

タプロス点眼液 0.0015%
CTD 第 2 部（資料概要）

2.6 非臨床概要
薬理

参天製薬株式会社

タプロス点眼液 0.0015%

モジュール 2.6.2 非臨床概要 薬理試験の概要文

参天製薬株式会社

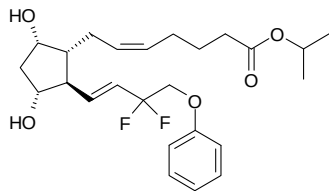
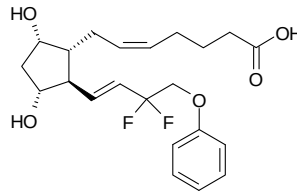
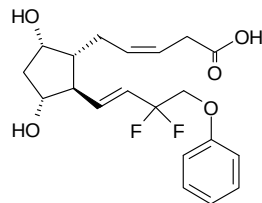
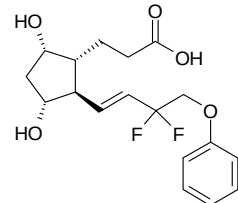
目次

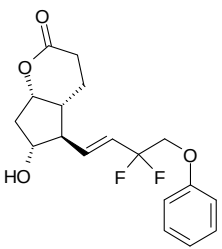
2.6.2	薬理試験の概要文.....	5
2.6.2.1	まとめ.....	5
2.6.2.2	効力を裏付ける試験.....	9
2.6.2.3	副次的薬理試験.....	30
2.6.2.4	安全性薬理試験.....	31
2.6.2.5	薬力学的薬物相互作用.....	36
2.6.2.6	考察及び結論.....	36
2.6.2.7	図表.....	37
2.6.2.8	参考文献.....	37

表 2. 6. 2-1 非臨床概要薬理試験で用いた略語一覧

略語	略さない表現
PGF _{2α} :	Prostaglandin (プロスタグランジン) F _{2α}
GABA :	γ-Aminobutyric acid
AUC :	血漿中濃度-時間曲線下面積 (ng·hr/mL)
C _{max} :	最高血漿中濃度の実測値 (ng/mL)
hERG :	human ether-a-go-go related gene
HEK293 細胞 :	human embryonic kidney 293 細胞

表 2. 6. 2-2 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	
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	
--------------------------------	-------------------------	--

2.6.2 薬理試験の概要文

2.6.2.1 まとめ

タフルプロストは、開発初期の化合物スクリーニングにおいて、類薬であるラタノプロストより強力なプロスタノイド FP 受容体アゴニスト活性を有し、メラニン産生促進作用が弱い新規 PGF_{2α}イソプロピルエステル誘導体として見い出された¹⁾。

効力を裏付ける試験としては、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、併用効果に関する試験、及び代謝物に関する試験を実施した。副次的薬理試験としては、タフルプロスト点眼液の眼血流に及ぼす影響を検討した。

安全性薬理試験は、中枢神経系および呼吸・循環器系を含む各種器官系に対する作用を検討するために、ICH ガイドラインで定められている試験を実施した。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。

2.6.2.1.1 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

ヒトのプロスタノイド FP 受容体を強制発現させたヒト胎児腎細胞膜標品を用いた受容体結合試験の結果、タフルプロストカルボン酸体の ³H-PGF_{2α} 結合に対する阻害定数 Ki 値は 0.40 nM であった。また、類薬であるラタノプロストカルボン酸体及びウノプロストンの Ki 値は、それぞれ 4.7 nM 及び 680 nM であった。一方、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関して、タフルプロストカルボン酸体はプロスタノイド EP₃ 受容体に対しわずかに親和性を示したが (FP 受容体親和性の 1/126)、その他の受容体やトランスポーターに対しては親和性を示さなかった。

以上の結果から、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。

(2) 眼圧下降に関する薬効薬理試験

正常眼圧サルに 0.00002%、0.0001%、0.0005%あるいは 0.0025%タフルプロスト点眼液を 20 μL 単回点眼した結果、濃度依存的な眼圧下降作用を示し、その作用は 0.0005%以上で基剤点眼群に比し有意であった。一方、比較対照薬であるラタノプロストは 0.005%点眼群

で有意な眼圧下降作用を示した。0.0005%タフルプロスト点眼群の眼圧下降強度は、0.005%ラタノプロスト点眼群と同程度であった。

緑内障モデルであるレーザー誘発高眼圧サルに、0.00002%、0.0005%、0.0025%あるいは0.005%タフルプロスト点眼液をそれぞれ 20 μ L 単回点眼した結果、0.0025%及び 0.005%タフルプロスト点眼群は基剤点眼群に比し有意な眼圧下降作用を示した。一方、比較対照薬である 0.005%ラタノプロスト点眼液は眼圧を下降させる傾向を示したものの統計学的に有意ではなかった。

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、20 μ L を 5 日間反復点眼した結果、すべての濃度で最大眼圧下降幅は経日的に増大し 3 日目にプラトーに達した。また、反復点眼による作用の減弱は認められなかった。点眼 24 時間後のトラフ眼圧は、タフルプロスト点眼群においてすべての濃度で基剤点眼群に比し有意に下降した。一方、比較対照である 0.005%ラタノプロスト点眼群は有意な眼圧下降作用を示したが、反復点眼による最大眼圧下降幅の増大やトラフ眼圧の下降は認められなかった。

以上の結果から、タフルプロスト点眼液は、正常眼圧及び高眼圧サルに対して眼圧下降作用を示し、反復点眼においても作用減弱することなく安定した効果を発揮することが明らかとなった。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。

(3) 作用機序に関する試験

タフルプロストの眼圧下降作用機序を確認するため、房水動態試験を行った。0.005%タフルプロスト点眼液を正常眼圧サルに 1 日 1 回、3-5 日間反復点眼後、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。その結果、房水産生量に変化は見られず、総房水流出及びぶどう膜強膜流出量が有意に増大した。これらの結果から、タフルプロストの眼圧下降作用は、房水流出経路のうち、ぶどう膜強膜流出路からの房水流出を促進することによりもたらされるものと考えられた。

(4) 併用効果に関する試験

タフルプロストと作用機序が異なる眼圧下降薬との併用効果を確認するため、正常眼圧サルに対する 0.0015%タフルプロスト点眼液及び 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の単独点眼時の下降幅よりも有意に大きく、併用による相加作用が認められた。

(5) 代謝物の薬理試験

タフルプロストの活性本体を確認するため、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 559 nM 溶液を、正常眼圧サルの前房内に 10 μ L それぞれ単回投与して眼圧下降作用を指標とした薬理試験を行った。その結果、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 は明らかな眼圧下降作用を示さず、活性本体はタフルプロストカルボン酸体であることが示唆された。

2.6.2.1.2 副次的薬理試験

タフルプロスト点眼の眼血流に及ぼす影響を検討するために、正常ウサギに 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 50 μ L、28 日間反復点眼し、点眼前、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を測定した。タフルプロストの反復点眼により、点眼開始前を 100% とした時、14 日目及び 28 日目のトラフ眼血流は、 $108.7 \pm 4.4 \%$ 及び $111.9 \pm 3.9 \%$ にそれぞれ増加した。一方、ラタノプロスト点眼群においても対照群に比し眼血流が増大したが、その変化の程度はタフルプロストより少なかった。これらの結果から、タフルプロスト点眼液は反復点眼により眼血流を増加させることが明らかとなった。

2.6.2.1.3 安全性薬理試験

(1) 一般症状・行動及び中枢神経系に及ぼす影響

タフルプロストの一般症状・行動及び中枢神経系に及ぼす影響をマウスに静脈内投与して検討した。マウスの一般症状及び行動において、100 μ g/kg の用量で反応性亢進、運動機能低下を示唆する所見が認められた。マウス自発運動量については 100 μ g/kg の用量まで影響は認められなかった。

(2) 呼吸・循環器系に及ぼす影響

麻酔薬としてプロポフォールを用いた麻酔イヌでの呼吸・循環器系に及ぼす影響において、0.1 µg/kg 以上の用量で血圧上昇、心拍数、心収縮力及び呼吸数の増加がみられ、1 µg/kg の用量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 延長がみられた。追加検討として、麻酔薬にイソフルランを用い、麻酔イヌでの呼吸・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ところ、タフルプロストの投与により 0.1 µg/kg 以上の用量で呼吸数増加、1 µg/kg 以上の用量で血圧上昇及び 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。なお、同様の変化はラタノプロストの 1 µg/kg 以上及び PGF_{2α} の 10 µg/kg 以上の用量においても認められた。

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

タフルプロストカルボン酸体及び PGF_{2α} を用いて、*in vitro* でラット及びウサギの摘出子宮の自動運動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 0.1 ng/mL 以上の用量で、ウサギ摘出子宮では 1 ng/mL 以上の用量で収縮力を増大させた。PGF_{2α} は、ラット摘出子宮では 1 ng/mL 以上の用量で、ウサギ摘出子宮では 1 ng/mL 以上の用量で収縮力を増大させた。

2.6.2.1.4 薬力学的薬物相互作用試験

該当する試験はない。

2.6.2.2 効力を裏付ける試験

2.6.2.2.1 受容体親和性及び選択性に関する検討

(1) プロスタノイド FP 受容体に対する親和性の検討……………添付資料 4.2.1.1-001

プロスタノイド FP 受容体に対する親和性を類薬と比較する目的で、タフルプロストカルボン酸体、ラタノプロストカルボン酸体及びウノプロストンのプロスタノイド FP 受容体結合試験を実施した。

受容体に対する親和性は、ヒトのプロスタノイド FP 受容体を恒常的に強制発現させたヒト胎児腎細胞から調製した膜標品を用い、 $^3\text{H-PGF}_{2\alpha}$ に対する受容体結合阻害曲線解析から各薬剤の EC_{50} 値を求め、Cheng-Prusoff の式から特異的結合阻害定数 (K_i) を算出し評価した。

プロスタノイド FP 受容体に対する結合阻害定数を表 2.6.2.2-1 に示す。タフルプロストカルボン酸体の FP 受容体に対する K_i 値は、0.40 nM であった。一方、類薬であるラタノプロストカルボン酸体及びウノプロストンの K_i 値は、それぞれ 4.7 nM 及び 680 nM であった。

以上の結果から、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。

表 2.6.2.2-1 タフルプロスト、ラタノプロスト及びイソプロピルウノプロストンそれぞれのカルボン酸体の FP 受容体に対する親和性

化合物名	EC_{50} (nM)	K_i (nM)*
タフルプロストカルボン酸体	0.53 ± 0.36	0.40
ラタノプロストカルボン酸体	6.3 ± 3.0	4.7
ウノプロストン	900 ± 110	680

EC_{50} は平均値 $\pm$ 標準偏差で表す。*: Cheng-Prusoff equation より算出した。

Cheng-Prusoff equation:

EC_{50}

$$\text{K}_i = \frac{\text{EC}_{50}}{1 + [\text{radioligand}]/\text{Kd}}$$

K_i : 阻害定数、 Kd : 平衡分配係数 (7.5 nM)、

$[\text{radioligand}]$: 放射性リガンド濃度 (2.5 nM)

(2) 各種受容体に対する親和性の検討……………添付資料 4.2.1.1-002

各種受容体として、EP₂、EP₃、IP、TP の各プロスタノイド受容体、また、アデノシン A₁、アデノシン A_{2a}、 α_1 アドレナリン（非選択的）、 α_2 アドレナリン（非選択的）、 β_1 アドレナリン、アンジオテンシン AT₁、ベンゾジアゼピン、ブラジキニン B₂、カンナビノイド CB₁、カンナビノイド CB₂、コレシストキニン CCK_A、ドーパミン D₁、ドーパミン D₂、エンドセリン ET_A、GABA_A、グルタミン酸（非選択的）、ヒスタミン H₁、メラノコルチン MC₄、ムスカリン（非選択的）、ニューロキニン NK₁、ニューロペプチド Y₁、ニューロペプチド Y₂、ニコチン Ni、オピオイド（非選択的）、オピオイド ORL₁、セロトニン 5HT₁（非選択的）、シグマ（非選択的）、バソプレシン V_{1b}、及びバソプレシン V₂ の受容体並びにドーパミン、ノルエピネフリン、セロトニンのトランスポーターに対するタフルプロストカルボン酸体の親和性を検討した。各種受容体に対する親和性は、バイオアッセイ法、あるいは受容体・トランスポーター発現組織または強制発現細胞膜標品を用いた特異的な放射性同位体標識リガンドの結合阻害実験から IC₅₀ 値を算出し評価した。

タフルプロストカルボン酸体は、プロスタノイド EP₃ 受容体に対して 67 nM の IC₅₀ 値を示したが、FP 受容体に対する親和性に比し 126 倍弱いものであった²⁾。一方、EP₂、IP、TP の各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 IC₅₀ 値は、すべて 1000 nM 以上であった。

これらの結果から、タフルプロストカルボン酸体は、プロスタノイド FP 受容体以外の受容体に対しほとんど親和性を示さないことが示唆された。

2.6.2.2.2 眼圧下降に関する薬効薬理試験

薬効薬理試験は、全て雄性カニクイザルを用い、モンキーチェアへの保定及び無麻酔下（眼圧に影響を与える全身麻酔は行わない）での眼圧測定に対し十分馴化されたことを確認した個体を使用した。なお、眼圧は、測定毎に 0.4%塩酸オキシブプロカイン点眼液を 1 滴点眼し、圧平式眼圧計を使用して盲検下で測定した。また、比較対照薬は、緑内障治療に汎用されている同種同効薬のラタノプロスト点眼液を用いた。なお、眼圧下降作用強度を類薬と比較する薬効薬理試験においては最大眼圧下降幅を主評価項目とし、経時的な眼圧推移については参考データとした。

(1) 正常眼圧サルに対する単回点眼による眼圧下降作用の検討……………添付資料 4.2.1.1-003

タフルプロストの薬効濃度を明らかにするために、タフルプロスト点眼液（0.00002%、0.0001%、0.0005%及び0.0025%）、ラタノプロスト点眼液（0.0002%、0.001%及び0.005%）あるいは点眼液基剤（リン酸二水素ナトリウム 0.2%、エデト酸ナトリウム 0.05%、ポリソルベート 80 0.05%、濃グリセリン 2.25%、ベンザルコニウム塩化物 0.005%含有水溶液）を1群9例の雄性正常眼圧サルの片眼に20 µL 単回点眼し眼圧を測定した。眼圧は点眼直前並びに点眼後2、4、6、8及び24時間に測定し、薬効は各個体の最大眼圧下降幅（点眼前後の眼圧差の最大値）を算出し評価した。

各点眼群の最大眼圧下降幅を図 2.6.2.2-1 及び表 2.6.2.2-2 に示す。タフルプロスト点眼液は、正常眼圧サルに対して濃度依存的な眼圧下降作用を示し、0.0005%及び0.0025%点眼群の平均最大眼圧下降幅は、それぞれ 2.1 ± 0.4 mmHg 及び 3.2 ± 0.5 mmHg で基剤群に比し有意であった。一方、ラタノプロストは0.005%点眼群でのみで有意な眼圧下降を認め、その平均最大眼圧下降幅は 2.2 ± 0.4 mmHg であった。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。なお、参考データとして眼圧実測値の経時変化を図 2.6.2.2-2 及び表 2.6.2.2-3 に示す。

以上の結果から、正常眼圧に対するタフルプロスト点眼液の薬効濃度は、0.0005%以上と考えられた。

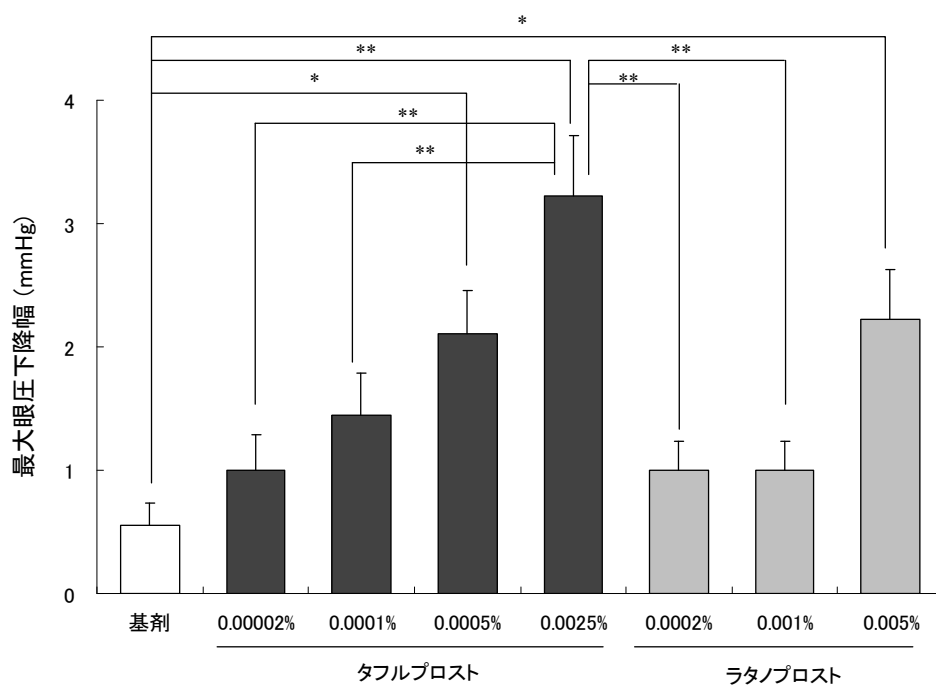


図 2.6.2.2-1 正常眼圧サルにおけるタフルプロスト点眼液及びラタノプロスト点眼液の
単回点眼時の最大眼圧下降幅

各値は 9 例の平均値 $\pm$ 標準誤差を示す。*: $P < 0.05$ 、*: $P < 0.01$ 、Tukey の検定
最大眼圧下降を示した点眼からの時間の平均値 $\pm$ 標準誤差は、0.0005%タフルプロストが 6.0 ± 0.8 時間 (8 例)、0.0025%タフルプロストが 8.2 ± 2.1 時間 (9 例)、0.005%ラタノプロストが 5.0 ± 0.7 時間 (8 例) であった。

表 2.6.2.2-2 正常眼圧サルにおけるタフルプロスト点眼液およびラタノプロスト点眼液
の単回点眼時の最大眼圧下降幅

薬剤	最大眼圧下降幅、mmHg (平均値 ± 標準誤差、各群 9 例)
基剤	0.6 ± 0.2
0.00002% タフルプロスト	1.0 ± 0.3
0.0001% タフルプロスト	1.4 ± 0.3
0.0005% タフルプロスト	2.1 ± 0.4
0.0025% タフルプロスト	3.2 ± 0.5
0.0002% ラタノプロスト	1.0 ± 0.2
0.001% ラタノプロスト	1.0 ± 0.2
0.005% ラタノプロスト	2.2 ± 0.4

最大眼圧下降を示した点眼からの時間の平均値 ± 標準誤差は、0.0005%タフルプロストが 6.0 ± 0.8 時間（8 例）、0.0025%タフルプロストが 8.2 ± 2.1 時間（9 例）、0.005%ラタノプロストが 5.0 ± 0.7 時間（8 例）であった。

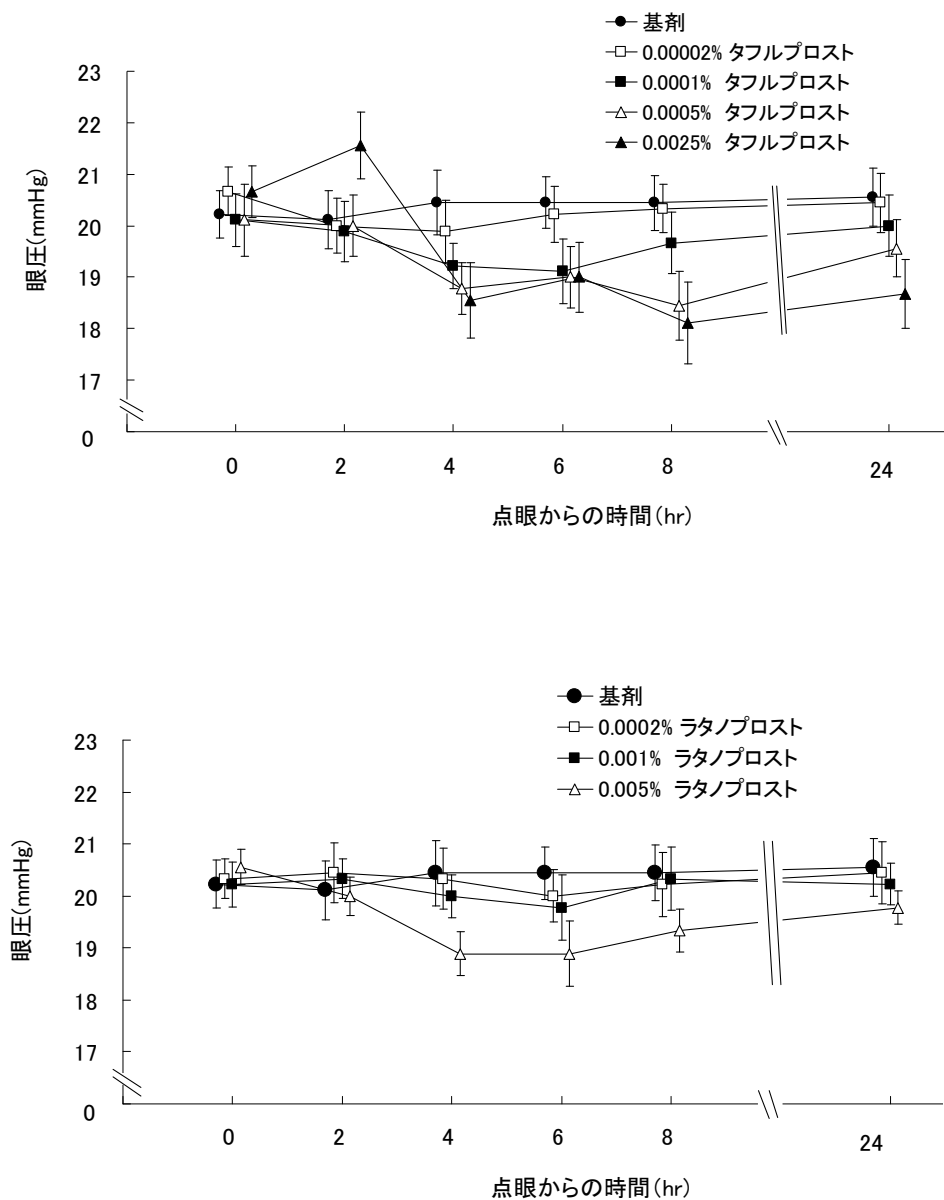


図 2.6.2.2-2 正常眼圧サルにおけるタフルプロスト点眼液及びラタノプロスト点眼液の
単回点眼時の眼圧の経時変化（参考データ）
各値は 9 例の平均値± 標準誤差を示す。

表 2.6.2.2-3 正常眼圧サルにおけるタフルプロスト点眼液及びラタノプロスト点眼液
の単回点眼時の眼圧の経時変化（参考データ）

点眼からの時間 (hr)	0	2	4	6	8	24
薬剤	眼圧、mmHg（平均値 ± 標準誤差、各群 9 例）					
基剤	20.2 ± 0.5	20.1 ± 0.6	20.4 ± 0.6	20.4 ± 0.5	20.4 ± 0.5	20.6 ± 0.6
0.00002% タフルプロスト	20.7 ± 0.5	20.0 ± 0.5	19.9 ± 0.6	20.2 ± 0.5	20.3 ± 0.5	20.4 ± 0.6
0.0001% タフルプロスト	20.1 ± 0.5	19.9 ± 0.6	19.2 ± 0.4	19.1 ± 0.6	19.7 ± 0.6	20.0 ± 0.6
0.0005% タフルプロスト	20.1 ± 0.7	20.0 ± 0.6	18.8 ± 0.5	19.0 ± 0.6	18.4 ± 0.7	19.6 ± 0.6
0.0025% タフルプロスト	20.7 ± 0.5	21.6 ± 0.6	18.6 ± 0.7	19.0 ± 0.7	18.1 ± 0.8	18.7 ± 0.7
0.0002% ラタノプロスト	20.3 ± 0.4	20.4 ± 0.6	20.3 ± 0.6	20.0 ± 0.5	20.2 ± 0.6	20.4 ± 0.6
0.001% ラタノプロスト	20.2 ± 0.4	20.3 ± 0.4	20.0 ± 0.4	19.8 ± 0.6	20.3 ± 0.6	20.2 ± 0.4
0.005% ラタノプロスト	20.6 ± 0.3	20.0 ± 0.4	18.9 ± 0.4	18.9 ± 0.6	19.3 ± 0.4	19.8 ± 0.3

(2) レーザー誘発高眼圧サルに対する単回点眼による眼圧下降作用の検討……………

添付資料 4.2.1.1-004

緑内障モデルである高眼圧サルにおける効果を検討するため、タフルプロスト点眼液（0.00002%、0.0005%、0.0025%及び0.005%）、ラタノプロスト点眼液（0.005%）あるいは点眼液基剤（結晶リン酸二水素ナトリウム 0.2%、エデト酸ナトリウム 0.05%、ポリソルベート 80 0.05%、濃グリセリン 2.25%、ベンザルコニウム塩化物 0.01%含有水溶液）を、レーザー誘発高眼圧サル（雄性）の片眼に 20 µL 単回点眼し眼圧を測定した（各群 10-11 例）。高眼圧サルは、Lee PY ら³⁾の方法に従いサル片眼の線維柱帯部分をアルゴンレーザーで 360 度全周にわたって照射することで作製し、処置眼の眼圧が 25 mmHg 以上で対側眼との眼圧差が 5 mmHg 以上の個体を使用した。眼圧は点眼直前、点眼後 2、4、6、8、12 及び 24 時間に測定し、薬効は各個体の最大眼圧下降幅（点眼前後の眼圧差の最大値）を算出し評価した。

各点眼群の最大眼圧下降幅を図 2.6.2.2-3 及び表 2.6.2.2-4 に示す。0.0025%及び 0.005%タフルプロスト点眼群の平均最大眼圧下降幅は、それぞれ 12.9 ± 2.0 mmHg 及び 11.5 ± 2.1 mmHg で基剤群に比し有意であった。一方、0.005%ラタノプロスト点眼群は、基剤群に比し眼圧下降傾向が見られたが有意ではなかった。なお、参考データとして、実測値の経時変化を図 2.6.2.2-4 及び表 2.6.2.2-5 に示す。

以上の結果から、タフルプロスト点眼液は高眼圧サルに対し眼圧下降作用を示すことが明らかになった。

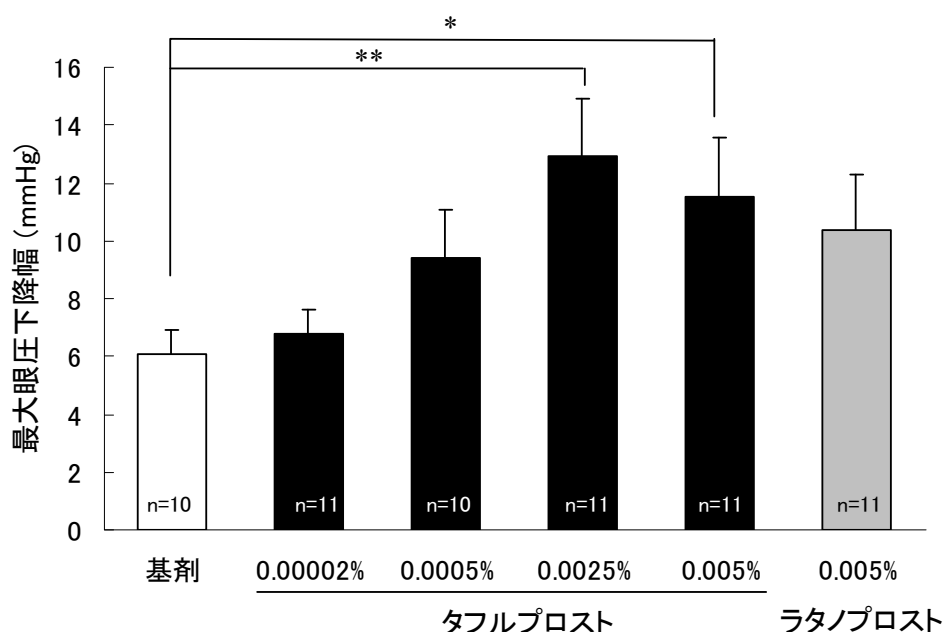


図 2.6.2.2-3 レーザー誘発高眼圧サルにおけるタフルプロスト点眼液及び
ラタノプロスト点眼液の単回点眼時の最大眼圧下降幅

各値は 10-11 例の平均値 ± 標準誤差を示す。

*: $P < 0.05$ 、**: $P < 0.01$ vs 基剤投与群、Dunnett の検定

最大眼圧下降を示した点眼からの時間の平均値 ± 標準誤差は、0.0025%タフルプロストが 10.9 ± 0.6 時間 (11 例)、0.005%タフルプロストが 12.0 ± 0.0 時間 (11 例) であった。

表 2.6.2.2-4 レーザー誘発高眼圧サルにおけるタフルプロスト点眼液及び
ラタノプロスト点眼液の単回点眼時の最大眼圧下降幅

薬剤	例数	最大眼圧下降幅、mmHg (平均値 ± 標準誤差)
基剤	10	6.1 ± 0.8
0.00002% タフルプロスト	11	6.8 ± 0.8
0.0005% タフルプロスト	10	9.4 ± 1.7
0.0025% タフルプロスト	11	12.9 ± 2.0
0.005% タフルプロスト	11	11.5 ± 2.1
0.005% ラタノプロスト	11	10.4 ± 1.9

最大眼圧下降を示した点眼からの時間の平均値 ± 標準誤差は、0.0025%タフルプロストが 10.9 ± 0.6 時間 (11 例)、0.005%タフルプロストが 12.0 ± 0.0 時間 (11 例) であった。

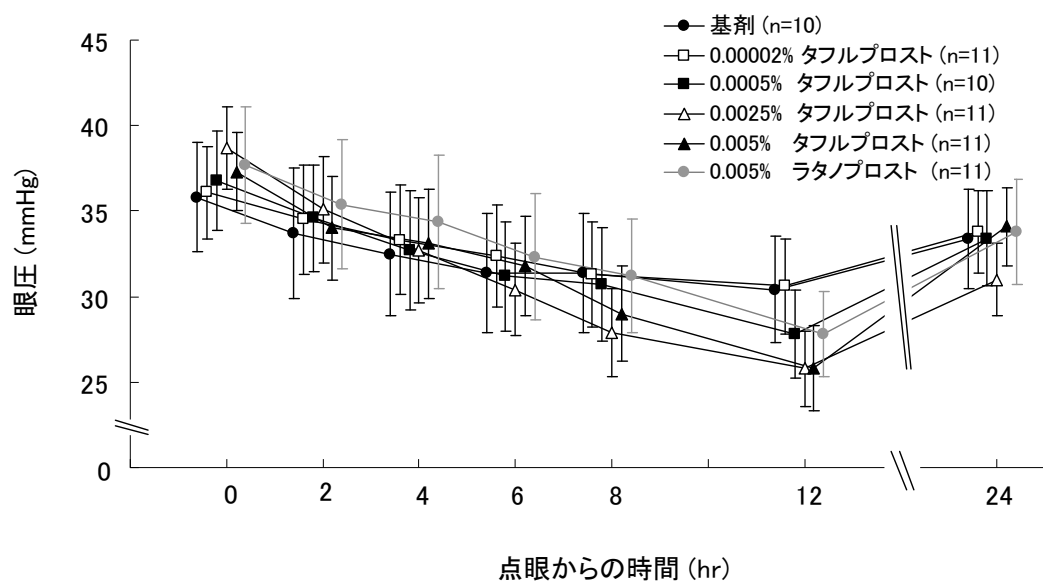


図 2. 6. 2. 2-4 レーザー誘発高眼圧サルにおけるタフルプロスト点眼液及びラタノプロスト点眼液の単回点眼時の眼圧の経時変化（参考データ）

各値は 10-11 例の平均値 $\pm$ 標準誤差を示す。

表 2. 6. 2. 2-5 レーザー誘発高眼圧サルにおけるタフルプロスト点眼液及びラタノプロスト点眼液の単回点眼時の眼圧の経時変化（参考データ）

点眼からの時間 (hr)		0	2	4	6	8	12	24
薬剤	例数	眼圧、mmHg (平均値 $\pm$ 標準誤差)						
基剤	10	35.8 $\pm$ 3.2	33.7 $\pm$ 3.8	32.5 $\pm$ 3.6	31.4 $\pm$ 3.5	31.4 $\pm$ 3.5	30.4 $\pm$ 3.1	33.4 $\pm$ 2.9
0.00002% タフルプロスト	11	36.1 $\pm$ 2.7	34.5 $\pm$ 3.2	33.3 $\pm$ 3.2	32.4 $\pm$ 3.0	31.3 $\pm$ 3.1	30.6 $\pm$ 2.8	33.8 $\pm$ 2.4
0.0005% タフルプロスト	10	36.8 $\pm$ 2.9	34.6 $\pm$ 3.1	32.7 $\pm$ 3.5	31.2 $\pm$ 3.2	30.7 $\pm$ 3.3	27.8 $\pm$ 2.6	33.4 $\pm$ 2.8
0.0025% タフルプロスト	11	38.7 $\pm$ 2.4	35.1 $\pm$ 3.1	32.7 $\pm$ 3.1	30.4 $\pm$ 2.7	27.9 $\pm$ 2.6	25.8 $\pm$ 2.2	31.0 $\pm$ 2.1
0.005% タフルプロスト	11	37.3 $\pm$ 2.3	34.0 $\pm$ 3.0	33.1 $\pm$ 3.2	31.8 $\pm$ 2.9	29.0 $\pm$ 2.8	25.8 $\pm$ 2.5	34.1 $\pm$ 2.3
0.005% ラタノプロスト	11	37.7 $\pm$ 3.4	35.4 $\pm$ 3.8	34.4 $\pm$ 3.9	32.3 $\pm$ 3.7	31.2 $\pm$ 3.3	27.8 $\pm$ 2.5	33.8 $\pm$ 3.1

(3) 正常眼圧サルに対する反復点眼による眼圧下降作用の検討………添付資料 4.2.1.1-005

反復点眼による眼圧下降作用を検討するため、タフルプロスト点眼液（0.001%、0.0025% 及び 0.005%）、ラタノプロスト点眼液（0.005%）あるいは点眼液基剤（結晶リン酸二水素ナトリウム 0.2%、エデト酸ナトリウム 0.05%、ポリソルベート 80 0.05%、濃グリセリン 2.25%、ベンザルコニウム塩化物 0.01%含有水溶液）の 20 μ L を 1 群 10 例の雄性正常眼圧サルの片眼に 1 日 1 回、5 日間反復点眼した。眼圧は、各点眼日の点眼直前並びに点眼後 4、6 及び 8 時間（但し、点眼 2 日目及び 4 日目は、当日の点眼直前のみ測定）、及び最終点眼後 24 時間（6 日目）に測定した。眼圧下降作用は、各測定日及び各個体単位で算出した最大眼圧下降幅（初回点眼前との眼圧差の最大値）、及び各日のトラフ眼圧（点眼後 24 時間の眼圧下降度）で評価した。

最大眼圧下降幅の経日変化を図 2.6.2.2-5 及び表 2.6.2.2-6 に、トラフ眼圧の経日変化を図 2.6.2.2-6 に示す。タフルプロスト点眼群は全ての濃度で眼圧下降作用を示し、その最大眼圧下降幅は経日的に増大し 3 日目にプラトーに達した。また、トラフ眼圧は、すべての濃度で 5 日間の反復点眼により基剤群に比し有意に下降した。一方、0.005%ラタノプロスト点眼群では有意な眼圧下降作用が認められたが、経日的な最大眼圧下降幅の増大や、トラフ眼圧の下降は認められなかった。なお、参考データとして、眼圧値の経日変化を図 2.6.2.2-7 及び表 2.6.2.2-7 に示す。

以上、タフルプロスト点眼液は、5 日間反復点眼により作用が減弱することなく眼圧下降作用が終日にわたって持続することが明らかとなった。これらのことから、タフルプロスト点眼液の推定用法は 1 日 1 回と考えられた。

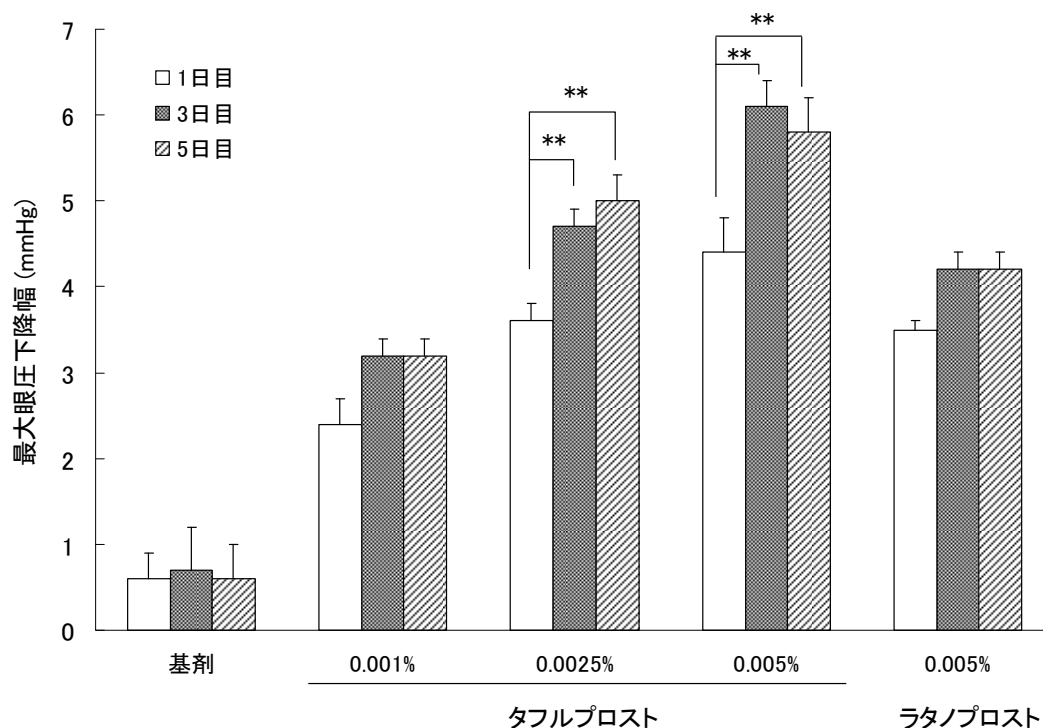


図 2.6.2.2-5 正常眼圧サルにおけるタフルプロスト点眼液及びラタノプロスト点眼液の5日間反復点眼による最大眼圧下降幅の経日変化

各値は10例の平均値 ± 標準誤差を示す。**: $P < 0.01$ 、Tukey-Kramer の検定

最大眼圧下降を示した点眼からの時間の平均値 ± 標準誤差（各群10例）は、0.001%タフルプロストの1日目が 5.8 ± 0.4 時間、3日目が 5.6 ± 0.3 時間、5日目が 5.4 ± 0.4 時間、0.0025%タフルプロストの1日目が 5.6 ± 0.4 時間、3日目が 5.4 ± 0.3 時間、5日目が 5.0 ± 0.3 時間、0.005%タフルプロストの1日目が 5.8 ± 0.2 時間、3日目が 5.2 ± 0.3 時間、5日目が 5.2 ± 0.3 時間、0.005%ラタノプロストの1日目が 6.0 ± 0.4 時間、3日目が 6.0 ± 0.4 時間、5日目が 5.6 ± 0.4 時間であった。

表 2.6.2.2-6 正常眼圧サルにおけるタフルプロスト点眼液及びラタノプロスト点眼液の5日間反復点眼による最大眼圧下降幅の経日変化

薬剤	最大眼圧下降幅、mmHg (平均値 ± 標準誤差、各群 10 例)		
	1 日目	3 日目	5 日目
基剤	0.6 ± 0.1	0.7 ± 0.2	0.6 ± 0.2
0.001% タフルプロスト	2.4 ± 0.3 **	3.2 ± 0.5 **	3.2 ± 0.4 **
0.0025% タフルプロスト	3.6 ± 0.3 **	4.7 ± 0.2 **	5.0 ± 0.2 **
0.005% タフルプロスト	4.4 ± 0.2 **	6.1 ± 0.2 **	5.8 ± 0.3 **
0.005% ラタノプロスト	3.5 ± 0.4 **	4.2 ± 0.3 **	4.2 ± 0.4 **

**：P<0.01 vs 各測定日の基剤投与群、Dunnett の検定

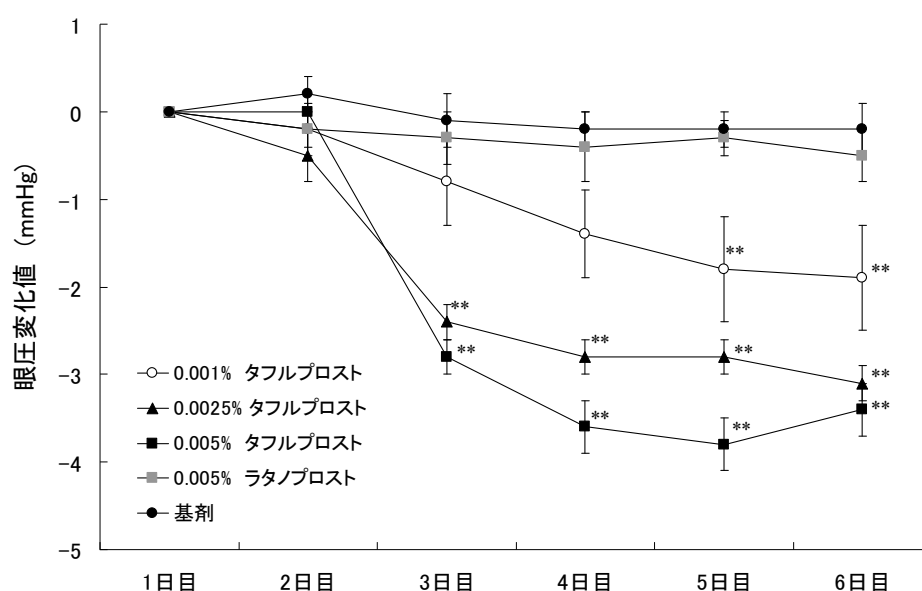


図 2.6.2.2-6 正常眼圧サルにおけるタフルプロスト点眼液及びラタノプロスト点眼液の5日間反復点眼によるトラフ眼圧の経日変化

各値は10例の平均値 ± 標準誤差を示す。**：P<0.01 vs 基剤投与群、Dunnett の検定

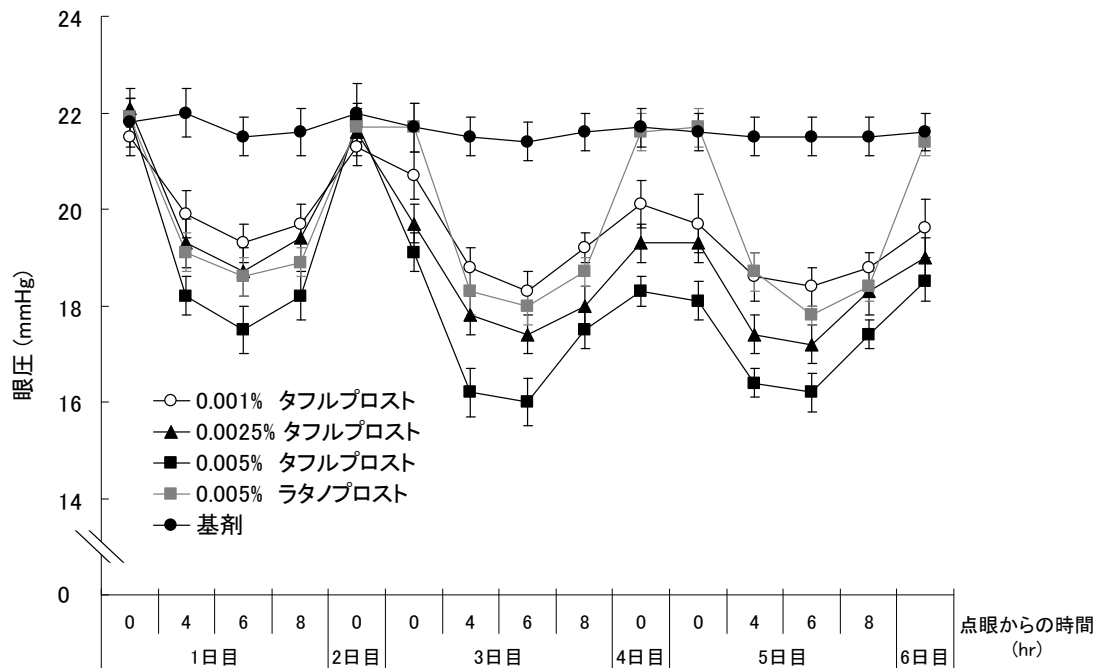


図 2.6.2.2-7 正常眼圧サルにおけるタフルプロスト点眼液及びラタノプロスト点眼液の5日間反復点眼による眼圧の経日変化 (参考データ)

各値は10例の平均値±標準誤差を示す。

表 2.6.2.2-7 正常眼圧サルにおけるタフルプロスト点眼液及びラタノプロスト点眼液の5日間反復点眼時の眼圧の経日変化 (参考データ)

点眼回数	1				2	3				4	5				6
点眼からの時間 (hr)	0	4	6	8	0	0	4	6	8	0	0	4	6	8	
薬剤	眼圧、mmHg (平均値 ± 標準誤差、各群 10 例)														
基剤	21.8 ±0.5	22.0 ±0.5	21.5 ±0.4	21.6 ±0.5	22.0 ±0.6	21.7 ±0.5	21.5 ±0.4	21.4 ±0.4	21.6 ±0.4	21.7 ±0.4	21.6 ±0.4	21.5 ±0.4	21.5 ±0.4	21.5 ±0.4	21.6 ±0.4
0.001% タフルプロスト	21.5 ±0.4	19.9 ±0.5	19.3 ±0.4	19.7 ±0.4	21.3 ±0.4	20.7 ±0.5	18.8 ±0.4	18.3 ±0.4	19.2 ±0.3	20.1 ±0.5	19.7 ±0.6	18.6 ±0.5	18.4 ±0.4	18.8 ±0.3	19.6 ±0.6
0.0025% タフルプロスト	22.1 ±0.4	19.3 ±0.5	18.7 ±0.5	19.4 ±0.4	21.6 ±0.5	19.7 ±0.4	17.8 ±0.4	17.4 ±0.4	18.0 ±0.4	19.3 ±0.4	19.3 ±0.4	17.4 ±0.4	17.2 ±0.4	18.3 ±0.5	19.0 ±0.4
0.005% タフルプロスト	21.9 ±0.4	18.2 ±0.4	17.5 ±0.5	18.2 ±0.5	21.8 ±0.4	19.1 ±0.4	16.2 ±0.5	16.0 ±0.5	17.5 ±0.4	18.3 ±0.3	18.1 ±0.4	16.4 ±0.3	16.2 ±0.4	17.4 ±0.3	18.5 ±0.4
0.005% ラタノプロスト	21.9 ±0.4	19.1 ±0.4	18.6 ±0.4	18.9 ±0.3	21.7 ±0.3	21.7 ±0.5	18.3 ±0.5	18.0 ±0.4	18.7 ±0.3	21.6 ±0.4	21.7 ±0.4	18.7 ±0.4	17.8 ±0.2	18.4 ±0.3	21.4 ±0.3

表 2.6.2.2-8 正常眼圧サルにおけるタフルプロスト点眼液及びラタノプロスト点眼液の
5 日間反復点眼による最大眼圧下降幅を示す時間

薬剤	最大眼圧下降幅、mmHg (平均値 ± 標準誤差、各群 10 例)		
	1 日目	3 日目	5 日目
基剤	-	-	-
0.001% タフルプロスト	5.8±0.4	5.6±0.3	5.4±0.4
0.0025% タフルプロスト	5.6±0.4	5.4±0.3	5.0±0.3
0.005% タフルプロスト	5.8±0.2	5.2±0.3	5.2±0.3
0.005% ラタノプロスト	6.0±0.4	6.0±0.4	5.6±0.4

値は各群 10 例の平均値 ± 標準誤差を示す。-: 算出していない。

2.6.2.2.3 作用機序に関する試験……………添付資料 4.2.1.1-006

タフルプロスト点眼液の眼圧下降作用機序を検討するため、正常眼圧カニクイザルを用いた房水動態試験を実施した。

(1) 房水産生に及ぼす影響

房水産生量への影響は、雌性 6 例、雄性 2 例の計 8 例の正常眼圧カニクイザルを用い、フルオロフォトメトリー法にて検討した。薬剤評価前の両眼の房水産生量（ベースライン）に差がないことを確認したのち、サルの片眼（処置眼）に 0.005%タフルプロスト点眼液 20 μ L を 1 日 1 回、3 日間、又は 0.25%マレイン酸チモロール点眼液 2 μ L を 1 日 2 回、3 日間（3 日目は朝のみ）反復点眼した。なお、ベースライン 1 はマレイン酸チモロール投与前に、またベースライン 2 はチモロール投与から 3 週間以上のウォッシュアウト期間の後に測定した。対側眼（対照眼）にはマレイン酸チモロール点眼時、基剤として生理食塩液を、タフルプロスト点眼時、被験薬基剤（結晶リン酸二水素ナトリウム 0.2%、エデト酸ナトリウム 0.05%、ポリソルベート 80 0.05%、濃グリセリン 2.25%、ベンザルコニウム塩化物 0.005%含有水溶液）を反復点眼した。フルオロフォトメトリーは、薬剤最終点眼後 1 時間から 1 時間ごとに計 6 回実施した。なお、薬効確認のため、最終点眼前及び 3 回目のフルオロフォトメトリー実施後に眼圧を測定した。房水産生量（ μ L/min）は、角膜厚、角膜径及び前房深度から計算した前房容積と、角膜及び前房から単位時間当たりに消失するフルオレセイン濃度から Gabelt らの方法⁴⁾で算出した。房水産生量の測定結果を表 2.6.2.2-9

に示す。対照薬であるマレイン酸チモロールの反復点眼により、処置眼では 1.0 ± 0.7 mmHg の眼圧下降が認められた。マレイン酸チモロール点眼後の両眼の房水産生量比（処置眼／対照眼）は、 0.77 ± 0.02 と有意に低下し、反復点眼による房水産生抑制がみられた。一方、タフルプロストの反復点眼では 3.9 ± 0.7 mmHg の眼圧下降効果が認められたが、両眼の房水産生量比（ 1.10 ± 0.04 ）に有意な変化は認められず、タフルプロストは房水産生に影響を及ぼさないものと考えられた。

（2）ぶどう膜強膜経路からの房水流出に及ぼす影響

ぶどう膜強膜経路からの房水流出量への影響は、放射性同位体 ^{125}I あるいは ^{131}I でラベルされたアルブミン水溶液の局所灌流法にて検討した⁵⁾。タフルプロストの試験には雌性 5 例、雄性 5 例の計 10 例、PGF_{2α} イソプロピルエステルの試験には雌性 6 例、雄性 2 例の計 8 例の正常眼圧カニクイザルを用いた。サルの片眼（処置眼）に 0.005% タフルプロスト点眼液 20 μL を 1 日 1 回、4-5 日間、又は比較対照薬の 0.02% PGF_{2α} イソプロピルエステル点眼液 10 μL を 1 日 2 回、3-4 日間反復点眼した。対側眼（対照眼）にはタフルプロスト点眼時、基剤として被験薬基剤（結晶リン酸二水素ナトリウム 0.2%、エデト酸ナトリウム 0.05%、ポリソルベート 80 0.05%、濃グリセリン 2.25%、ベンザルコニウム塩化物 0.005% 含有水溶液）を、PGF_{2α} イソプロピルエステル点眼時、リン酸緩衝生理食塩水 20 μL を反復点眼した。最終点眼から 3 時間後、全身麻酔下で、放射性同位体でラベルしたアルブミンを含む灌流液を前房内に灌流させ、灌流液及び全身血中へ流出した放射性同位体量（線維柱帯経路からの流出量に相当）を経時的に測定し単位時間あたりの血中流出量を算出した。ぶどう膜強膜経路からの房水流出量（μL/min）は、房水産生量から血中流出量を減じることによって算出した。房水流出量の測定結果を表 2.6.2.2-9 に示す。タフルプロスト点眼液の反復点眼により、処置眼では 2.9 ± 0.7 mmHg の眼圧下降が認められた。タフルプロスト処置眼及び対照眼のぶどう膜強膜流出路からの房水流出量（Fu）は、それぞれ 1.22 ± 0.14 μL/min 及び 0.92 ± 0.17 μL/min であり、各個体の処置眼／対照眼の比率の平均値を示した房水流出量比は 1.65 ± 0.24 と有意に増加した。この結果から、タフルプロストは、ぶどう膜強膜から房水流出を増大させることが明らかとなった。一方、対照薬の PGF_{2α} イソプロピルエステル処置眼及び対照眼の Fu は、それぞれ 1.40 ± 0.20 μL/min 及び 1.01 ± 0.22 μL/min であり、ぶどう膜強膜流出路からの房水流出の増加傾向を示したが有意ではなかった。

(3) 総房水流出 (Outflow facility) に及ぼす影響

総房水流出への影響は、two-level constant pressure perfusion 法にて検討した⁶⁾。タフルプロストの試験には雌性 6 例、雄性 6 例の計 12 例、PGF_{2α}イソプロピルエステルの試験には雌性 6 例、雄性 2 例の計 8 例、ピロカルピンの試験には雌性 5 例、雄性 3 例の計 8 例の正常眼圧カニクイザルを用いた。対側眼（対照眼）には基剤としてタフルプロスト点眼時、被験薬基剤（結晶リン酸二水素ナトリウム 0.2%、エデト酸ナトリウム 0.05%、ポリソルベート 80 0.05%、濃グリセリン 2.25%、ベンザルコニウム塩化物 0.005%含有水溶液）を、PGF_{2α}イソプロピルエステル点眼時、リン酸緩衝生理食塩水 20 μL を反復点眼した。ピロカルピン試験時、基剤として Barany の液（塩化ナトリウム 0.8%、塩化カリウム 0.035%、塩化カルシウム 0.017%、塩化マグネシウム 0.0064%、リン酸水素二ナトリウム 0.0069%、リン酸二水素ナトリウム 0.00137%、グルコース 0.1%含有水溶液）を 10 μL を単回前房内投与した。全身麻酔下で、サル两眼に分枝ニードルカニューレを挿入し、その末端は水を満たしたリザーバー及び圧トランスデューサーに接続した。対照薬の 1%塩酸ピロカルピン水溶液は、10 μL を単回前房内投与した。総房水流出 (μL/min/mmHg) は、15 mmHg の低眼圧時及び 25 mmHg の高眼圧時のリザーバー水量変化を測定し、単位時間あたりの流量及び眼圧変化の比率として算出した。総房水流出の測定結果を表 2.6.2.2-9 に示す。タフルプロスト処置眼及び対照眼の総房水流出は、それぞれ 0.57 ± 0.11 μL/min/mmHg 及び 0.45 ± 0.08 μL/min/mmHg であり、各個体の処置眼／対照眼の比率の平均値を示した房水流出量比は 1.33 ± 0.13 と有意に増加した。一方、対照薬の塩酸ピロカルピン処置眼及び対照眼の総房水流出は、それぞれ 2.23 ± 0.40 μL/min/mmHg 及び 0.83 ± 0.16 μL/min/mmHg であり、有意な房水流出の増加を示した。また、PGF_{2α}イソプロピルエステル処置眼及び対照眼の総房水流出は、それぞれ 0.58 ± 0.09 μL/min/mmHg 及び 0.60 ± 0.10 μL/min/mmHg であり、房水流出量比 1.15 ± 0.23 であった。

以上、サルを用いた房水動態試験の結果、タフルプロスト点眼液は房水産生に影響を与えず、ぶどう膜強膜流出路からの房水流出を促進することにより眼圧下降作用を発揮するものと考えられた。

表 2.6.2.2-9 タフルプロスト点眼による房水動態の変化

測定項目	薬剤	例数	薬剤処置	対照	薬剤処置/対照
房水産生量 (μL/min)	ベースライン 1	8	1.64 ± 0.17	1.55 ± 0.14	1.06 ± 0.05
	チモロール	8	1.06 ± 0.10	1.39 ± 0.15	0.77 ± 0.02**
	ベースライン 2	8	1.43 ± 0.12	1.49 ± 0.14	0.97 ± 0.03
	タフルプロスト	8	1.88 ± 0.13	1.73 ± 0.13	1.10 ± 0.04
ぶどう膜強膜経路からの房水流出量 (μL/min)	タフルプロスト	10	1.22 ± 0.14	0.92 ± 0.17	1.65 ± 0.24*
	PGF _{2α} イソプロピルエステル	8	1.40 ± 0.20	1.01 ± 0.22	2.31 ± 0.99
総房水流出 (μL/min/mmHg)	タフルプロスト	12	0.57 ± 0.11	0.45 ± 0.08	1.33 ± 0.13*
	PGF _{2α} イソプロピルエステル	8	0.58 ± 0.09	0.60 ± 0.10	1.15 ± 0.23
	ピロカルピン	8	2.23 ± 0.40	0.83 ± 0.16	2.84 ± 0.33**

各値は平均値 ± 標準誤差を示す。*: P<0.05、**: P<0.01 vs 1.0 (two-tailed paired t-test)

ベースライン 1 は薬剤処置前、ベースライン 2 はウォッシュアウト後の房水産生量を示す。

2.6.2.2.4 併用効果に関する試験……………添付資料 4.2.1.1-007

作用機序の異なる緑内障治療薬との併用効果を確認するために、β遮断薬である 0.5% マレイン酸チモロール点眼液と 0.0015% タフルプロスト点眼液の 2 剤併用による眼圧下降効果を検討した。試験には、1 群 16 例の雄性正常眼圧カニクイザルを使用した。サル の 片眼に、1 剤目 (0.0015% タフルプロスト点眼液あるいは生理食塩液) を 20 μL 点眼し、5 分以上の間隔を空けたのち、2 剤目 (0.5% マレイン酸チモロール点眼液あるいは生理食塩液) を 20 μL 点眼した。眼圧は、点眼前並びに点眼後 2、4、6 及び 8 時間に盲検下で測定し、各個体の最大眼圧下降幅 (点眼前後の眼圧差の最大値) を算出し評価した。

各単剤及び両薬剤併用時の最大眼圧下降幅を図 2.6.2.2-8 に示す。マレイン酸チモロール及びタフルプロスト各単剤は、それぞれ 2.4 ± 0.3 mmHg 及び 3.5 ± 0.3 mmHg の最大眼圧下降幅を示し、生理食塩液点眼群 (0.8 ± 0.2 mmHg) に比し有意な眼圧下降効果が確認された。一方、タフルプロストとマレイン酸チモロール併用群は、5.1 ± 0.5 mmHg の最大眼圧下降幅を示し、各薬剤の単独の下降幅より有意に大きかった。なお、参考データとして眼圧実測値の経時変化を図 2.6.2.2-9 及び表 2.6.2.2-10 に示す。

以上の結果から、タフルプロスト点眼液は、マレイン酸チモロール点眼液との併用により相加的な眼圧下降効果を示すことが明らかとなった。

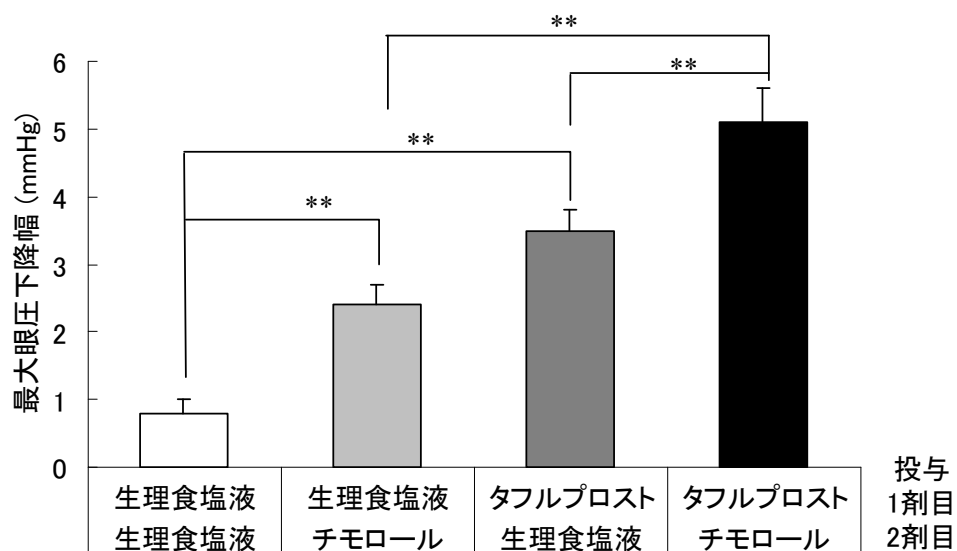


図 2.6.2.2-8 正常眼圧サルにおけるタフルプロスト点眼液、チモロール点眼液の各単剤点眼時及び両薬剤併用点眼時の最大眼圧下降幅

各値は 16 例の平均値 $\pm$ 標準誤差を示す。**: $P < 0.01$ 、Dunnett の検定

最大眼圧下降を示した点眼からの時間の平均値 $\pm$ 標準誤差（各群 16 例）は、生理食塩液 + チモロールが 4.4 ± 0.6 時間、タフルプロスト + 生理食塩液が 6.4 ± 0.5 時間、タフルプロスト + チモロールが 6.3 ± 0.6 時間であった。

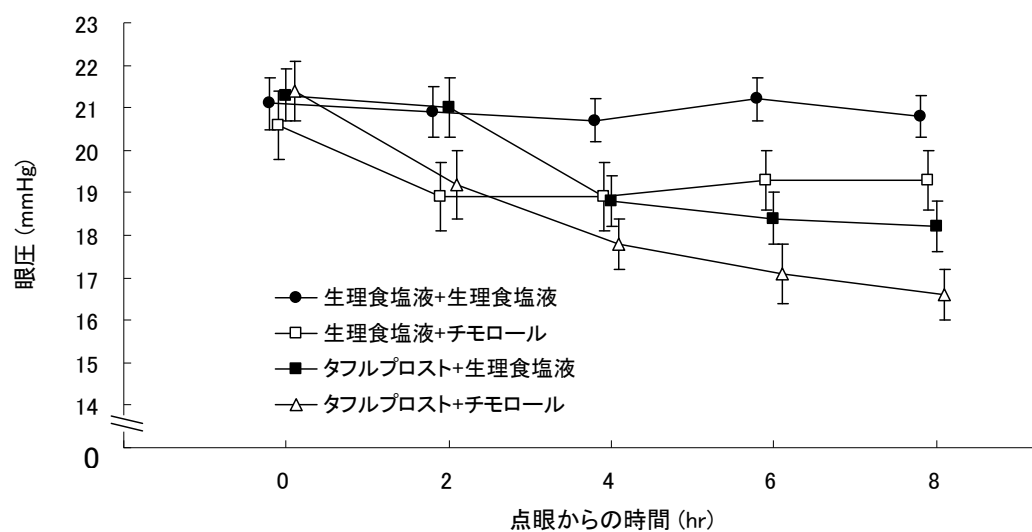


図 2.6.2.2-9 正常眼圧サルにおけるタフルプロスト点眼液、チモロール点眼液の各単剤点眼時及び両薬剤併用点眼時の眼圧の経時変化（参考データ）
各値は 16 例の平均値 ± 標準誤差を示す。

表 2.6.2.2-10 正常眼圧サルにおけるタフルプロスト点眼液、チモロール点眼液の各単剤点眼時及び両薬剤併用点眼時の眼圧の経時変化（参考データ）

点眼からの時間 (hr)	0	2	4	6	8
薬剤	眼圧、mmHg（平均値 ± 標準誤差、各群 16 例）				
生理食塩液 + 生理食塩液	21.1 ± 0.6	20.9 ± 0.6	20.7 ± 0.5	21.2 ± 0.5	20.8 ± 0.5
生理食塩液 + チモロール	20.6 ± 0.8	18.9 ± 0.8	18.9 ± 0.8	19.3 ± 0.7	19.3 ± 0.7
タフルプロスト + 生理食塩液	21.3 ± 0.6	21.0 ± 0.7	18.8 ± 0.6	18.4 ± 0.6	18.2 ± 0.6
タフルプロスト + チモロール	21.4 ± 0.7	19.2 ± 0.8	17.8 ± 0.6	17.1 ± 0.7	16.6 ± 0.6

2.6.2.2.5 代謝物の薬理試験 添付資料 4.2.1.1-008

タフルプロストの眼圧下降作用の活性本体を明らかにするため、1 群 10 例の雄性正常眼圧カニクイザルを使用し、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 の眼圧下降作用を検討した（2.6.4.5.1 p26）。各代謝物の投与液濃度及び投与量は、サルに 0.005% ^3H -タフルプロスト点眼液 20 μL を単回点眼したときの房水中最高放射能濃度 25.3 ng eq./g （タフルプロストとして 55.9 nM）を根拠に設定した（2.6.5.5.4 p22）。約 10 倍の房水希釈を考慮して 559 nM の各代謝物溶液 10 μL を片眼の前房内に単回投与した。基剤群には 0.1% ジメチルスルホキシド含有生理食塩液を 10 μL 前房内に単回投与した。眼圧は、投与直前並びに投与後 2、4、6 及び 8 時間に圧平式眼圧計を用いて盲検下で測定した。

各代謝物投与後の眼圧の経時変化を図 2.6.2.2-10 及び表 2.6.2.2-11 に示す。タフルプロストカルボン酸体投与群は、投与後 6 時間で全例に明らかな眼圧下降のピークを認め、最大眼圧下降幅は 2.4 ± 0.2 mmHg であった。一方、dinorAFP-172、tetranorAFP-172 及び tetranorAFP-172 lactone 投与群の最大眼圧下降幅は、それぞれ 1.1 ± 0.2 mmHg、 0.9 ± 0.2 mmHg 及び 1.1 ± 0.2 mmHg であったが、各個体に明確な眼圧変動パターンは認められなかった。

以上の結果から、タフルプロストの眼圧下降作用の活性本体は、タフルプロストカルボン酸体であると考えられた。

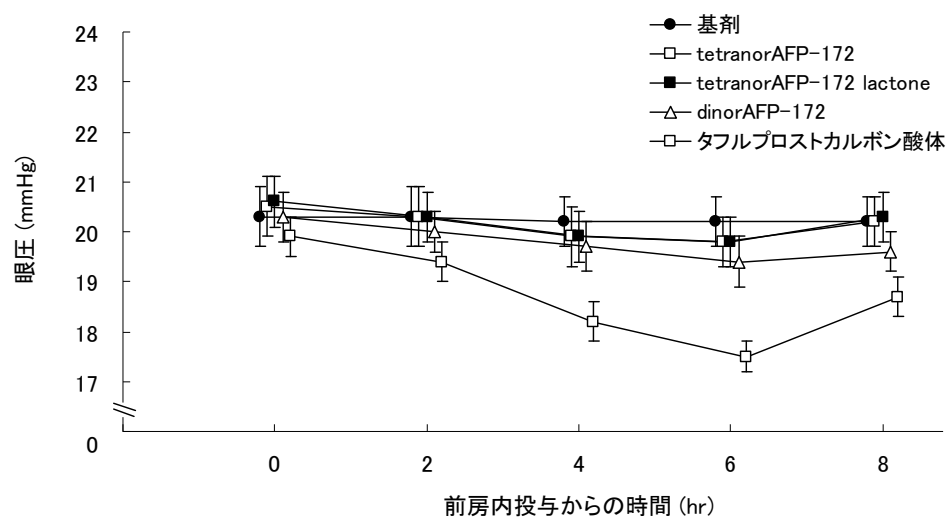


図 2.6.2.2-10 正常眼圧サルにおけるタフルプロスト代謝物の単回前房内投与時の
眼圧の経時変化

各値は 10 例の平均値 ± 標準誤差を示す。

表 2.6.2.2-11 正常眼圧サルにおけるタフルプロスト代謝物の単回前房内投与時の眼圧の
経時変化

前房内投与からの時間 (hr)	0	2	4	6	8
薬剤	眼圧、mmHg (平均値 ± 標準誤差、各群 10 例)				
基剤	20.3 ± 0.6	20.3 ± 0.6	20.2 ± 0.5	20.2 ± 0.5	20.2 ± 0.5
タフルプロストカルボン酸体	19.9 ± 0.4	19.4 ± 0.4	18.2 ± 0.4	17.5 ± 0.3	18.7 ± 0.4
dinorAFP-172	20.3 ± 0.5	20.0 ± 0.4	19.7 ± 0.5	19.4 ± 0.5	19.6 ± 0.4
tetranorAFP-172	20.5 ± 0.6	20.3 ± 0.6	19.9 ± 0.6	19.8 ± 0.5	20.2 ± 0.5
tetranorAFP-172 lactone	20.6 ± 0.5	20.3 ± 0.5	19.9 ± 0.5	19.8 ± 0.5	20.3 ± 0.5

2.6.2.3 副次的薬理試験 添付資料 4.2.1.2-001

タフルプロストの副次的薬理試験として眼血流に及ぼす影響を検討した。試験には、1 群 10 例の雄性正常ウサギ (Dutch) を用い、0.0015% タフルプロスト点眼液、0.005% ラタノプロスト点眼液あるいは生理食塩液 (対照群) を 1 日 1 回 50 μ L、28 日間反復点眼した。眼血流測定はレーザースペックル血流計を使用し、点眼開始前、点眼開始 14 日目及び 28 日目の点眼前、点眼後 30 及び 60 分に視神経乳頭部の組織血流を測定した。

各点眼群の眼血流変化を図 2.6.2.3-1 に示す。タフルプロスト点眼群は、測定したすべての時点で対照群に比し有意に眼血流が増大していた。また、点眼 14 日目及び 28 日目のトラフ眼血流は、点眼開始前を 100% としたとき、それぞれ $108.7 \pm 4.4\%$ 及び $111.9 \pm 3.9\%$ に増大した。一方、ラタノプロスト点眼群においても対照群に比し眼血流が増大し、点眼 14 日目及び 28 日目のトラフ眼血流は、それぞれ $105.8 \pm 1.7\%$ 及び $107.2 \pm 4.3\%$ に増大した。しかし、その変化の程度はタフルプロストより少なかった。

以上、タフルプロスト点眼液は反復点眼により眼血流を増加させることが明らかとなった。

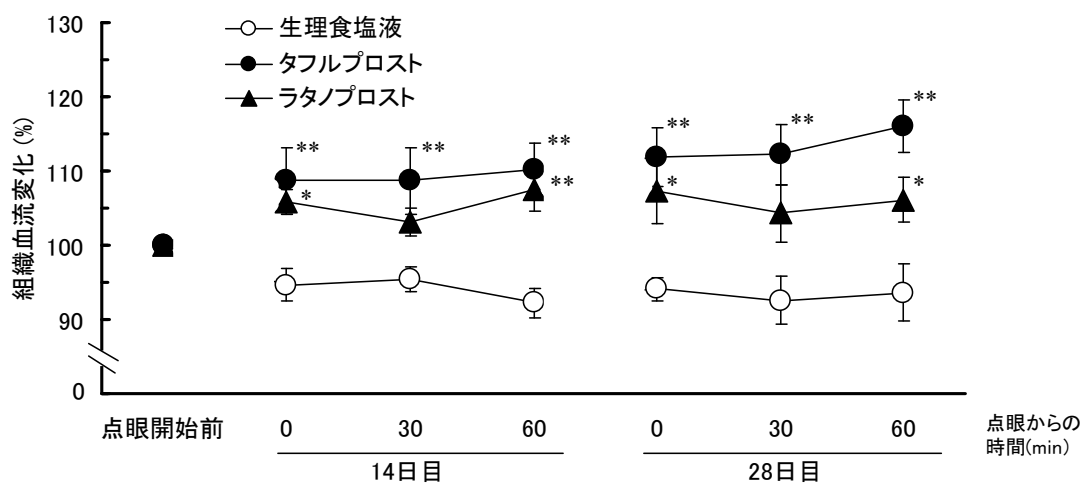


図 2.6.2.3-1 視神経乳頭部組織血流に及ぼすタフルプロスト点眼液及びラタノプロスト点眼液の影響

各値は 10 例の平均値 $\pm$ 標準誤差を示す。

: $P < 0.05$ 、: $P < 0.01$ vs 生理食塩液投与群、Dunnett の検定

2.6.2.4 安全性薬理試験

タフルプロストの安全性薬理試験を実施した。一般症状・行動及び中枢神経系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、遅延整流カリウムイオン電流への影響、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。安全性薬理試験のうち 7 試験は GLP を遵守して実施し、それ以外の 1 試験、「麻酔イヌ呼吸循環器系に及ぼす化合物 AFP-168、ラタノプロスト点眼液および PGF_{2α}の影響（試験番号■■■■HHH*）」について、「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」（1997 年 3 月 26 日付厚生省令第 21 号）第 11 条 1 項、13 条 2 項、15 条 1 項を除いて GLP に従い実施した。すなわち、本試験において、比較対照物質として用いたラタノプロスト点眼液は、米国での市販品を使用し、ラタノプロスト点眼液及びその希釈液の、安定性及び均一性についての分析は実施しなかった。同様に比較対照物質として用いた PGF_{2α}溶液は、市販薬であるプロスタグランジン F_{2α}注射液■■■■を用い、プロスタグランジン F_{2α}注射液■■■■及びその希釈液の、安定性及び均一性についての分析は実施しなかった。

2.6.2.4.1 一般症状及び行動に及ぼす影響……………添付資料 4.2.1.3-001

1 群 6 匹の雄の ICR 系マウスに、タフルプロストを 10、30 及び 100 µg/kg の用量（基剤を生理食塩液とした）で単回静脈内投与し、投与前あるいは投与後 0-5、15、30、60、90 及び 120 分に Irwin 法による観察を実施し、投与翌日に一般状態観察を実施した。一般症状及び行動を検討した結果、30 µg/kg の用量まで影響は認められなかった。100 µg/kg 投与群で、投与後 5 分において 6 例中 1 例に反応性亢進、運動機能低下を示す一般症状が認められた。なお、観察期間中に症状の見られる頻度・強度は低下し、翌日には正常に戻った。

2.6.2.4.2 中枢神経系に及ぼす影響……………添付資料 4.2.1.3-002

1 群 10 匹の雄の ICR 系マウスに、タフルプロストを 10、30 及び 100 µg/kg の用量（基剤を生理食塩液とした）で単回静脈内投与し、自発運動量を検討した結果、100 µg/kg の用量まで影響は認められなかった。

* 新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.2.4.3 呼吸・循環器系に及ぼす影響

(1) 呼吸・循環器系に及ぼす影響（その 1 プロポフォール麻酔イヌ）

添付資料 4.2.1.3-003

1 群雌雄各 2 匹のプロポフォール麻酔ビーグル犬に、タフルプロストを 25 分間隔で 0.003、0.01、0.1 及び 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ の用量（基剤を生理食塩液とした）で累積静脈内投与し、呼吸・循環器系に及ぼす影響について検討した。

0.003 及び 0.01 $\mu\text{g}/\text{kg}$ の用量では呼吸・循環器系に影響は認められなかった。0.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 投与群では、投与後に呼吸数、血圧、心拍数及び心収縮力に増加が認められ、投与後 2 分の血圧上昇は有意であった。これらの変化はいずれも投与後 20 分には回復した。1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 投与群では、0.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 投与群でみられた所見がより強く認められ、少なくとも投与後 40 分間持続した。呼吸数増加は有意ではなかったが、投与後 2 分及び 10 分の 1 回換気量及び投与後 30 分及び 40 分の分時換気量の増加は有意であった。血圧上昇については、投与後の時間経過に伴い回復する傾向がみられたが、投与後 2 分から 40 分の間、継続的に有意差があった。心電図において 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 投与群で T 波高の減少及び心拍数増加に伴う RR 間隔の短縮がみられ、QTc の延長がみられた。有意差が認められたのは、T 波高の減少については投与後 20 分及び 30 分で、QTc の延長は投与後 20 分、心拍数増加及び RR 間隔の短縮は投与後 2 分から 40 分もしくは 30 分であった。これら上記の変化のうち T 波高減少を除いては、投与後 40 分に回復傾向がみられた。専門家による心電図解析において心機能の異常を示唆するような徴候は認められず、上記の変化は正常範囲内のものと判断された。

(2) 呼吸・循環器系に及ぼす影響（その 2 イソフルラン麻酔イヌ）

添付資料 4.2.1.3-004

1 群 4 匹の雄のイソフルラン麻酔ビーグル犬に、タフルプロスト（基剤を生理食塩液とした）、同種同効薬であるラタノプロスト点眼液（基剤を 0.02%ベンザルコニウム塩化物生理食塩液とした）及び $\text{PGF}_{2\alpha}$ （基剤を 0.0017%ジエタノールアミン生理食塩液とした）を 35 分間隔で累積静脈内投与し、呼吸・循環器系に及ぼす影響について検討した。投与量として、タフルプロストは 0.01、0.1、1 及び 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、ラタノプロストは 0.1、1、10 及び 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、 $\text{PGF}_{2\alpha}$ は 0.1、1、10 及び 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ とした。

タフルプロストの 0.01 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、ラタノプロストの 0.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、 $\text{PGF}_{2\alpha}$ の 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ の用量の静脈

内投与では、呼吸・循環器系に影響は認められなかった。呼吸数増加がタフルプロストの 0.1 µg/kg 以上、ラタノプロストの 1 µg/kg 以上、PGF_{2α}の 10 µg/kg 以上の用量で認められ、血圧上昇がタフルプロストの 1 µg/kg 以上、ラタノプロストの 10 µg/kg 以上、PGF_{2α}の 10 µg/kg 以上の用量で認められた。T 波高の減少がタフルプロストの 1 µg/kg、ラタノプロストの 1 µg/kg 以上、PGF_{2α}の 10 µg/kg 以上の用量で認められた。その他、タフルプロストでは 10 µg/kg まで、ラタノプロストでは 100 µg/kg まで、PGF_{2α}では 100 µg/kg の用量まで特記すべき変化は認められなかった。

上記のように、タフルプロストの静脈内投与によりみられた呼吸数増加、血圧上昇及び T 波高の減少が、ラタノプロスト及び PGF_{2α}の静脈内投与によっても認められたことから、タフルプロストの呼吸・循環器系への影響は、PGF_{2α}の薬理作用に起因する変化であると考えられた。

(3) 循環器系に及ぼす影響（遅延整流カリウムイオン電流への影響）……………

添付資料 4.2.1.3-005

hERG チャネルを発現させた HEK293 細胞 4 つを用い、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遅延整流カリウムイオン電流の速い成分 (I_{Kr}) に対する影響を 100 ng/mL の濃度 (基剤を 0.1%ジメチルスルホキシドとした) で検討したところ、影響はみられなかった。

(4) 循環器系に及ぼす影響（活動電位持続時間への影響）…………… 添付資料 4.2.1.3-006

1 群 4 標本のイヌ心筋プルキンエ線維を用い、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活動電位持続時間への各影響を 1、10 及び 100 ng/mL の濃度 (基剤を 0.1%ジメチルスルホキシドとした) で検討したところ、60%再分極時の活動電位持続時間 (APD₆₀)、90%再分極時の活動電位持続時間 (APD₉₀)、活動電位振幅 (UA)、活動電位の最大立ち上がり速度 (MRD) 及び静止膜電位 (RMP) に 100 ng/mL まで影響はみられなかった。

(5) 循環器系に及ぼす影響についてのまとめ

プロポフォール麻酔イヌでは 0.1 µg/kg の静脈内投与で血圧、心拍数及び心収縮力の増加がみられたが、投与後 20 分には回復し、QT 及び QTc に影響は認められなかった。1 µg/kg

投与群では、これらの所見に増強が認められ、加えて T 波高の減少、心拍数の増加に伴う RR 間隔の短縮及び QTc の延長が有意にみられた。QT については生理食塩液投与群と有意な差はないものの短縮傾向を示した。これらの所見は投与後 40 分に回復傾向を示した。なお、専門家による心電図解析において、上記の変化はすべて正常範囲内のものと判断されている。また、イソフルラン麻酔イヌでは 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ の静脈内投与により血圧上昇及び T 波高の減少が認められたものの、10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ の用量まで QT 及び QTc に何ら影響は認められなかった。

覚醒イヌ (2.6.6.3.6 p20) では 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ の 1 ヶ月間静脈内投与で QTc の延長、血圧及び心拍数の増加がみられたが、これらの所見は投与 2 時間後には回復した。なお、QT は生理食塩液投与群と有意な差はないものの短縮傾向を示した。一方、覚醒サル (2.6.6.3.1 p13) では 0.05% 点眼液を片眼に 1 回 30 μL 、1 日 2 回 1 ヶ月点眼した場合 (1 回あたりの投与量は 15 μg /動物となり、体重を 3~5 kg とすると 3~5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ に相当) でも心電図及び血圧において投与に関連した変化は認められなかった。

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の全身暴露については、覚醒イヌ (2.6.6.3.6 p20) で循環器系に影響がみられた 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 投与時の C_{max} が雄で 22.38 ng/mL、雌で 23.00 ng/mL、AUC は雄で 4.03 ng $\cdot$ hr/mL、雌で 5.60 ng $\cdot$ hr/mL であった。覚醒サル (2.6.6.3.1 p13) ではヒト臨床使用濃度 (0.0015%) の約 33 倍濃度である 0.05% を 1 日 2 回片眼点眼し、循環器系に影響がみられなかった時の C_{max} が雄で 5.06 ng/mL、雌で 8.67 ng/mL、AUC は雄で 1.74 ng $\cdot$ hr/mL、雌で 2.81 ng $\cdot$ hr/mL であった。

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た電気生理学的検討では、hERG 遺伝子導入 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。

ヒトにおける臨床使用濃度である 0.0015% 点眼液を両眼に 1 回 1 滴 (30 μL /眼)、1 日 1 回点眼した時の体重あたりの投与量 (ヒトの体重を 60 kg とした場合) は 0.015 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ となる。この投与量を基準とすると、QT の短縮傾向及び心拍数の増加とともに QTc の延長がみられた用量は、プロポフォール麻酔イヌの静脈内投与では約 67 倍、覚醒イヌの静脈内投与では約 667 倍であった。また、QT 及び QTc への影響がみられなかった用量はプロポフォール麻酔イヌの静脈内投与では約 6.7 倍、イソフルラン麻酔イヌの静脈内投与では約 667 倍、覚醒イヌの静脈内投与では約 67 倍、覚醒サルの点眼では約 200~333 倍であった。

表 2.6.2.4-1 タフルプロストの循環器系に及ぼす影響まとめ

種、系統			ビーグル犬			カニクイザル
投与方法			i.v.、単回	i.v.、単回	i.v.、4週間	点眼、4週間
例数・性			♂2、♀2	♂4	♂3、♀3 ¹⁾	♂3、♀3
投与条件			0.003、0.01、0.1、1 µg/kg (累積投与)	0.01、0.1、1、10 µg/kg (累積投与)	0.1、1、10 µg/kg/日	0.0005%、0.005%、 0.05% (30µL/回、2回/日)
測定条件			プロポフォール麻酔	イソフルラン麻酔	覚醒 (投与第2、4週の投与 後5分、30分、2時間)	覚醒 (点眼第1～4週の 点眼後15分)
循環器系に及ぼす影響及びPKパラメータ値 ²⁾						
投与量	0.003 µg/kg	0.2倍 ⁴⁾	影響なし			
	0.01 µg/kg	0.67倍	影響なし	影響なし		
	0.03 - 0.05 µg/kg ³⁾	2～ 3.3倍				影響なし C _{max} (ng/mL) ♂ : ND、♀ : ND
	0.1 µg/kg	6.7倍	QT、QTcに影響なし、 血圧↑、心拍数↑、 心収縮力↑	影響なし	影響なし C _{max} (ng/mL) ♂ : 0.22、♀ : 0.23	
	0.3 - 0.5 µg/kg ³⁾	20～ 33倍				影響なし C _{max} (ng/mL) ♂ : 0.48、♀ : 0.73
	1 µg/kg	67倍	QTc↑、血圧↑、 心拍数↑、RR↓、 心収縮力↑、T波高↓	QT、QTcに影響なし、 血圧↑、T波高↓	影響なし C _{max} (ng/mL) ♂ : 2.06、♀ : 2.10 AUC _(0-∞) (ng・hr/mL) ♂ : 0.36、♀ : 0.35	
	3 - 5 µg/kg ³⁾	200～ 333倍				影響なし C _{max} (ng/mL) ♂ : 5.06、♀ : 8.67 AUC _(0-2hr) (ng・hr/mL) ♂ : 1.74、♀ : 2.81
	10 µg/kg	667倍		QT、QTcに影響なし、 血圧↑、T波高↓	QTc↑、血圧↑、 心拍数↑ (投与2時間後に回復) C _{max} (ng/mL) ♂ : 22.38、♀ : 23.00 AUC _(0-∞) (ng・hr/mL) ♂ : 4.03、♀ : 5.60	

↑ : 上昇、増加もしくは延長、↓ : 減少もしくは低下

- 1) 10 µg/kg/日投与群は回復性検討用の2例を含む雌雄各5例について実施した。
- 2) 投与第1日における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について示した。
ND : 定量下限値 (0.1 ng/mL) 未満
- 3) サルの体重を3～5 kgとした時の1回点眼における体重あたりの投与量
- 4) 体重あたりのヒト臨床投与量に対する倍率。ヒトに臨床使用濃度である0.0015%点眼液を両眼に1回1滴(30 µL/眼)、1日1回点眼した時の体重あたりの投与量(体重を60 kgとした場合)は0.015 µg/kg。

2.6.2.4.4 その他（摘出子宮に及ぼす影響）

(1) ラット摘出子宮に及ぼす影響…………… 添付資料 4.2.1.3-007

1 群 5 標本の非妊娠ラット摘出子宮を用い、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（基剤をジメチルスルホキシドとした）並びに $\text{PGF}_{2\alpha}$ の非妊娠ラット摘出子宮の自動運動への影響について検討した。タフルプロストカルボン酸体は 1 ng/mL 以上の用量で摘出子宮の最大張力増加と収縮頻度増加を示し、0.1 ng/mL 以上の用量で静止期張力を増加させた。一方、 $\text{PGF}_{2\alpha}$ は 10 ng/mL 以上の用量で摘出子宮の最大張力を増加させ、1 ng/mL 以上の用量で静止期張力増加と収縮頻度増加を示した。従って、タフルプロストカルボン酸体の非妊娠ラット摘出子宮への作用は用量比にして $\text{PGF}_{2\alpha}$ の 10 倍程度と考えられた。

(2) ウサギ摘出子宮に及ぼす影響…………… 添付資料 4.2.1.3-008

1 群 5 標本の非妊娠ウサギ摘出子宮を用い、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（基剤をジメチルスルホキシドとした）並びに $\text{PGF}_{2\alpha}$ の非妊娠ウサギ摘出子宮の自動運動への影響について検討した。タフルプロストカルボン酸体及び $\text{PGF}_{2\alpha}$ とも 1 ng/mL 以上の用量で摘出子宮の最大張力を増加させたのに対し、静止期張力への影響については、タフルプロストカルボン酸体が 100 ng/mL の用量まで明らかな影響を及ぼさず、 $\text{PGF}_{2\alpha}$ は 100 ng/mL の用量で静止期張力を増加させた。従って、タフルプロストカルボン酸体の非妊娠ウサギ摘出子宮への作用は $\text{PGF}_{2\alpha}$ と同程度又は弱いものと考えられた。

2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用試験

該当する試験はない。

2.6.2.6 考察及び結論

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。

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 受容体に対して選択的で高い親和性（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。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示唆された。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。これらの結果から、タフルプロストは点眼後、眼内で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。

安全性薬理試験では心臓に対する作用及び子宮に対する作用がみられたが、これら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だった。

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っ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と位置づけることができる。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。

2.6.2.7 図表

本文中に記載。

2.6.2.8 参考文献

- 1) Nakajima T, Matsugi T, Goto W, Kageyama M, Mori N, Matsumura Y, et al. New fluoroprostaglandin F_{2α} 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) Takagi Y, Nakajima T, Shimazaki A, Kageyama M, Matsugi T, Matsumura Y, et al. Pharmacological characteristics of AFP-168 (tafluprost), a new prostanoid FP receptor agonist, as an ocular hypotensive drug. Exp Eye Res 2004; 78: 767-76
- 3) Lee PY, Podos SM, Howard-Williams JR, Severin CH, Rose AD, Siegel MJ. Pharmacological testing in the laser-induced monkey glaucoma model. Curr Eye Res 1985; 4: 775-81
- 4) Gabelt BT, Robinson JC, Hubbard WC, Peterson CM, Debink N, Wadhwa A, et al.

Apraclonidine and brimonidine effects on anterior ocular and cardiovascular physiology in normal and sympathectomized monkeys. *Exp Eye Res* 1994; 59: 633-44

- 5) Gabelt BT, Kaufman PL. Uveoscleral outflow decreases in old rhesus monkeys. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2000; 41 (ARVO Abstracts): S253 (Abstract number 1328-B703)
- 6) Bárány EH. Simultaneous measurement of changing intraocular pressure and outflow facility in the vervet monkey by constant pressure infusion. *Invest Ophthalmol* 1964; 3: 135-43

タプロス点眼液 0.0015%

モジュール 2.6.3 非臨床概要 薬理試験の概要表

参天製薬株式会社

目次

2.6.3 薬理試験概要表.....	3
2.6.3.1 薬理試験：一覧表.....	3
2.6.3.2 効力を裏付ける試験.....	5
2.6.3.3 副次的薬理試験.....	8
2.6.3.4 安全性薬理試験.....	9
2.6.3.5 薬力学的薬物相互作用.....	11

2.6.3 薬理試験概要表

2.6.3.1 薬理試験：一覧表

試験の種類	試験系	投与方法	実施施設	試験番号	記載箇所
(1) 効力を裏付ける試験					
プロスタノイド FP 受容体に対する親和性の検討	ヒト胎児腎細胞	<i>in vitro</i>	アメリカ [redacted]	[redacted] AAA*	Vol.2, 4.2.1.1-001
各種受容体に対する選択性の検討		<i>in vitro</i>	日本 参天製薬株式会社 [redacted] フランス [redacted]	[redacted]	Vol.2, 4.2.1.1-002
正常眼圧サルに対する単回点眼による眼圧下降作用の検討	カニクイザル(無麻酔)	点眼	日本 参天製薬株式会社	049GS031	Vol.2, 4.2.1.1-003
レーザー高眼圧サルに対する単回点眼による眼圧下降作用の検討	カニクイザル(無麻酔)	点眼	日本 参天製薬株式会社	204GU141	Vol.2, 4.2.1.1-004
正常眼圧サルに対する反復点眼による眼圧下降作用の検討	カニクイザル(無麻酔)	点眼	日本 [redacted]	[redacted] BBB*	Vol.2, 4.2.1.1-005
房水動態試験	カニクイザル	点眼	アメリカ [redacted]	[redacted] CCC*	Vol.2, 4.2.1.1-006
正常眼圧サルに対するタフルプロストとチモロールの併用点眼による眼圧下降作用の検討	カニクイザル(無麻酔)	点眼	日本 参天製薬株式会社	299GZ020	Vol.2, 4.2.1.1-007
正常眼圧サルに対するタフルプロスト代謝物の眼圧下降作用の検討	カニクイザル(無麻酔)	前房内	日本 [redacted]	[redacted] DDD*	Vol.2, 4.2.1.1-008

*承認情報提供時に置き換え

2.6.3.1 薬理試験：一覧表（続き）

試験の種類	試験系	投与方法	実施施設	試験番号	記載箇所
(2) 副次的薬理試験					
ウサギ視神経乳頭部組織血流量増加作用	ウサギ	点眼	日本 参天製薬株式会社	299GZ010	Vol.2, 4.2.1.2-001
(3) 薬力学的薬物相互作用試験					
該当する試験はない。					
(4) 安全性薬理試験					
一般症状・行動に及ぼす影響	マウス	静脈内	イギリス ██████████	██████EEE*	Vol.2, 4.2.1.3-001
中枢神経系に及ぼす影響	マウス	静脈内	イギリス ██████████	██████FFF*	Vol.2, 4.2.1.3-002
呼吸・循環器系に及ぼす影響	プロポフォール麻酔 ビーグル犬	静脈内	イギリス ██████████	██████GGG*	Vol.2, 4.2.1.3-003
	イソフルラン麻酔 ビーグル犬	静脈内	日本 ██████████	██████HHH*	Vol.2, 4.2.1.3-004
	hERG チャネルを発現させた HEK293 細胞	<i>in vitro</i>	イギリス-██████████ ¹⁾	██████III*	Vol.2, 4.2.1.3-005
	イヌプルキンエ線維	<i>in vitro</i>	イギリス ██████████ ¹⁾	██████JJJ*	Vol.2, 4.2.1.3-006
その他	非妊娠ラット	<i>in vitro</i>	日本 ██████████	██████KKK*	Vol.2, 4.2.1.3-007
	非妊娠ウサギ	<i>in vitro</i>	日本 ██████████	██████LLL*	Vol.2, 4.2.1.3-008

1) 現在、Aptuit Inc.

*承認情報提供時に置き換え

2.6.3.2 効力を裏付ける試験

(1) *In vitro* 試験一覧

試験項目	受容体	試験成績			試験番号	資料番号
プロスタノイドFP受容体に対する親和性の検討	プロスタノイドFP	Ki (nM)			■■■■AAA*	4.2.1.1-001
		タフルプロストカルボン酸	ラタノプロストカルボン酸	ウノプロストン		
		0.4	4.7	680		
各種受容体に対する選択性の検討	プロスタノイドEP ₂ プロスタノイドEP ₃ プロスタノイドIP プロスタノイドTP	タフルプロスト脱エステル体のIC ₅₀ (nM)			■■■■■■■■	4.2.1.1-002
		>30000 67 >1000 >1000				

*承認情報提供時に置き換え

2.6.3.2 効力を裏付ける試験（続き）

試験項目	受容体	試験成績	試験番号	資料番号
各種受容体に対する選択性の検討		タフルプロストカルボン酸体の IC ₅₀ (nM)	298GW04A	4.2.1.1-002
	アデノシン A ₁	>1000		
	アデノシン A _{2a}	>1000		
	アドレナリン α_1 （非選択的）	>1000		
	アドレナリン α_2 （非選択的）	>1000		
	アドレナリン β_1	>1000		
	アンジオテンシン AT ₁	>1000		
	ベンゾジアゼピン	>1000		
	ブラジキニン B ₂	>1000		
	カンナビノイド CB ₁	>1000		
	カンナビノイド CB ₂	>1000		
	コレシストキニン CCK _A	>1000		
	ドーパミン D ₁	>1000		
	ドーパミン D ₂	>1000		
	ドーパミン トランスポーター	>1000		
	エンドセリン ET _A	>1000		
	GABA _A	>1000		
	グルタミン酸（非選択的）	>1000		
	ヒスタミン H ₁	>1000		
	メラノコルチン MC ₄	>1000		
	ムスカリン（非選択的）	>1000		
	ニューロキニン NK ₁	>1000		
	ニューロペプチド Y ₁	>1000		
	ニューロペプチド Y ₂	>1000		
	ノルエピネフリン トランスポーター	>1000		
	ニコチン N _i	>1000		
	オピオイド（非選択的）	>1000		
	オピオイド ORL ₁	>1000		
	セロトニン 5HT ₁ （非選択的）	>1000		
	セロトニン トランスポーター	>1000		
	シグマ（非選択的）	>1000		
	バソプレシン V _{1b}	>1000		
	バソプレシン V ₂	>1000		

2.6.3.2 効力を裏付ける試験（続き）

(2) *In vivo* 試験一覧

試験項目	動物	投与経路	投与量	試験結果		試験番号	資料番号
				タフルプロスト	ラタノプロスト		
正常眼圧サルに対する 単回点眼による眼圧下降 作用の検討	カニクイザル (無麻酔)	点眼	タフルプロスト: 0.00002%、 0.0001%、0.0005%、0.0025% ラタノプロスト: 0.0002%、 0.001%、0.005% 20 μ L 単回	0.0005%以上で有意な眼圧 下降作用あり。	0.005%で有意な眼圧下 降作用あり。	049GS031	4.2.1.1-003
レーザー高眼圧サルに対 する単回点眼による眼圧 下降作用の検討	カニクイザル (無麻酔)	点眼	タフルプロスト: 0.00002%、 0.0005%、0.0025%、0.005% ラタノプロスト: 0.005% 20 μ L 単回	0.0025%以上で有意な眼圧 下降作用あり。	0.005%で眼圧下降作用 の傾向を示すが、有意差 なし。	204GU141	4.2.1.1-004
正常眼圧サルに対する 反復点眼による眼圧下降 作用の検討	カニクイザル (無麻酔)	点眼	タフルプロスト: 0.001%、 0.0025%、0.005% ラタノプロスト: 0.005% 1 日 1 回 20 μ L 5 日間	0.001%以上で有意な眼圧 下降作用あり。点眼 3、5 日目に眼圧下降作用が増 強された。0.001%で5日目 以降、0.0025%以上で3日 目以降トラフ眼圧値の有 意な下降作用あり。	0.005%で有意な眼圧下 降作用を示す。 眼圧下降作用の増強お よびトラフ眼圧値の下 降作用なし。	■■■■ BBB*	4.2.1.1-005
房水動態試験	カニクイザル	点眼	0.005% タフルプロスト 1 日 1 回 20 μ L。房水産生量測定 時 3 日間、ぶどう膜強膜経路 の房水流出量及び総房水流 出測定時 4 または 5 日間	ぶどう膜強膜経路の房水 流出量及び総房水流を 有意に増加。	N.D.	■■■■ CCC*	4.2.1.1-006
正常眼圧サルに対するタ フルプロストとチモロー ルの単回併用点眼による 眼圧下降作用の検討	カニクイザル (無麻酔)	点眼	タフルプロスト: 0.0015% チモロール: 0.5% およびその併用 単回 20 μ L	タフルプロスト単剤で 3.5 ± 0.3 mmHg 眼圧を下降。チ モロール単剤で 2.4 ± 0.3 mmHg 眼圧を下降。両薬剤併 用で 5.1 ± 0.5 mmHg 眼圧を下降。		299GZ020	4.2.1.1-007
正常眼圧サルに対する タフルプロスト代謝物の 眼圧下降作用の検討	カニクイザル (無麻酔)	前房内	タフルプロストカルボン酸 体 (AFP-172)、dinorAFP-172、 tetranorAFP-172 及び tetranorAFP-172 lactone 559 nM 10 μ L 単回	タフルプロストカルボン 酸体のみ眼圧下降作用を 有する。	N.D.	■■■■ DDD*	4.2.1.1-008

*承認情報提供時に置き換え

N.D.: not done

2.6.3.3 副次的薬理試験

試験項目	動物	投与経路	投与量	試験結果		試験番号	資料番号
				タフルプロスト	ラタノプロスト		
ウサギ視神経乳頭部組織 血流量増加作用	ウサギ	点眼	タフルプロスト: 0.0015% ラタノプロスト: 0.005% 1日1回 50 μ L 28日間	投与後 14 日トラフ値で 108.7 $\pm$ 4.4%、28 日トラフ値で 111.9 $\pm$ 3.9%に、有意に血流量が増加した。	投与後 14 日トラフ値で 105.8 $\pm$ 1.7%、28 日トラフ値で 107.2 $\pm$ 4.3%に、有意に血流量が増加した。	299GZ010	4.2.1.2-001

2.6.3.4 安全性薬理試験

評価対象となる組織		動物種/系統	投与方法	投与量 ($\mu\text{g/kg}$)	性別及び 例数/群	特記すべき所見	GLP 適用	試験番号
一般 症状	一般症状及び行動 (Irwin 法)	CrI:CD-1(ICR)BR マウス、7 週齢	静脈内	10、30、100	M: 6	100 $\mu\text{g/kg}$ の 1 例で反応性亢進、運動機能低下を示唆 する所見がみられた。	適	■■■■ EEE*
中枢 神経系	自発運動量	CrI:CD-1(ICR)BR マウス、7 週齢	静脈内	10、30、100	M: 10	変化なし	適	■■■■ FFF*
呼吸・ 循環器系	呼吸数、血圧、心拍数、 心収縮力、心電図	プロポフォール 麻酔ビーグル犬 6～13 カ月齢	静脈内	0.003、0.01、0.1、1 (累積投与)	M: 2 F: 2	0.1 $\mu\text{g/kg}$: 呼吸数 $\uparrow$ 、血圧 $\uparrow$ 、心拍数 $\uparrow$ 、心収縮力 $\uparrow$ 1 $\mu\text{g/kg}$: 呼吸数 $\uparrow$ 、血圧 $\uparrow$ 、心拍数 $\uparrow$ 、心収縮力 $\uparrow$ 、 T 波高 $\downarrow$ 、QTc $\uparrow$ 、RR $\downarrow$	適	■■■■ GGG*
		イソフルラン 麻酔ビーグル犬 7～13 カ月齢	静脈内	タフルプロスト: 0.01、0.1、1、10 ラタノプロスト: 0.1、1、10、100 PGF _{2α} : 0.1、1、10、100 (すべて累積投与)	M: 4	タフルプロスト: 0.1 $\mu\text{g/kg}$: 呼吸数 $\uparrow$ 1 $\mu\text{g/kg}$ 以上: 呼吸数 $\uparrow$ 、血圧 $\uparrow$ 、T 波高 $\downarrow$ ラタノプロスト: 1 $\mu\text{g/kg}$: 呼吸数 $\uparrow$ 、T 波高 $\downarrow$ 10 $\mu\text{g/kg}$ 以上: 呼吸数 $\uparrow$ 、血圧 $\uparrow$ 、T 波高 $\downarrow$ PGF _{2α} : 10 $\mu\text{g/kg}$ 以上: 呼吸数 $\uparrow$ 、血圧 $\uparrow$ 、T 波高 $\downarrow$	準拠 ¹⁾	■■■■ HHH*
	遅延整流カリウムイオン電 流の速い成分 (I _{Kr}) への影響	hERG チャネル発 現 HEK293 細胞	<i>in vitro</i>	タフルプロストカルボン酸体 : 100 ng/mL	4 細胞	影響なし	適	■■■■ III*
	活動電位持続時間への影響	イヌプルキンエ 線維	<i>in vitro</i>	タフルプロストカルボン酸体 : 1、10、100 ng/mL	4 標本	影響なし	適	■■■■ JJJ*

1) 比較対照 (ラタノプロスト、PGF_{2 α}) には市販品を使用し、これを希釈して調製した投与液の分析は実施しなかった。試験は GLP に準じて実施した。

*承認情報提供時に置き換え

2.6.3.4 安全性薬理試験(続き)

評価対象となる組織		動物種/系統	投与方法	投与量 ($\mu\text{g/kg}$)	性別及び 例数/群	特記すべき所見	GLP 適用	試験番号
平滑筋	摘出子宮への影響	非妊娠ラット Crj:CD(SD)IGS	<i>in vitro</i> (マグヌス槽内 への添加)	タフルプロストカルボン酸体: 0.001~100 ng/mL PGF _{2α} : 0.1~100 ng/mL	5 標本	タフルプロストカルボン酸体: 0.1 ng/mL 以上で静止期張力の増加 1 ng/mL 以上で最大張力の増加と収縮頻度の増加 PGF _{2α} : 1 ng/mL 以上で静止期張力の増加と収縮頻度の増加 10 ng/mL 以上で最大張力の増加	適	■■■■*
		非妊娠ウサギ Kbs:NZW	<i>in vitro</i> (マグヌス槽内 への添加)	タフルプロストカルボン酸体: 0.01~100 ng/mL PGF _{2α} : 0.1~100 ng/mL	5 標本	タフルプロストカルボン酸体: 1 ng/mL 以上で最大張力の増加 100 ng/mL まで静止期張力に影響なし PGF _{2α} : 1 ng/mL 以上で最大張力の増加 100 ng/mL で静止期張力の増加	適	■■■■*

*承認情報提供時に置き換え

2.6.3.5 薬力学的薬物相互作用

該当する試験はない。