃度は点眼後 5～15 分で $C_{\max}$ に到達した。サルのその他の眼組織では点眼後 2 時間に $C_{\max}$ に到達した。また、点眼後 5 分～1 時間に消化管における放射能濃度が $C_{\max}$ に到達したことから、点眼後のタフルプロストまたはその代謝物は鼻涙管を経由して、鼻粘膜または消化管から吸収され全身組織へ分布したと考えられた。眼組織及び全身組織中放射能濃度は投与後 24 時間までに速やかに消失し、蓄積の可能性は低いと考えられた。有色組織であるサル虹彩及び脈絡膜（網膜色素上皮を含む）においても放射能は速やかに消失したことから、タフルプロストまたはその代謝物のメラニンに対する親和性は低いと考えられた。

妊娠ラットに ^3H -タフルプロスト点眼液を点眼したとき、母体血漿中放射能濃度より低いものの胎児に放射能が検出され、タフルプロストまたはその代謝物の胎盤通過性が認められた。

点眼時のラット及びサル眼組織にはタフルプロストがほとんど認められず、タフルプロストカルボン酸体に代謝されていることが明らかとなった。ウサギ角膜を用いた検討の結果、この加水分解には角膜中のカルボキシエステラーゼが主として関与することが示唆された。ラット及びサルの尿中及び糞中にはタフルプロスト及びタフルプロストカルボン酸体は検出されず、タフルプロストカルボン酸体の β 酸化体とその水酸化体及びグルクロン酸抱合体に代謝されて排泄された。ラットでは、tetranorAFP-172 や tetranorAFP-172 水酸化体等の高極性な代謝物が雄性に比べて雌性の尿中に多く検出され、第二相代謝物と考えられる構造未知の M1 が雌性に比べて雄性の胆汁中及び糞中に多く検出された。このことから、ラットにおいては、抱合反応を含む代謝の雌雄差が放射能排泄の雌雄差を生じさせたものと考えられた。

ラットに ^3H -タフルプロスト点眼液を反復点眼したとき、血漿、眼組織及び全身組織中の放射能濃度は点眼第 7～14 日で定常状態となり、放射能の尿及び糞中排泄率も点眼期間を通して変化しなかった。

ラットに ^3H -タフルプロストを点眼または静脈内投与したとき、大部分の放射能が尿中及び糞中へ速やかに排泄された。排泄経路の雌雄差が示唆され、雄性では尿中排泄率より糞中排泄率が高く、雌性では糞中排泄率より尿中排泄率が高かった。この尿糞中排泄の雌

雄差は、胆汁排泄の雌雄差によると考えられた。腸肝循環には雌雄差がなく、放射能の再吸収率は約 20%であった。

サルに ^3H -タフルプロストを点眼または静脈内投与したとき、大部分の放射能が尿中及び糞中へ速やかに排泄され、雌雄ともに糞中排泄率より尿中排泄率が高かった。

また、授乳期のラットに ^3H -タフルプロスト点眼液を点眼したとき、乳汁中に放射能が検出され、タフルプロストまたはその代謝物の乳汁への移行が認められた。

以上、非臨床薬物動態試験によって、タフルプロストは投与後速やかに加水分解を受け、主として活性代謝物であるタフルプロストカルボン酸体として眼組織及び血漿中に存在し、さらに代謝されて速やかに生体から消失することが明らかとなった。また、反復点眼によりタフルプロストあるいはその代謝物の全身循環及び眼組織への蓄積性が低いことが明らかとなった。

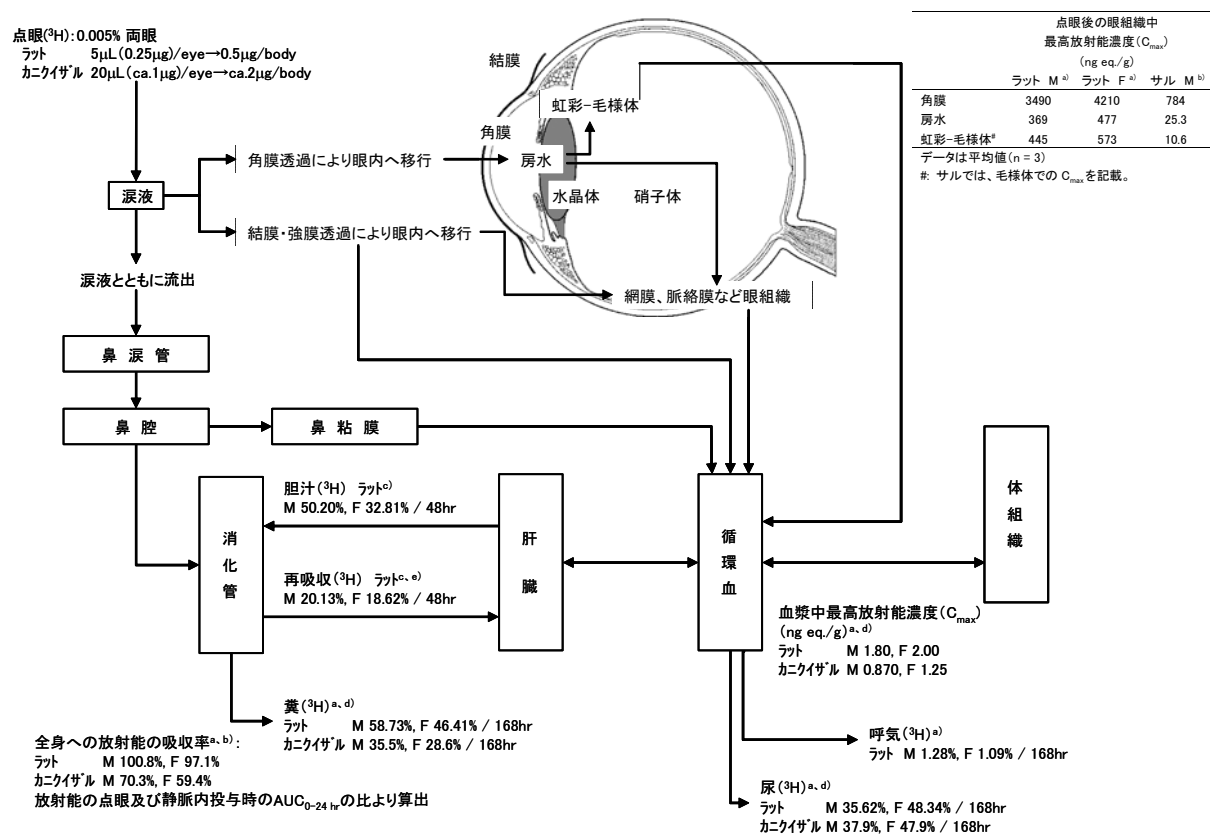


図 2.4.3.5 タフルプロスト点眼時の薬物動態

- a) 添付資料 4.2.2.2-001、b) 添付資料 4.2.2.3-001、c) 添付資料 4.2.2.5-001、d) 添付資料 4.2.2.2-002
e) 腸肝循環検討時のレシピエント動物における胆汁中及び尿中排泄の和から算出

2.4.4 毒性試験

タフルプロストの毒性評価は、ICH ガイドラインに従い、新有効成分医薬品の製造承認申請に必要な試験を実施した。臨床投与経路である点眼での急性の眼刺激性試験、経口投与での急性毒性試験、そして、静脈内投与での急性毒性試験を実施した。また、点眼での反復投与毒性試験、静脈内投与での反復毒性試験を実施した。その他、遺伝毒性試験、がん原性試験、生殖発生毒性試験並びに皮膚感作性試験を実施した。すべての毒性試験は GLP を遵守して実施した。

2.4.4.1 単回投与毒性試験

添付資料 4.2.3.1-001、4.2.3.1-002、4.2.3.1-003、4.2.3.1-004、4.2.3.1-005

白色ウサギに 0.005%、0.05%及び 0.5%タフルプロスト点眼液を 30 分間隔で 1 回 50 μ L、1 日 10 回点眼し、急性の眼刺激性を評価した。すべての群で、点眼翌日には回復する一過性の結膜発赤が認められた以外にタフルプロスト点眼液による所見は認められなかった。

サルに 0.0005%、0.005%及び 0.05%タフルプロスト点眼液を 30 分間隔で 1 回 30 μ L、1 日 10 回点眼し、急性の眼刺激性を評価した。基剤及び 0.0005%以上で、軽度の角膜混濁、角膜上皮障害及び結膜発赤が認められた。0.05%ではそれらの変化に加えて、点眼後一過性の縮瞳及び散発的な結膜浮腫がみられた。

ラットの経口投与及び静脈内投与による概略の致死量は、それぞれ 100 mg/kg 及び 3 mg/kg よりも高く、イヌの静脈内投与では 30 μ g/kg よりも高いと推察された。

2.4.4.2 反復投与毒性試験

表 2.4.4.2 反復投与試験一覧表

試験番号	投与期間	投与経路	溶媒	投与用量
サル [黒塗り]	1 カ月 3 カ月 12 カ月	点眼 点眼 点眼	基剤	0.0005%、0.005%、0.05% 1 回 30 μ L、1 日 2 回
ラット [黒塗り]	1 カ月 6 カ月	静脈内 静脈内	生理食塩液	10、30、100 μ g/kg/日
イヌ 992506 [黒塗り]	1 カ月 9 カ月	静脈内 静脈内	生理食塩液	0.1、1、10 μ g/kg/日

(1) サル反復点眼毒性試験 添付資料 4.2.3.2-001、4.2.3.2-002、4.2.3.2-003

サルに 0.0005%、0.005%及び 0.05%タフルプロスト点眼液を 12 時間間隔で 1 回 30 μ L、1

日 2 回、1 ヶ月間点眼した。0.005%の雌雄各 1 例において虹彩色調変化（暗色化）が認められた。0.005%及び 0.05%では、角膜障害性を中心とした眼刺激性変化が無処置対照眼に比べて高頻度にみられたが、重篤な変化ではなく、眼検査のため頻繁に全身麻酔を行ったことによる角膜表面の乾燥との関連が考えられた。いずれの群においても全身毒性を示唆する徴候は認められなかった。タフルプロスト点眼液は 0.05%まで忍容性ありと判断された。

サルに 0.0005%、0.005%及び 0.05%タフルプロスト点眼液、並びに類薬である 0.005%ラタノプロスト点眼液を 12 時間間隔で 1 回 30 µL、1 日 2 回、3 ヶ月間点眼した。タフルプロスト点眼群では 0.0005%以上で上眼瞼の陥凹、虹彩色調変化（暗色化）及び薬理作用に関連した眼圧の下降傾向が、0.005%以上では一過性の軽微な角膜上皮障害がみられた。虹彩色調変化、角膜上皮障害及び眼圧下降傾向についてはラタノプロスト点眼群においても同様に観察された。いずれの群においても全身毒性を示唆する徴候は認められなかった。タフルプロスト点眼液は 0.05%まで忍容性ありと判断され、無毒性量は 0.05%と推察された。

サルに 0.0005%、0.005%及び 0.05%タフルプロスト点眼液を 12 時間間隔で 1 回 30 µL、1 日 2 回、12 ヶ月間点眼した。3 ヶ月点眼試験でみられた変化（上眼瞼の陥凹、虹彩色調変化、軽微な角膜上皮障害及び眼圧の下降傾向）に加えて、0.005%以上で下眼瞼の変色及び眼瞼毛包周囲の色素増加がみられ、0.05%で眼瞼上皮の軽微な限局性炎症がみられたが、いずれも毒性学的に意義のある変化とは考えられなかった。0.05%では角膜上皮障害に関連した二次的变化と推察される角膜輪部上皮への結膜色素侵入像がみられたが、投与期間中に回復した。いずれの群においても全身毒性を示唆する徴候は認められなかった。タフルプロスト点眼液は 0.05%まで忍容性ありと判断され、無毒性量は 0.05%と推察された。

(2) ラット静脈内反復投与毒性試験 …………… 添付資料 4.2.3.2-004、4.2.3.2-005

ラットにおける 1 ヶ月静脈内投与試験（10、30 及び 100 µg/kg/日）では、投与に関連した変化は認められず、無毒性量は 100 µg/kg/日と考えられた。

ラットにおける 6 ヶ月静脈内投与試験（10、30 及び 100 µg/kg/日）では、投与期間終了時の血液学的検査において、ヘモグロビン濃度、赤血球数、ヘマトクリット値及び血小板数の低下、網赤血球数、MCV 及び MCH の上昇がみられ、剖検において骨髓硬化が、器官重量測定において脾臓重量の増加がみられた。病理組織学的検査では、すべての用量で雌

雄に骨過形成、骨髓線維化及び肝臓・脾臓の髓外造血が、雄性に骨髓造血の亢進が、雌性に腎臓部位の石灰沈着がみられ、無毒性量は 10 µg/kg/日未満と考えられた。骨過形成、骨髓線維化及びその二次的な変化は、ラットで特に感受性が高いと考えられる骨への薬理学的な作用に関連する変化もしくはその二次的な変化と考えられ、これらを除いた本試験の無毒性量は 10 µg/kg/日と考えられた。また、イヌ 9 ヶ月静脈内投与試験及びサル 12 ヶ月点眼試験において、骨過形成、骨髓線維化及びその二次的な変化は認められなかった。

(3) イヌ静脈内反復投与毒性試験……………添付資料 4.2.3.2-006、4.2.3.2-007

イヌにおける 1 ヶ月静脈内投与試験 (0.1、1 及び 10 µg/kg/日) では、投与期間を通じて 1 µg/kg 以上で投与後一過性の縮腫、流涎及び嘔吐が認められた。さらに、10 µg/kg で投与後一過性の洗顔行動、心拍数の増加、呼吸数の増加及び QTc の延長、並びに ALT (GPT) 値の上昇及び尿量の増加が認められ、雄性のみに一過性の血圧の上昇が認められた。ALT (GPT) 値及び尿量の変化は 2 週間の休薬により回復した。無毒性量は 0.1 µg/kg/日と考えられた。

イヌにおける 9 ヶ月静脈内投与試験 (0.1、1 及び 10 µg/kg/日) では、1 µg/kg 以上で投与後一過性の縮腫、嘔吐、軟便、心拍数の増加及び血圧の上昇がみられ、病理検査において顎下腺の腺房細胞肥大が認められた。さらに、10 µg/kg では投与後一過性の流涎、不隠性の歩行、浅速呼吸、沈静、発声、攻撃性、自発運動の消失、血管拡張及び呼吸数の増加が認められた。1 µg/kg でみられた一般状態の変化はごく低頻度で少数例での変化で、血圧及び心拍数の変化はいずれも軽度であり、投与期間の経過に伴って発現頻度の低下および発現の消失 (嘔吐など) がみられた。また、顎下腺の病理所見は唾液分泌量増加に伴う二次的な変化と考えられた。無毒性量は 1 µg/kg/日と考えられた。

2.4.4.3 遺伝毒性試験……………添付資料 4.2.3.3-001、4.2.3.3-002、4.2.3.3-003

タフルプロストの遺伝毒性を、細菌を用いた復帰突然変異試験、チャイニーズハムスター肺 (CHL) 細胞を用いた染色体異常試験及びマウスを用いた小核試験で評価した。

細菌を用いた復帰突然変異試験では、代謝活性の有無のいずれの条件下でも復帰変異コロニー数の増加は認められず、陰性と判定された。

チャイニーズハムスター肺細胞を用いた染色体異常試験では、代謝活性の有無のいずれの条件下でも染色体異常を有する細胞の増加は認められず、陰性と判定された。

マウスを用いた小核試験では、小核誘発作用は認められなかった。

以上より、細菌を用いた復帰突然変異試験において突然変異誘発性は認められず、*in vitro* 染色体異常試験及び *in vivo* 小核試験においても染色体異常誘発性は認められなかった。

2.4.4.4 がん原性試験

(1) マウスがん原性用量設定試験……………添付資料 4.2.3.4-001

マウスにタフルプロスト 3、10、30 及び 100 $\mu\text{g/kg}$ を連日 3 ヶ月間皮下投与し、がん原性試験における用量設定について検討した。タフルプロストの投与に関連した死亡例及び病理所見は認められず、無毒性量は 100 $\mu\text{g/kg/日}$ と考えられた。また、血漿中薬物濃度測定では、100 $\mu\text{g/kg}$ 投与群において、タフルプロストの活性代謝物であるタフルプロストカルボン酸体の AUC は 6～11 $\text{ng}\cdot\text{hr/mL}$ であった。これは、臨床用法・用量でヒトに点眼した場合における、サルの点眼試験から推定した AUC (ヒトの AUC は血漿中濃度が低く AUC が算出できなかったためサルのデータを代用した) の 25 倍以上であった。以上のことから、マウスがん原性試験における最高用量は 100 $\mu\text{g/kg/日}$ が妥当と判断された。

(2) マウス 18 ヶ月がん原性試験……………添付資料 4.2.3.4-002

マウスにタフルプロスト 10、30 及び 100 $\mu\text{g/kg}$ を連日 18 ヶ月間皮下投与し、がん原性を検討した。マウスがん原性試験において、タフルプロストにがん原性は認められなかった。

(3) ラットがん原性用量設定試験……………添付資料 4.2.3.4-003

ラットにタフルプロスト 3、10 及び 30 $\mu\text{g/kg}$ を連日 3 ヶ月間皮下投与し、がん原性試験における用量設定について検討した。30 $\mu\text{g/kg}$ 投与群の雌雄で脾臓の髄外造血の強度が、雌で腎臓の石灰沈着の強度が、溶媒対照群に比べてわずかに強くなる傾向がみられた以外に、タフルプロストの投与に関連した死亡例及び病理所見は認められなかった。血漿中薬物濃度測定では、30 $\mu\text{g/kg}$ 投与群において、タフルプロストの活性代謝物であるタフルプロストカルボン酸体の AUC は 1.71～7.54 $\text{ng}\cdot\text{hr/mL}$ であった。これは、臨床用法・用量でヒトに点眼した場合における、サルの点眼試験から推定した AUC (ヒトの AUC は血漿中濃度が低く AUC が算出できなかったためサルのデータを代用した) の 25 倍以上であった。以上のことから、ラットがん原性試験における最高用量は 30 $\mu\text{g/kg/日}$ が妥当と判断された。

(4) ラット 24 ヶ月がん原性試験……………添付資料 4.2.3.4-004

ラットにタフルプロスト 3、9 及び 30 $\mu\text{g/kg}$ を連日 24 ヶ月間皮下投与し、がん原性を検討した。ラットがん原性試験において、タフルプロストにがん原性は認められなかった。

2.4.4.5 生殖発生毒性試験

(1) ラットにおける受胎能及び初期胚発生に関する試験 ……………添付資料 4.2.3.5-001

ラットにタフルプロストを 10、30 及び 100 $\mu\text{g/kg}$ の用量で、雄性には交配前 2 週間、交配期間及び剖検前日まで（9 週間）、また雌性には交配前 2 週間、交配期間及び妊娠 6 日まで連日静脈内投与し、雌性については妊娠 13 日に帝王切開し、受胎能及び初期胚発生について検討した。親動物の受胎能及び初期胚発生に影響は認められなかった。無毒性量は雄性親動物について 30 $\mu\text{g/kg/日}$ 、雌親動物について 100 $\mu\text{g/kg/日}$ 、胚児について 100 $\mu\text{g/kg/日}$ と考えられた。

(2) 胚・胎児発生に関する試験

1) ラットにおける胚・胎児発生に関する用量設定試験 ……………添付資料 4.2.3.5-002

ラットにタフルプロストを 10、30 及び 100 $\mu\text{g/kg}$ の用量で、妊娠 6 日から 17 日まで連日静脈内投与し、妊娠 20 日に帝王切開した。

100 $\mu\text{g/kg}$ 投与群で母体に投与直後の四肢蒼白、着床後胚死亡率の増加及び生存胎児数の減少、30 $\mu\text{g/kg}$ 投与群で着床後胚死亡率の軽度な増加が認められたことから、ラットにおける胚・胎児発生への影響に関する試験においては 30 $\mu\text{g/kg}$ を最高用量とするのが妥当と判断された。

2) ラットにおける胚・胎児発生に関する試験 ……………添付資料 4.2.3.5-003

ラットにタフルプロストを 3、10 及び 30 $\mu\text{g/kg}$ の用量で、妊娠 6～17 日に連日静脈内投与し、妊娠 20 日に帝王切開して胚・胎児発生への影響を検討した。母動物に影響は認められなかったが、10 $\mu\text{g/kg}$ では胎児の体重低値及び胸骨未骨化、30 $\mu\text{g/kg}$ で着床後胚死亡率の増加及び骨格異常が認められた。3 $\mu\text{g/kg}$ では特記すべき異常は認められなかった。無毒性量は、母動物について 30 $\mu\text{g/kg/日}$ 、胎児について 3 $\mu\text{g/kg/日}$ と考えられた。

3) ウサギにおける胚・胎児発生への影響に関する用量設定試験のための予備試験 ……………添付資料 4.2.3.5-004

非妊娠ウサギにタフルプロストを 5、15 及び 50 $\mu\text{g/kg}$ の用量で 13 日間連日静脈内投与し

た。5 $\mu\text{g/kg}$ でもだえ反応、15 $\mu\text{g/kg}$ でさらに中等度の振戦、軽度の歩行障害、50 $\mu\text{g/kg}$ で失見当、強度の振戦、知覚認知の喪失、散瞳、協調運動性の喪失、浅速呼吸がみられたことから、ウサギにおける胚・胎児発生への影響に関する用量設定試験の最高用量を 10 $\mu\text{g/kg}$ とするのが妥当と考えられた。

4) ウサギにおける胚・胎児発生に関する予備試験……………添付資料 4.2.3.5-005

妊娠ウサギを用い、タフルプロストを妊娠 7～19 日に静脈内投与（1、3 及び 10 $\mu\text{g/kg/日}$ ）し、妊娠 29 日に帝王切開して、胚・胎児発生への影響を検討した。1 $\mu\text{g/kg}$ 以上で生存胎児が得られなかったため、ウサギにおける胚・胎児発生に関する試験では 0.3 $\mu\text{g/kg/日}$ を最高用量とすることが妥当と判断された。

5) ウサギにおける胚・胎児発生に関する試験-1……………添付資料 4.2.3.5-006

ウサギにおける胚・胎児発生に及ぼす影響について静脈内投与（0.03、0.1 及び 0.3 $\mu\text{g/kg/日}$ ）により検討した結果、0.1 $\mu\text{g/kg}$ 以上で流産及び顕著な着床後胚死亡率の増加が認められ、0.03 $\mu\text{g/kg}$ の胎児では着床後胚死亡率の増加及び外表異常、内臓異常及び骨格異常が観察された。無毒性量は母動物、胎児ともに 0.03 $\mu\text{g/kg/日}$ 未満と考えられた。

6) ウサギにおける胚・胎児発生に関する試験-2……………添付資料 4.2.3.5-007

ウサギにおける胚・胎児発生に及ぼす影響について静脈内投与（0.001、0.003 及び 0.01 $\mu\text{g/kg/日}$ ）により検討した結果、胚・胎児発生に影響は認められなかった。無毒性量は母動物、胎児ともに 0.01 $\mu\text{g/kg/日}$ と考えられた。

(3) ラットにおける出生前及び出生後の発生並びに母動物の機能に関する試験……………添付資料 4.2.3.5-008

ラットにタフルプロスト 0.3、1、3 及び 10 $\mu\text{g/kg}$ を妊娠 6 日から分娩後 20 日まで連日静脈内投与して、出生前及び出生後の発生並びに母動物の機能に関する影響を検討した。

投与期間中、すべての投与量で投与に関連した死亡はみられず、体重、摂餌量及び剖検において異常はみられなかった。1 $\mu\text{g/kg}$ 以上で、それぞれ数例の母動物に哺育行動不良がみられ、出生児の 4 日生存率の低値が認められた。また、10 $\mu\text{g/kg}$ で分娩後 0 日の出生児の死亡増加及び体重の低値、分娩後 3 日の耳介展開の遅延が観察されたが、その他身体的発達、性成熟、機能発達及び F1 児の受胎能に影響はみられなかった。

母動物の一般毒性学的な無毒性量は 10 µg/kg/日、母動物の生殖機能、並びに出生時の出生前後の発達に対する無毒性量は、ともに 0.3 µg/kg/日と考えられた。

2.4.4.6 その他の毒性試験

(1) モルモット Adjuvant and Patch Test 法による皮膚感作性試験……添付資料 4.2.3.7-001

雌性モルモットを用い、Adjuvant and Patch Test 法により 0.005%及び 0.05%タフルプロスト点眼液の皮膚感作性について検討した。

すべての動物において皮膚反応はみられず、本試験条件下において、タフルプロスト点眼液に皮膚感作性は認められなかった。

2.4.4.7 所見の考察及び安全性の評価

(1) 点眼時の眼局所に及ぼす影響（類薬との比較を含む）

タフルプロスト点眼液の非臨床試験において認められた虹彩色調の変化（虹彩色素沈着）及び眼瞼の変化（眼瞼の陥凹）について、以下に類薬との比較データを示し、それぞれの所見について考察する。

<虹彩色素沈着>

タフルプロスト点眼液では、サル 1 ヶ月点眼試験の 0.005%点眼群、サル 3 ヶ月点眼試験の 0.0005～0.05%点眼群並びにサル 12 ヶ月点眼試験の 0.0005～0.05%点眼群において虹彩色素沈着が認められ、サル 3 ヶ月点眼試験における 1 ヶ月の回復期間では本所見に回復性は認められなかった。本所見発現例の眼組織の病理組織学的検査では、虹彩実質の色素細胞中の色素量増加が観察されたが、虹彩色素細胞に増殖性の変化は認められなかった。また、透過型電子顕微鏡による眼組織の観察では、メラニン顆粒の線維柱帯への集積等、色素緑内障³⁾で認められるような房水流出抵抗の増加を示唆する徴候は認められず、サル点眼試験（1 ヶ月、3 ヶ月及び 12 ヶ月）の眼圧測定において眼圧の上昇は認められなかった。

表 2.4.4.7-1 に類薬である抗緑内障 PG 関連薬をサルに 1 年以上反復点眼した際に認められた虹彩色素沈着の発現例数について、米国申請用公開資料^{4,5,6,7)}より引用した。タフルプロストを除く各試験条件の詳細は不明であるため、各試験結果を直接比較することはできないが、いずれの点眼液についても臨床使用濃度付近で虹彩色素沈着が認められている。虹彩色素沈着は PGF_{2α}及び PGE₂のサルへの反復点眼でも認められたとの報告があり、PG に共通した作用と考えられている⁸⁾。また、ラタノプロスト点眼液の使用により虹彩色素

沈着を示したヒトの眼における病理組織学的検討において、虹彩色素細胞数の増加はみられず、虹彩色素細胞中のメラニンの増加がみられている^{9, 10)}。なお、ラタノプロスト点眼液を比較対照として用いたタフルプロスト点眼液のサル 3 ヶ月点眼試験では、0.0005～0.05%タフルプロスト点眼群（臨床使用濃度の 0.33 倍～33 倍）における本所見発現頻度はラタノプロスト点眼群のそれよりも低かった（表 2.4.4.7-2）。

以上より、タフルプロスト点眼液のサル眼毒性試験で認められた虹彩色素沈着は虹彩実質の色素細胞中の色素量増加によるものであり、抗緑内障 PG 関連薬に共通した変化と考えられた。

表 2.4.4.7-1 サル長期点眼試験における虹彩色素沈着発現頻度（他剤については参考資料中の一般状態観察結果及び眼科学的検査結果から引用）^{4, 5, 6, 7)}

点眼液 (臨床使用濃度)	タフルプロスト (0.0015%)	イソプロピル ウノプロストン (0.12%)	ラタノプロスト (0.005%)	ビマトプロスト (0.03%)	トラボプロスト (0.004%)
点眼期間	12 ヶ月	18 ヶ月	12 ヶ月	12 ヶ月	12 ヶ月
虹彩色素沈着 発現例数	0.0005% (bid) : 6/8 例 0.005% (bid) : 8/8 例 0.05% (bid) : 8/8 例	0.15% (bid) : 1/10 例	0.035～0.08% (bid) : 18/30 例 0.0035～0.01% (bid) : 12/19 例	0.03% (qd) : 4/12 例 0.03% (bid) : 5/12 例 0.1% (bid) : 9/12 例	0.0015% (bid) : 3/8 例 0.004% (bid) : 3/8 例 0.012% (bid) : 4/8 例

qd : 1 日 1 回点眼、bid : 1 日 2 回点眼

表 2.4.4.7-2 タフルプロスト点眼液のサル 3 ヶ月点眼試験における虹彩色素沈着発現頻度

点眼液 (臨床使用濃度)	タフルプロスト (0.0015%)	ラタノプロスト (0.005%) ^{a)}
点眼期間	3 ヶ月	3 ヶ月
虹彩色素沈着 発現例数	0.0005% (bid) : 2/8 例 0.005% (bid) : 2/8 例 0.05% (bid) : 3/12 例	0.005% (bid) : 5/12 例

a) 市販品を使用、bid : 1 日 2 回点眼

<眼瞼の陥凹>

タフルプロスト点眼液では、サル 3 ヶ月点眼試験の 0.0005～0.05%点眼群並びにサル 12 ヶ月点眼試験の 0.0005～0.05%点眼群において上眼瞼の陥凹（「sunken upper eyelid」と最終報告書に表記）が認められた。本所見発現例においては、眼瞼と眼球の位置及び運動性に異

常はなく、剖検時における眼窩内の脂肪組織等内容物量の減少や病理組織学的検査における器質的变化は認められなかった。また、サル 3 ヶ月点眼試験において、本所見は休薬により回復性が確認され、点眼期間中に所見が認められなくなる例もあった。

表 2.4.4.7-3 に類薬である抗緑内障 PG 関連薬をサルに 1 年以上反復点眼した際に認められた眼瞼の変化の発現例数について、米国申請用公開資料^{4,5,6,7)}より引用した。タフルプロスト点眼液での眼瞼の陥凹と類似の変化は、ラタノプロスト点眼液では「widening of the palpebral fissure」、ビマトプロスト点眼液では「palpebral fissure widened 又は prominent palpebral sulci」、トラボプロスト点眼液では「retraction of eyelid, exophthalmos 又は increased palpebral fissure」として、イソプロピルウノプロストン点眼液を除くすべての点眼液において観察されている。

以上より、タフルプロスト点眼液のサル眼毒性試験で認められた上眼瞼の陥凹は他の抗緑内障 PG 関連薬でもみられた変化と同質の変化と考えられた。

表 2.4.4.7-3 サル長期点眼試験における眼瞼の陥凹発現頻度(他剤については参考資料中の一般状態観察結果及び眼科学的検査結果から引用)^{4,5,6,7)}

点眼液 (臨床使用濃度)	タフルプロスト (0.0015%)	イソプロピル ウノプロストン (0.12%)	ラタノプロスト (0.005%)	ビマトプロスト (0.03%)	トラボプロスト (0.004%)
点眼期間	12 ヶ月	18 ヶ月	12 ヶ月	12 ヶ月	12 ヶ月
眼瞼の 変化	0.0005% (bid) : 4/8 例 0.005% (bid) : 7/8 例 0.05% (bid) : 8/8 例	0.15% (bid) で認め られず	0.035~0.08% (bid) : 27/30 例 0.0035~0.01% (bid) : 1/19 例	0.03% (qd) : 12/12 例 0.03% (bid) : 12/12 例 0.1% (bid) : 12/12 例	0.0015% (bid) : 6/8 例 0.004% (bid) : 8/8 例 0.012% (bid) : 8/8 例

qd : 1 日 1 回点眼、bid : 1 日 2 回点眼

(2) ラット 6 ヶ月反復静脈内投与毒性試験において認められた骨過形成、骨髓線維化及びその二次的な変化に関する考察

タフルプロストのラット 1 ヶ月反復静脈内投与試験(投与量 : 10、30 及び 100 µg/kg/日)において、投与に関連した変化は認められなかったことから、ラット 6 ヶ月反復静脈内投与試験では同じ用量を設定した。その結果、最低用量である 10 µg/kg/日以上で、雌雄に骨過形成、骨髓線維化、肝臓・脾臓の髄外造血が、雄性に骨髓造血が、雌性に腎皮髄境界部の石灰沈着がみられた。そのため、本試験における無毒性量は 10 µg/kg/日未満と推定され、反復投与毒性試験の目的の 1 つである無毒性量は求められなかった。以下に、これらの所

見の特性、薬理作用との関連性及びヒトへの外挿性について考察し、無毒性量を求めるための追加試験は必要ないと判断した根拠を示す。

骨髄線維化は骨髄腔内に線維組織が形成されることを示す所見であり、骨髄腔内における骨過形成に進展する¹¹⁾。骨髄線維化により、骨髄腔容積及び骨髄造血細胞の総数は減少し、その二次的な変化として肝臓及び脾臓における髄外造血及び骨髄造血機能が亢進し、さらに、中・高用量群のラットに血液学的検査パラメータの変動、脾臓重量の増加がみられたものと考えられた。雌性ラットのみにみられた腎皮髄境界部の石灰沈着については、対照群と比較して頻度及び強度が増していた。しかしながら、本所見は、通常、雌性ラットに頻繁にみられる所見¹²⁾であり、その他に腎障害に関連する所見はみられなかったことから毒性学的意義は乏しいと考えられた。なお、ラット 1 ヶ月反復静脈内投与試験では上記の所見はいずれも認められなかった。

タフルプロストは PGF_{2α} 誘導体で、FP 受容体に高い親和性を有し、アゴニストとして作用する¹⁾。PG の骨への影響として、骨粗鬆症モデルの 1 つである卵巣摘出ラットに PGF_{2α} 及び合成 FP 受容体アゴニストを投与し、骨形成がみられたとの報告^{13,14)}がある。このことから、タフルプロストの骨に対する作用は、タフルプロストの薬理作用によるものと考えられた。また、タフルプロストの類薬であるトラボプロストにおいてもラット 3 ヶ月静脈内投与試験（投与量：100、300 及び 1000 µg/kg/日）の 100 µg/kg/日以上並びに 6 ヶ月皮下投与試験（投与量：10、30 及び 100 µg/kg/日）の 30 µg/kg/日以上で同様に骨の過形成がみられている¹⁵⁾。

骨粗鬆症モデルとしてラットは、ヒトにおける海綿骨の変化を評価する適切なモデルとされているものの、ラットは長管骨の成長板で骨吸収がないモデリング動物であるのに対し、ヒトを始め霊長類及びイヌはリモデリング動物であり、ヒトとラットでは骨代謝が異なることが知られている¹⁶⁾。その他の動物種では、マウスがん原性試験（投与量：10、30 及び 100 µg/kg/日）において骨への影響はみられなかった。非げっ歯類の毒性試験では、サル 12 ヶ月反復点眼試験（最高用量：0.05%、片眼への 1 日 2 回点眼、体重を 3 kg とした時に 10 µg/kg/日）及びイヌの 9 ヶ月静脈内投与試験（最高投与量：10 µg/kg/日）において骨への影響は認められていない。

以上のことから、ラット 6 ヶ月反復静脈内投与試験の 10 µg/kg/日よりみられた所見は、薬理作用から予想される骨への作用並びにその二次的な変化もしくは毒性学的意義の乏しい変化で、ラットに特異的な変化である可能性が高く、ヒトにおいて認められる可能性は

低いものと考えられた。そのため、ラット 6 ヶ月反復静脈内投与時の無毒性量を求めるための追加試験は実施しなかった。なお、10 µg/kg/日は、本剤の臨床使用投与量（ヒトの体重を 60 kg とした場合 0.015 µg/kg/日）の 667 倍に相当する。骨過形成、骨髄線維化については、皮下投与によるラットがん原性試験（投与量：3、9 及び 30 µg/kg/日）においても 3 µg/kg/日より認められた。これは臨床投与量の 222 倍に相当する。また、これらの所見が、マウスに皮下投与した場合、サルに点眼した場合並びにより多くの曝露が確認されたイヌに静脈内投与した場合においても認められていないことも、ヒトにおいてこれらの所見が認められる可能性が低いことを支持すると考えられた。

(3) ウサギ胚・胎児発生に関する試験において認められた妊娠及び胚・胎児発生への影響に関する考察

タフルプロストを妊娠ウサギに静脈内投与したところ、妊娠への影響として、着床後死亡の増加及び流産が認められ、胚・胎児発生への影響として、外表・内臓・骨格異常が比較的低用量から認められた。以下、これらの所見について考察する。

<着床後死亡の増加及び流産>

タフルプロストの妊娠ウサギへの静脈内投与において着床後胚死亡率の増加が 0.03 µg/kg/日（ヒト臨床用量の 2 倍）でみられ、流産が 0.1 µg/kg/日（ヒト臨床用量の 6.7 倍）でみられた。また、母動物並びに胎児に対する無毒性量と考えられた 0.01 µg/kg/日において、タフルプロストカルボン酸体の血漿中濃度は全ての測定ポイントで定量下限界（20 pg/mL）未満であったことから、血漿中薬物濃度を基準にした安全域の考察はできなかった。一般に、ウサギは PG に対し種特異的に高い感受性を有することが知られている¹⁷⁾。タフルプロストの妊娠ラットへの静脈内投与では着床後胚死亡率の増加がみられた用量は 30 µg/kg で、ウサギでみられた用量より 1000 倍高かった。

PG が妊娠維持に影響するメカニズムとして「直接的な子宮筋収縮作用」及び「黄体退行作用によるプロゲステロンの産生量の低下」が挙げられる¹⁸⁾。

ラット及びウサギの摘出子宮を用いた *in vitro* 試験において、タフルプロストカルボン酸体はラット摘出子宮では 0.1 ng/mL 以上で、ウサギ摘出子宮では 1 ng/mL 以上で収縮力を増大させ、対照として使用した PGF_{2α}はラット摘出子宮では 1 ng/mL 以上で、ウサギ摘出子宮では 1 ng/mL 以上で収縮力を増大させた。これらの結果から、ラットとウサギにおけ

る着床後胚死亡率増加の発現用量の違いにタフルプロストカルボン酸体の子宮筋収縮作用が関与している可能性は低いと考えられた。一方、ヒトでの $\text{PGF}_{2\alpha}$ による妊娠維持への影響は子宮筋収縮作用による¹⁹⁾ことが知られている。ヒトで $\text{PGF}_{2\alpha}$ を陣痛誘発・分娩促進目的で使用する際には $1000\sim 2000\ \mu\text{g}/\text{man}$ を点滴静注する²⁰⁾ことから、体重を $60\ \text{kg}$ とすると用量は $16.7\sim 33.3\ \mu\text{g}/\text{kg}$ と計算される。これらの用量はタフルプロスト点眼におけるヒト臨床用量の $1100\sim 2200$ 倍であり、タフルプロストカルボン酸体の子宮筋収縮に対する作用が $\text{PGF}_{2\alpha}$ より 10 倍強かったとしても、タフルプロスト点眼時の用量は少ないことから、子宮筋への影響を介して妊娠維持に影響する可能性はほとんどないものと考えられた。

黄体退行において、PG は卵巣血流量低下を介してプロゲステロンを産生する黄体細胞にアポトーシスを誘導する²¹⁾。ラットに $300\sim 600\ \mu\text{g}/\text{kg}$ の $\text{PGF}_{2\alpha}$ を静脈内投与すると卵巣静脈血流量に $40\sim 50\%$ の減少がみられ、ウサギの卵巣静脈血流量はラットの約 $1/10$ 量で $80\sim 90\%$ の減少を示した²²⁾との報告がある。ヒトでも初期の妊娠維持には黄体由来のプロゲステロンが必要だが、ヒトでは $\text{PGF}_{2\alpha}$ の投与による黄体退行はみられない²³⁾。

以上から、タフルプロストは黄体退行作用によりウサギの妊娠維持に影響を及ぼしたと考えられ、 $\text{PGF}_{2\alpha}$ はウサギでは黄体退行に関与するが、ヒトでは黄体退行に関与しないため、タフルプロストのヒト妊娠に及ぼす影響をウサギでの試験結果から予見することは必ずしも妥当ではない可能性が考えられた。

<胎児検査における外表・内臓・骨格異常>

タフルプロストをウサギに静脈内投与したところ、 $0.1\ \mu\text{g}/\text{kg}$ 投与群で得られた少数の胎児に異常は認められず、 $0.03\ \mu\text{g}/\text{kg}$ 投与群において、外脳症、二分脊椎、眼瞼開裂及び指欠損・合指等がみられた。ラットにおいてもタフルプロストの静脈内投与後、胎児 3 例において脊椎部に骨格異常が $30\ \mu\text{g}/\text{kg}$ の用量でみられた。着床後死亡がみられた用量でウサギとラットとでは 1000 倍の開きがみられ、またラットで催奇形性がみられた用量は、ウサギで催奇形性がみられた用量より 1000 倍高かった。このことからウサギにおける胎児異常の発現とウサギの PG に対する種特異的な感受性の高さとの間には何らかの関連性があるものと考えられたが、成書および公表文献から関連する情報を得ることはできなかった。

<本剤の妊婦への投与に関して>

以上のことから、タフルプロスト点眼液は妊娠女性及び妊娠している可能性のある女性には治療上の有益性が危険性を上回ると判断される場合にのみ投与すべきと考えられた。

2.4.5 総括及び結論

タフルプロストは、ラタノプロストをはじめとする既存の $\text{PGF}_{2\alpha}$ 誘導体の化学構造に共通する 15 位の水酸基及び水素に代わって、フッ素原子を 2 つ導入した化学構造的に新規な $\text{PGF}_{2\alpha}$ イソプロピルエステル誘導体である。

タフルプロストは点眼または静脈内投与後速やかに加水分解を受け、主として活性代謝物であるタフルプロストカルボン酸体として挙動することが非臨床薬物動態試験によって明らかとなった。

タフルプロストカルボン酸体は、強力なプロスタノイド FP 受容体アゴニストであり、眼内のプロスタノイド FP 受容体に作用し、ぶどう膜強膜流出路から房水流出を促進することにより、強力な眼圧下降作用を発揮する。本剤は、高眼圧サルにおいて眼圧下降作用を示すとともに、正常眼圧サルにおいても強い眼圧下降作用を示し眼血流増加作用も併せ持つことから、高眼圧症及び原発性開放隅角緑内障のみならず、日本人に多い正常眼圧緑内障に対しても優れた治療効果を発揮することが期待される。薬効薬理試験結果から、タフルプロスト点眼液の推定用法は 1 日 1 回、薬効濃度は 0.0005% 以上と考えられた。

安全性薬理試験では心臓に対する作用及び摘出子宮に対する作用がみられたが、これらはタフルプロストに特異的な作用ではなく、 $\text{PGF}_{2\alpha}$ などにおいても認められるものだった。

タフルプロストのウサギ 1 日 10 回点眼眼刺激性試験では、0.005% 以上で点眼後一過性に結膜発赤がみられた。サル 1 日 10 回点眼眼刺激性試験では 0.005% 以上で結膜発赤、角膜上皮障害の発現頻度増加、0.05% で縮瞳、角膜混濁及び結膜浮腫が点眼後一過性に認められた。ラット単回経口投与毒性試験では、最高用量である 100 mg/kg で死亡例は認められなかった。ラット単回静脈内投与毒性試験では最高用量である 3 mg/kg で死亡例は認められなかった。また、イヌ単回静脈内投与毒性試験においても、最高用量である 30 µg/kg で死亡例は認められなかった。

サルでは、1 ヶ月、3 ヶ月あるいは 12 ヶ月眼毒性試験を実施し、片眼に最高 0.05% 濃度までのタフルプロスト点眼液を 12 時間間隔で 1 回 30 µL、1 日 2 回点眼した。1 ヶ月眼毒性試験では 0.005% の雌雄各 1 例において虹彩色調変化（暗色化）が認められた以外に全身毒性を示唆する徴候は認められなかったため、タフルプロスト点眼液は 0.05% まで忍容性ありと判断された。3 ヶ月眼毒性試験では、0.0005% 以上で上眼瞼の陥凹、虹彩色調変化（暗色化）及び薬理作用に関連した眼圧の下降傾向が認められた。0.005% 以上では一過性の軽

微な角膜上皮障害がみられた。いずれの群においても全身毒性を示唆する徴候は認められなかった。タフルプロスト点眼液は 0.05%まで忍容性ありと判断され、無毒性量は 0.05%と推察された。12 ヶ月眼毒性試験では 3 ヶ月眼毒性試験でみられた変化（上眼瞼の陥凹、虹彩色調変化、軽微な角膜上皮障害及び眼圧の下降傾向）に加えて、0.005%以上で毛包周囲の色素増加を伴った下眼瞼の変色が、0.05%で眼瞼上皮の軽微な限局性炎症がみられたが、いずれも毒性学的に意義のある変化とは考えられなかった。タフルプロスト点眼液は 0.05%まで忍容性ありと判断され、無毒性量は 0.05%と推察された。

ラットでは、1 ヶ月及び 6 ヶ月静脈内投与毒性試験を実施し、100 µg/kg まで静脈内投与した結果、1 ヶ月毒性試験では投与に関連した変化は認められなかった。6 ヶ月試験では、投与期間終了時の血液学的検査において、ヘモグロビン濃度、赤血球数、ヘマトクリット値及び血小板数の低下、網赤血球数、MCV 及び MCH の上昇がみられ、剖検において骨髄硬化が、器官重量測定において脾臓重量の増加がみられた。病理組織学的検査では、雌雄に骨過形成、骨髄線維化、肝臓の髄外造血及び脾臓の髄外造血亢進が、雄性に骨髄造血の亢進が、雌性に腎臓部位の石灰沈着がみられた。ラット反復投与毒性試験の無毒性量は、1 ヶ月反復投与で 100 µg/kg/日で、6 ヶ月反復投与では 10 µg/kg/日未満であった。

イヌでは、1 ヶ月及び 9 ヶ月静脈内投与毒性試験を実施し、10 µg/kg まで静脈内投与した結果、1 ヶ月毒性試験では 1 µg/kg 以上で投与後一過性の縮瞳、流涎及び嘔吐が認められた。10 µg/kg で投与後一過性の洗顔行動、心拍数の増加、呼吸数の増加及び QTc の延長、並びに ALT (GPT) 値の上昇及び尿量の増加が認められ、また、雄性のみに一過性の血圧の上昇が認められた。9 ヶ月毒性試験では 1 µg/kg 以上で投与後一過性の縮瞳、嘔吐、軟便、心拍数の増加及び血圧の上昇がみられ、病理組織学的検査において顎下腺の腺房細胞の肥大が認められた。1 µg/kg でみられた一般状態の変化はごく低頻度で少数例での変化であり、心拍数及び血圧の変化はいずれも軽度で投与期間の経過に伴って発現頻度の低下および発現の消失（嘔吐など）がみられ、顎下腺の病理所見も唾液分泌量増加に伴う二次的变化と考えられた。10 µg/kg ではさらに投与後一過性の流涎、不隠性の歩行、浅速呼吸、沈静、発声、攻撃性、自発運動の消失、血管拡張及び呼吸数の増加が認められた。イヌ反復投与毒性試験の無毒性量は、1 ヶ月反復投与で 0.1 µg/kg/日で、9 ヶ月反復投与では 1 µg/kg/日であった。

細菌を用いた復帰突然変異試験、CHL 細胞を用いた染色体異常試験及びマウス骨髄細胞を用いた小核試験において、突然変異誘発性あるいは染色体異常誘発性は認められず、タ

フルプロストに遺伝毒性は認められなかった。

ラット及びマウスへの皮下投与によるがん原性試験において、タフルプロストにがん原性は認められなかった。

ラットの受胎能及び初期胚発生への影響に関する試験における無毒性量は雄性親動物について 30 µg/kg/日、雌性親動物について 100 µg/kg/日、胚児について 100 µg/kg/日と考えられた。胚・胎児発生への影響に関する試験において、ラットでは母動物に影響は認められず、胚・胎児への影響として、10 µg/kg では胎児の体重低値及び胸骨未骨化、30 µg/kg で着床後胚死亡率の増加及び骨格異常が認められたことから、無毒性量は母動物について 30 µg/kg/日、胎児について 3 µg/kg/日とみなされた。ウサギでは、0.1 µg/kg 以上で流産が観察され、一過性の体重増加抑制が認められた。また、0.1 µg/kg 以上で黄体数、着床数の減少、着床後胚死亡率の増加及び生存胎児の減少が観察された。胎児検査では、0.1 µg/kg で得られた胎児に異常は認められなかったが、0.03 µg/kg において、外脳症、二分脊椎、眼瞼開裂及び指欠損・合指等の外表異常及び内臓異常が認められ、骨格においても関連した異常が認められたことから、無毒性量は母動物・胎児とも 0.01 µg/kg/日と考えられた。ラットの出生前及び出生後の発生並びに母動物の機能に関する試験では、1 µg/kg 以上で、それぞれ数例の母動物に哺育行動不良がみられ、出生児の 4 日生存率の低値が認められた。また、10 µg/kg で分娩後 0 日の出生児の死亡増加及び体重の低値、分娩後 3 日の耳介展開の遅延が観察されたが、その他、身体的発達、性成熟、機能発達及び F1 児の受胎能に影響はみられなかったことから、母動物の一般毒性学的な無毒性量は 10 µg/kg/日、母動物の生殖機能及び出生児の出生前後の発達に対する無毒性量は、ともに 0.3 µg/kg/日と考えられた。

モルモットの Adjuvant and Patch Test 法による皮膚感作性試験では、0.005%及び 0.05%タフルプロスト点眼液に皮膚感作性は認められなかった。

以上、サル点眼での反復投与試験で認められた所見は、主に眼局所の外観上の変化であり、機能や器質的な異常を伴わない変化、もしくは軽微な変化であったことから、いずれも毒性学的に意義のある変化とは考えられなかった。ラットでは 6 ヶ月間反復静脈内投与により、骨への薬理作用による変化あるいはその二次的な変化が認められた。タフルプロストの骨への影響はマウス、イヌ及びサルでは認められず、ラット特異的な変化である可能性が考えられ、かつ、臨床使用投与量（体重 60 kg とした場合 0.015 µg/kg/日）の 667 倍の用量（皮下投与によるがん原性試験では 222 倍の用量）でみられており、ヒトにおいて

同様の変化が発現する可能性は低いと考えられた。イヌの反復投与試験では一般状態や心拍数、血圧の変化が認められ、これらの所見は臨床使用投与量の 67 倍以上の用量でみられたことから、ヒトにおいて認められる可能性は低いものと考えられた。タフルプロストに遺伝毒性、がん原性及び皮膚感作性は認められなかった。なお、生殖発生毒性として、着床後死亡の増加、流産及び催奇形性が認められ、ラットにおいて胎児への移行、及び乳汁中への排泄が確認されていることから、妊婦、妊娠している可能性のある女性、産婦及び授乳婦への使用には十分に注意する必要がある。

以上、タフルプロストは、プロスタノイド FP 受容体に対する高い親和性を特長とし、薬理的には高眼圧のみならず正常眼圧に対しても強力な眼圧下降効果を発揮する特性を有した、新規プロスタグランジン系緑内障及び高眼圧症治療薬である。タフルプロストは点眼後、角膜に存在するエステラーゼにより活性代謝物であるタフルプロストカルボン酸体に速やかに加水分解され、眼圧下降作用を発揮する。また、安全性薬理試験及び毒性試験で認められた所見は類薬や $\text{PGF}_{2\alpha}$ でも認められ、タフルプロストに特異的な有害作用は認められなかったことから、タフルプロスト点眼時のヒトにおける安全性上の懸念はないものと考えられた。

参考文献

- 1) Nakajima T, Matsugi T, Goto W, Kageyama M, Mori N, Matsumura Y, et al. New fluoroprostaglandin $\text{F}_{2\alpha}$ derivatives with prostanoid FP-receptor agonistic activity as potent ocular-hypotensive agents. Biol Pharm Bull 2003;26:1691-5. [添付資料 4.3-001]
- 2) Matsumura Y, Mori N, Nakano T, Sasakura H, Matsugi T, Hara H, et al. Synthesis of the highly potent prostanoid FP receptor agonist, AFP-168: a novel 15-deoxy-15,15-difluoroprostaglandin $\text{F}_{2\alpha}$ derivative. Tetrahedron Lett 2004;45:1527-9. [添付資料 4.3-002]
- 3) Farrar S, Shields B. Current concepts in pigmentary glaucoma. Surv Ophthalmol 1993;37:233-52. [添付資料 4.3-003]
- 4) 米国申請用公開資料（イソプロピルウノプロストン）：Application No. 21-214, Pharmacology/Toxicology Review, p 63-64. [添付資料 4.3-004]

- 5) 米国申請用公開資料（ラタノプロスト）：SBOA Xalatan, Pharmacology and Toxicology Review, p 15-18. [添付資料 4.3-005]
- 6) 米国申請用公開資料（ビマトプロスト）：Application No. 21-275, Pharmacology Review, p 79-81. [添付資料 4.3-006]
- 7) 米国申請用公開資料（トラボプロスト）：Application No. 21-257, Pharmacology Review, p 23-25. [添付資料 4.3-007]
- 8) Selen G, Stjernschantz J, Resul B. Prostaglandin-induced iridial pigmentation in primates. *Surv Ophthalmol* 1997;41 Suppl 2:S125-8. [添付資料 4.3-008]
- 9) 久保田久世, 小早川信一郎, 田中康一郎, 枡久保哲男. ラタノプロスト使用後の虹彩病理像. *あたらしい眼科* 2002;19: 809-14. [添付資料 4.3-009]
- 10) Grierson I, Jonsson M, Cracknell K. Latanoprost and pigmentation. *Jpn J Ophthalmol* 2004;48: 602-12. [添付資料 4.3-010]
- 11) Komarek V, Gembardt C, Krinke A, Mahrous T, Schaetti P. Synopsis of the Organ Anatomy. In: Georg JK, editor. *The Laboratory Rat*. Academic Press; 2000. p. 285. [添付資料 4.3-011]
- 12) Komarek V, Gembardt C, Krinke A, Mahrous T, Schaetti P. Synopsis of the Organ Anatomy. In: Georg JK, editor. *The Laboratory Rat*. Academic Press; 2000. p. 294. [添付資料 4.3-012]
- 13) Ma YF, Li XJ, Jee WS, Mcosker J, Liang XG, Setterberg R, Chow SY, et al. Effects of prostaglandin E₂ and F_{2α} on the skeleton of osteopenic ovariectomized rats. *Bone* 1995; 17:549-54. [添付資料 4.3-013]
- 14) Soper DL, Milbank JB, Mieling GE, Dirr MJ, Kende AS, Cooper R, et al. Synthesis and biological evaluation of prostaglandin-F alkylphosphinic acid derivatives as bone anabolic agents for the treatment of osteoporosis. *J Med Chem* 2001;44: 4157-69. [添付資料 4.3-014]
- 15) 米国申請用公開資料（トラボプロスト）：Application No. 21-257, Pharmacology Review, p 29-36. [添付資料 4.3-015]
- 16) FDA. Guideline for preclinical and clinical evaluation of agents used in the prevention or treatment of postmenopausal osteoporosis. 1994. [添付資料 4.3-016]
- 17) Szczech GM. Preclinical safety evaluation of 15[S]15-methyl prostaglandin F_{2α}.: Reproduction and teratology. *Advances in prostaglandin and thromboxane research* 1978;4:157-79. [添付資料 4.3-017]
- 18) Lau IF, Shiva MS, Saksena K, Chang MC. Midterm abortion with silastic-PVP implant

containing prostaglandin $F_{2\alpha}$ in rabbits, rats and hamsters. Fertil Steril 1974;25: 839-44

[添付資料 4.3-018]

- 19) Karim SM. Once-a-month vaginal administration of prostaglandin E_2 and F_2 for fertility control. Contraception 1971;3:173-83. [添付資料 4.3-019]
- 20) 小野薬品工業株式会社. ジノプロスト注射液添付文書. 2006 年 5 月改訂 (第 8 版) [添付資料 4.3-020]
- 21) McCracken JA, Custer EE, Lamsa JC. Luteolysis: a neuroendocrine-mediated event. Physiol Rev 1999;79(2):263-323. [添付資料 4.3-021]
- 22) Pharriss BB, Cornette JC, Gutknecht GD. Vascular control of luteal steroidogenesis. J Reprod Fertil Suppl 1970;10: 97-103. [添付資料 4.3-022]
- 23) Horton EW, Poyser NL. Uterine luteolytic hormone: a physiological role for prostaglandin $F_{2\alpha}$. Physiol Rev 1976;56(4):595-651. [添付資料 4.3-023]