

ノルspan®テープ 5, 10, 20 mg
(ブプレノルフィン)

第2部 CTD の概要

2.6 非臨床試験の概要文および概要表

2.6.6 毒性試験の概要文

ムンディファーマ株式会社

略号一覧

略号	略していない名称（英語）	略していない名称（日本語）
ALT	alanine aminotransferase	アラニンアミノトランスフェラーゼ
AST	aspartate aminotransferase	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
AUC	area under the concentration-time curve	濃度-時間曲線下面積
BTDS	buprenorphine transdermal system	ブプレノルフィン経皮吸収製剤
BUP	buprenorphine	ブプレノルフィン
C _{max}	maximum plasma concentration	最高血漿中濃度
ECG	electrocardiogram	心電図
FDA	US Food and Drug Administration	アメリカ食品医薬品局
GLP	good laboratory practices	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施基準
GGT	γ -glutamyltranspeptidase	γ -グルタミルトランスペプチダーゼ
LD ₅₀	50% lethal dose	50%致死量
PK	Pharmacokinetics	薬物動態
TDS	transdermal system	経皮吸収剤
TK	toxicokinetics	トキシコキネティクス
t _{max}	time to reach maximum concentration	最高血漿中濃度到達時間

目次

2.6.6	毒性試験の概要文	4
2.6.6.1	まとめ	4
2.6.6.2	単回投与毒性試験	6
2.6.6.3	反復投与毒性試験	7
2.6.6.4	遺伝毒性試験	24
2.6.6.5	がん原性試験	25
2.6.6.6	生殖発生毒性試験	33
2.6.6.7	局所刺激性試験	45
2.6.6.8	その他の毒性試験	46
2.6.6.9	考察および結論	55
2.6.6.10	図表	60
	参考文献	60

2.6.6 毒性試験の概要文

2.6.6.1 まとめ

ブプレノルフィン¹は、ヒトにおいて安全に使用されてきた長い歴史を有している。しかし、ブプレノルフィンを経皮吸収製剤（BTDS）で投与することに関連し、臨床における安全性に関する知見を得るため、ブプレノルフィンの経皮投与による毒性試験を実施した。

今回の承認申請に際して実施したすべての非臨床安全性試験は、重要でない試験を含め、ICH M3（R1）ガイドラインに準拠しており、また米国FDAが査察し、AAALAC（Association for Assessment and Accreditation of Laboratory Animal Care International）が認定する施設で実施した。特定のICHガイドラインが定められている非臨床試験では、ガイドラインに適合した試験計画をたてた。適合させたICHガイドラインは、S1A, S1B, S1C（R）, S2A, S2B, S3A, S3B, S4, S5AおよびS5Bである。急性毒性試験、局所刺激性試験およびその他の毒性試験は、用量設定を目的とするため、または安全性に関して考慮すべき特別の知見を得るため実施した。これらの試験に関するICHガイドラインは定められていない。重要な安全性試験についてはすべて、また重要でない安全性試験についても大部分はGLPを遵守した。実施した大部分の試験では、トキシコキネティクス（TK）も併せて評価した。

ブプレノルフィンの経皮投与に際しては、BTDSの貼付の他に、ブプレノルフィン遊離塩基のアセトン溶液を皮膚に塗布した。ブプレノルフィン遊離塩基は水に対する溶解度が低い²ため、*in vitro*試験および全身投与試験では、適切な用量が得られるように塩酸ブプレノルフィンを被験物質として用いた。塩酸ブプレノルフィンを全身投与した試験においてTKを評価したところ、高いブプレノルフィンの全身曝露が得られ、塩酸ブプレノルフィンの使用は妥当であると考えられた。BTDSを用いた試験では、臨床試験で用いられ、また、市販用として予定されているものと同一の経皮吸収製剤を用いた。これら試験では、BTDSと構成成分は同じで、原薬だけを含まない経皮吸収製剤（TDS）を対照物質（プラセボ）として用いた。BTDSおよびプラセボTDSを用いた大部分の試験では無処置対照群も設けた。げっ歯類を用いた慢性毒性試験およびがん原性試験では、BTDSおよびプラセボTDSの使用は技術的に困難であるため、ブプレノルフィン遊離塩基を最高濃度になるようアセトンに溶解し、皮膚塗布した。これらの試験で実施したTKの成績から、ブプレノルフィンに対する全身曝露は、ヒトに最高用量であるBTDS 20 mgを投与した試験の曝露量（ C_{max} の平均値=0.471 ng/mL、および1日あたりの平均AUC = 7.756 ng·h/mL；海外健康成人を対象とした試験（5.3.1.1.1, 5.3.1.1.2: BP97-0501 試験））と比較して極めて高くなることが示された。今回の承認申請に際して実施した毒性試験の概要を表 2.6.6.1.1 に示す。

BTDSの添加剤および不純物単体の毒性試験は実施しなかった。しかし、BTDS製剤を用いたラット、ウサギ、イヌおよびミニブタにおける単回および反復投与毒性試験、ならびにラットおよびウサギにおける生殖発生毒性試験では、BTDSの最高臨床用量よりも高い用量のBTDSおよびプラセボTDSを経皮投与した。これらの試験において予期しなかった所見がみられなかったことから、BTDSに含まれるいずれの添加剤や不純物の安全性に問題はないと考えられた。

高曝露量のブプレノルフィンによって引き起こされた多くの毒性所見は、過剰な主および副次的薬理作用に起因するものと考えられ、また可逆的であった。いずれの動物種においても、ブプレノルフィンによる直接的な毒性変化は、BTDSの最高用量をヒト投与した時の血漿中濃度よりはるかに高い濃度でも認められなかった。

また、公表されているデータからブプレノルフィンは、モルヒネに対する依存性を形成させたアカゲザルにおいて、モルヒネの退薬症候を拮抗しなかった。さらに、正常サルにブプレノルフィンを反復投与しても身体依存性は生じなかった。静脈内自己投与試験では弱い強化効果が認められた。これらのことから、モルヒネのようなμ受容体の完全作動薬と比較すると、ブプレノルフィンの身体依存性は弱く精神依存性形成の潜在的可能性は低いと考えられた。

今回実施した毒性試験の結果から、予定されている臨床適応症にBTDSを使用しても、その安全性に問題はないと考えられた。

表 2.6.6.1.1 毒性試験の概要

試験の種類	投与方法	用量	GLP
単回投与毒性試験			
ラット (SD)	BTDS	20~40 mg/kg	非適用
ウサギ (ニュージールランドホワイト: NZW)	BTDS	5~30 mg/kg	非適用
イヌ (ビーグル犬)	BTDS	3~12 mg/kg	非適用
ミニブタ (Hanford)	BTDS	60~120 mg/ミニブタ	非適用
ブタ (Yorkshire)	BTDS	60~120 mg/ブタ	非適用
反復投与毒性試験			
マウス (CD-1)における 28 日間	皮膚塗布	0, 80, 240, 800 mg/kg	適用
マウス (FVB/N)における 28 日間	皮膚塗布	0, 18.75, 37.5, 150, 600 mg/kg	適用
マウス (CD-1)における 3 ヶ月間	皮膚塗布	0, 80, 240, 800 mg/kg	適用
ラット (SD)における 14 日間	皮膚塗布	0, 1, 10, 50, 100 mg/ラット	非適用
ラット (SD)における 3 ヶ月間	BTDS	0, 5, 10, 20 mg/ラット	適用
ラット (SD)における 6 ヶ月間投与+1 ヶ月間回復性	皮膚塗布	0, 0.5, 1.5, 5.0 mg/ラット	適用
ウサギ (NZW)における 7 日間	BTDS	0, 20, 60, 200 mg/kg	適用
ウサギ (NZW)における 28 日間	BTDS	0, 5, 30, 60 mg/ウサギ	適用
ウサギ (NZW)における 6 ヶ月間	BTDS	0, 5, 30, 60 mg/ウサギ	適用
イヌ (ビーグル犬)における 28 日間	BTDS	0, 5, 30, 60 mg/ウサギ	適用
イヌ (ビーグル犬)における 3 ヶ月間	BTDS	0, 30, 60, 120 mg/イヌ	適用
イヌ (ビーグル犬)における 6 ヶ月間	BTDS	0, 10, 35, 120 mg/イヌ	適用
ミニブタ (Hanford)における 14 日間	BTDS	0, 10, 35, 120 mg/イヌ	適用
ミニブタ (Hanford)における 28 日間	BTDS	0, 10, 25, 50, 100 mg/ミニブタ	非適用
ミニブタ (Hanford)における 3 ヶ月間	BTDS	8 mg/kg	適用
ミニブタ (Hanford)における 6 ヶ月間	BTDS	0, 0.8, 4, 8 mg/kg	適用
ミニブタ (Hanford)における 6 ヶ月間	BTDS	0, 0.8, 4, 8 mg/kg	適用
遺伝毒性試験			
細菌を用いる復帰突然変異	<i>In vitro</i> ^a	最高濃度: 3300 µg/プレート	適用
マウスリンフォーマ	<i>In vitro</i> ^a	最高濃度: 35 µg/mL	適用
ヒトリンパ球	<i>In vitro</i> ^a	最高濃度: 140 µg/mL	適用
マウス (CD-1)における小核	経口投与 ^a	200, 400, 800 mg/kg	適用
がん原性試験			
マウス (Tg.AC)における 26 週間	皮膚塗布	0, 18.75, 37.5, 150, 600 mg/kg	適用
ラット (SD)における 2 年間	皮膚塗布	0, 20, 60, 200 mg/kg	適用

^a 塩酸ブプレノルフィンを用いた。

表 2.6.6.1.1 毒性試験の概要 (続き)

試験の種類	投与方法	用量	GLP
生殖発生毒性試験			
ラット (SD)における受胎能/初期胚発生	BTDS 皮下 ^a	0, 5, 10, 20 mg/ラット 0, 1, 5, 10 mg/kg	非適用
ラット (SD)における受胎能/初期胚発生	BTDS	0, 1.25, 5, 20 mg/ラット	適用
ラット (SD)における出生前/出生後の発生	BTDS 皮下 ^a	0, 1.25, 2.5, 5.0, 10.0 mg/ラット 0, 1, 5 mg/kg	適用
ラット (SD)における出生前/出生後の発生	BTDS 皮下 ^a	0, 1.25 mg/ラット 0, 0.05, 0.5, 5 mg/kg	適用
ラット (SD)における胚・胎児発生	BTDS 皮下 ^a	0, 1.25, 5, 20 mg/ラット 0, 5 mg/kg	適用
ウサギ (NZW)における胚・胎児発生	BTDS 皮下 ^a	0, 20, 40, 80 mg/ウサギ 0, 1, 5, 10 mg/kg	非適用
ウサギ (NZW)における胚・胎児発生	BTDS 皮下 ^a	0, 80 mg/ウサギ 0, 0.1, 1, 5 mg/kg	適用
局所刺激性試験			
ウサギ (NZW)	BTDS	0, 5, 10, 20 mg/ウサギ	適用
モルモット (Hartley)における皮膚感作	BTDS	3.2 mg/モルモット	適用
その他の毒性試験			
マウス (CD-1)における 31 週間	皮膚塗布 経口	0, 80, 240, 800 mg/kg	適用
イヌ (ビーグル犬)における単回投与安全性	(パッチ剤をカプセルに充てん) パッチ剤を口腔内に適用	0, 5, 20 mg/イヌ	適用
イヌ (ビーグル犬)における単回投与安全性		0, 5, 20 mg/イヌ	適用

^a 塩酸ブプレノルフィンを用いた。**2.6.6.2 単回投与毒性試験 (DSE-107, 4.2.3.1.1; DSE-179, 4.2.3.1.3; DSE-185, 4.2.3.1.2)**

公表されているデータから、ブプレノルフィンの急性毒性の程度は投与経路に依存することが示されている¹⁾。ブプレノルフィン投与に起因する急性毒性変化は、他のオピオイドに類似しており、痙攣、歩行失調を含む自発運動の変化ならびに死因となる心肺の抑制がみられている。70 kg のヒトに貼付投与したBTDS 20 mg (0.29 mg/kg) からブプレノルフィンが完全かつ即時に放出される最悪の事態を想定しても、マウス、ラットおよびイヌに静脈内投与したときのLD₅₀ 値は、その場合のヒトの用量のそれぞれ約 80~250, 100~200 および 270 倍に相当する。公表されている急性毒性試験データを表 2.6.6.2.1 に要約する。

表 2.6.6.2.1 急性毒性試験¹⁾ データの要約

動物種	投与経路	LD ₅₀ (mg/kg)	ヒトの用量に対する倍率 (mg/kg) ^a
マウス	経口	260~800	897~2759
マウス	静脈内	24~72	83~248
マウス	筋肉内	>600	>2069
マウス	腹腔内	90	310
マウス	皮下	>1000	>3448
ラット	経口	>1000	>3448
ラット	静脈内	31~62	107~214
ラット	筋肉内	>600	>2069
ラット	腹腔内	197	679
ラット	皮下	>1000	>3448
イヌ	静脈内	79	272

^a 70 kg のヒトに貼付投与したBTDS 20 mg (0.29 mg/kg) からブプレノルフィンが完全に放出されるとの仮定に基づく

今回の承認申請に際して実施した単回および用量設定試験では、ブプレノルフィンとしての最高用量が 10 mg/ラット (約 40 mg/kg), 60 mg/ウサギ (約 30 mg/kg) および 120 mg/イヌ (約 12 mg/kg) となるようにBTDSを投与した (DSE-107, 4.2.3.1.1)。また、ブタでの最高用量は 120 mg/ブタ (DSE-179, 4.2.3.1.3, 約 5 mg/kg), ミニブタでは 120 mg/ミニブタ (DSE-185, 4.2.3.1.2, 約 16.8 mg/kg) とした。これらの試験は少数の動物を用いた予備試験であったが、いずれの試験でも死亡または意義のある毒性はみられなかった。大部分の動物種で様々な程度の皮膚刺激性がパッチの貼付部位にみられた。70 kgのヒトに貼付したBTDS 20 mg (0.29 mg/kg) からブプレノルフィンが完全かつ即時に放出される最悪の事態を想定し、そのときの用量と動物試験での用量とを比較すると、BTDSの急性毒性の最小の安全域は、138 (ラット), 103 (ウサギ), 41 (イヌ) および 58 (ミニブタ) および 17 (ブタ) であった。

2.6.6.3 反復投与毒性試験

2.6.6.3.1 ブプレノルフィン遊離塩基の CD-1 マウスにおける 28 日間用量設定経皮投与試験 (NDSE-586-GLP, 4.2.3.2.1)

マウスにおける 4 週間皮膚塗布試験を雌雄各群 10 例のCrI:CD-1 (ICR) BRマウスを用いて実施した。ブプレノルフィンのアセトン溶液製剤 (100 mg/mL) を 0 (溶媒対照), 80, 240 または 800 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回皮膚塗布した。なお、最高用量は、ブプレノルフィン遊離塩基のアセトンへの溶解度および投与部位の皮膚から投与液が滴り落ちない最高容量に基づいて設定した。所定の毒性パラメータを評価するとともに、TKの分析のために血漿試料を定期的に採取した。投与部位については、刺激性を評価した。

800 mg/kg/日投与群の雄 1 例が投与 9 日目に死亡した。しかし、一般状態所見または病理学的な評価で死因は特定できなかった。一般状態、体重、摂餌量、血液化学的検査または剖検では、投薬に起因する変化はみられなかった。皮膚の投与部位では落屑が用量依存的に増加したが、組織学的検査で関連する変化はみられなかったことから、この変化は皮膚上に残留する薬物を反映しているものと考えられた。

低濃度のブプレノルフィンおよびブプレノルフィン-3 β -グルクロン酸抱合体が対照群の投与開始日および投与 28 日目の試料で検出された。対照群の試料におけるこれら化合物の由来については不明である。しかし、対照群および投薬群ともに変化がみられなかったことから、この事態が試験目的の遂行に有害な影響を及ぼすものではないと考えられた。

雌雄マウスにおけるブプレノルフィンの平均C_{max}は、投与 1 日目は 31.3~373 ng/mL, 投与 28 日目は 77.0~443 ng/mLの範囲にあった。雌雄マウスにおける投与 1 日目および 28 日目のブプレノルフィンの平均AUCは、それぞれ、299~3222 ng•h/mLおよび 684~3901 ng•h/mLの範囲にあった。反復投与による蓄積係数は、試験に用いた用量範囲で 1.1~2.7 の範囲にあった。800 mg/kg/日群の雌雄マウスにおける投与 28 日目の血漿中濃度 (C_{max}:各々 443 および 319 ng/mL) は、海外健康成人を対象とした試験 (5.3.1.1.1, 5.3.1.1.2: BP97-0501 試験) で最高用量であるBTDS 20 mgを投与した後のC_{max}の平均値 (0.471 ng/mL) と比較し、667~940 倍高かった。同様に、これらの群の雌雄マウスにおける曝露量 (AUC₀₋₁₂:各々 3901 および 2586 ng•h/mL) は同試験の海外健康成人に

におけるBTDS 20 mg 投与後の1日あたりの平均AUC ($AUC_{day} = 7.756 \text{ ng}\cdot\text{h/mL}$) と比較し、333～503 倍高かった。

ノルブプレノルフィンの血漿中濃度は親化合物の1/10 未満であったが、ブプレノルフィン-3 β -グルクロン酸抱合体の血漿中濃度は親化合物より10 倍以上高かった。

ブプレノルフィン-3 β -グルクロン酸抱合体の平均 C_{max} は、投与1日目および28日目においてそれぞれ291～11283 ng/mLおよび2197～21847 ng/mLの範囲にあり、平均AUCはそれぞれ2476～46884 ng $\cdot$ h/mLおよび10889～159359 ng $\cdot$ h/mLの範囲にあった。

ブプレノルフィン-3 β -グルクロン酸抱合体の蓄積係数は、雄では1.7～4.4、雌では4.0～11.7 の範囲にあり、用量の増加とともに低値となった。

ブプレノルフィン遊離塩基をアセトン溶液として1日1回、28日間マウスに経皮投与したときの無作用量は800 mg/kg/日を超えると判断した。

2.6.6.3.2 ブプレノルフィン遊離塩基のFVB/N マウスにおける28日間経皮投与試験 (BUP-P-011, 4.2.3.2.2)

マウスがん原性試験の用量設定試験として、ブプレノルフィン遊離塩基のアセトン溶液を18.75, 37.5, 150 および600 mg/kg/日の用量で雌雄各群10例の4群のFVB/Nマウスに毎日皮膚塗布した。また、雌雄各群26例、4群のFVB/NマウスをTK用のサテライト動物として用いた。溶媒対照群の動物(主試験には雌雄各10例、TK試験には雌雄各8例)にはアセトンを毎日皮膚塗布した。本試験の最高用量は、ブプレノルフィンの溶解度および投与部位の皮膚から投与液が滴り落ちない最高容量に基づいて設定した。主試験の動物には28日間毎日投与した。所定の毒性パラメータを評価するとともに、TKの分析のために定期的に血漿試料を採取した。投与部位については刺激性を評価した。

TKおよび主試験用の動物は、それぞれ、計画屠殺および終了時屠殺まで全例生存していた。主試験用動物の一般状態には、被験物質投与に関連した変化はみられなかった。被験物質投与に関連して、150 mg/kg/日群および600 mg/kg/日群の雌雄で投与部位に落屑がみられた。落屑がみられ始めた時期は、600 mg/kg/日群(投与8日目)の方が150 mg/kg/日群(投与22日目)より早かった。落屑は被験物質の沈殿物が皮膚から剥がれ落ちたものであると推測された。体重または体重増加量に関して、持続性のあるまたは用量に依存した被験物質投与の影響は雌雄ともにみられなかった。総摂餌量の軽微な減少が18.75 mg/kg/日群、150 mg/kg/日群および600 mg/kg/日群の雄でみられたが、雌では総摂餌量に対する被験物質投与の影響はみられなかった。

主試験用動物の血液化学的検査、剖検、病理組織学的検査において、ブプレノルフィン投与に関連した影響はみられなかった。

ブプレノルフィンの曝露量(AUC_{0-24})は雌雄各々11186 および13994 ng $\cdot$ h/mLであり、海外健康成人を対象とした試験(5.3.1.1.1, 5.3.1.1.2: BP97-0501 試験)で最高用量であるBTDS 20 mgを投与

した後の1日あたりの平均AUC ($AUC_{day} = 7.756 \text{ ng}\cdot\text{h/mL}$) の1442~1804倍に相当した。ノルブプレノルフィン、ブプレノルフィン-3 β -グルクロン酸抱合体およびノルブプレノルフィン-3 β -グルクロン酸抱合体の血漿中濃度はそれぞれ350 ng/h/mL, 76 ng/h/mLおよび127 ng/h/mLであった。

本試験での最大耐量は投与可能な最高用量である600 mg/kg/日を超え、また、本試験での無毒性量は600 mg/kg/日であると判断した。

2.6.6.3.3 ブプレノルフィン遊離塩基のCD-1マウスにおける3ヵ月間経皮投与試験 (NDSE-606-GLP, 4.2.3.2.3)

皮膚塗布による3ヵ月間皮膚毒性試験を雌雄各群15例のCrI:CD-1 (ICR) BRマウスを用いて実施した。ブプレノルフィン遊離塩基のアセトン溶液 (100 mg/mL) を0 (溶媒対照), 80, 240 または800 mg/kg/日の用量で1日1回投与した。最高用量は、溶解度および投与部位の皮膚から投与液が滴り落ちずに投与できる最高容量に基づいて設定した。所定の毒性パラメータを評価するとともに、TK分析のために定期的に血漿試料を採取した。投与部位については刺激性を評価した。

死亡は見られなかった。一般状態所見として、発生率は低いが、尾のこわばりが雄の240 mg/kg/日群および800 mg/kg/日群および雌のブプレノルフィン投与の全群においてみられた。活動性の亢進が800 mg/kg/日群の雄1例, 80 mg/kg/日群の雌1例および800 mg/kg/日群の雌2例で各1回みられた。刺激に対する過敏反応が800 mg/kg/日群の雌1例で1回みられた。尿による汚れおよび毛並みの悪化が雄の投薬各群においてみられた。摂餌量の減少が240 mg/kg/日群および800 mg/kg/日群の雌で投与開始日から投与7日目にかけてみられたが、この変化は、オピオイドの薬理作用に起因すると考えられた。飲水量の一過性の減少が240 mg/kg/日群および800 mg/kg/日群の雄で投与2日~3日目にみられた。投与部位の皮膚、体重、血液学的検査、血液化学的検査、器官重量、剖検および病理組織学的検査に関して投薬に関連した変化はみられなかった。

低濃度のブプレノルフィン、ノルブプレノルフィンおよびブプレノルフィン-3 β -グルクロン酸抱合体が対照群の投与開始日および投与87日目の試料の一部で検出された。対照群の試料におけるこれら化合物の由来については不明である。しかし、明らかな所見が対照群にみられなかったことから、この事態が試験目的の遂行に有害な影響を及ぼすものではないと考えられた。

低用量群から高用量群までの雌雄マウスにおけるブプレノルフィンの平均 C_{max} は、投与開始日には49.8~401 ng/mL, 投与87日目には47.6~459 ng/mLの範囲にあった。ブプレノルフィンの平均 AUC_{0-24} は、投与開始日には633~5879 ng·h/mL, 投与87日目には876~7885 ng·h/mLの範囲にあった。ブプレノルフィンの軽微な蓄積が雌雄マウスともにみられ、蓄積係数は1.31~1.75の範囲にあった。800 mg/kg/日群の雌雄マウスにおけるブプレノルフィンの曝露量 (AUC_{0-24} : 各々7885および5691 ng·h/mL) は、海外健康成人を対象とした試験 (5.3.1.1.1, 5.3.1.1.2: BP97-0501 試験) で最高用量であるBTDS 20 mgを投与した後の1日あたりの平均AUC ($AUC_{day} = 7.756 \text{ ng}\cdot\text{h/mL}$) より734~1017倍高かった。

ノルブプレノルフィンの平均 C_{max} は、投与開始日には1.34~15.5 ng/mL, 投与87日目には1.06~13.3 ng/mLの範囲にあった。平均AUCは、投与開始日には14.7~178 ng·h/mL, 投与87日目には

18.8～163 ng・h/mLの範囲にあった。ノルブプレノルフィンの蓄積が雄マウスでのみみられ、蓄積係数は1.28～1.99の範囲にあった。800 mg/kg/日群の雌雄マウスにおけるノルブプレノルフィンの曝露量 (AUC_{0-24} : 各々127 および 163 ng・h/mL) は、海外健康成人を対象とした試験 (5.3.1.1.1, 5.3.1.1.2: BP97-0501 試験) で最高用量であるBTDS 20 mgを投与した後の1日あたりの平均AUC ($AUC_{day} = 3.859$ ng・h/mL) より、それぞれ、32.9 倍および42.2 倍高かった。

主代謝物としてブプレノルフィン-3 β -グルクロン酸抱合体が検出された。投与開始日の低用量群から高用量群までの雌雄マウスにおけるブプレノルフィン-3 β -グルクロン酸抱合体の平均 C_{max} は346～33761 ng/mLの範囲にあり、平均AUCは3896～418117 ng・h/mLの範囲にあった。投与87日目のブプレノルフィン-3 β -グルクロン酸抱合体の平均 C_{max} は1140～10750 ng/mL、平均AUCは12436～91923 ng・h/mLの範囲にあった。ブプレノルフィン-3 β -グルクロン酸抱合体には蓄積性がみられ、試験に用いた用量範囲での蓄積係数は2.01～3.19の範囲にあった。

本試験での無毒性量は800 mg/kg/日であると判断した。

2.6.6.3.4 ブプレノルフィン遊離塩基のラットにおける 14 日間用量設定経皮投与試験 (NDSE-530, 4.2.3.2.4)

雌雄各群9例のCrI:CD (SD) IGS BRラットを用いて14日間試験を実施した。ブプレノルフィン遊離塩基のアセトン溶液を1 mL/ラットの定容量で1日1回、14日間皮膚に塗布した。雄での用量は約1.6, 16.3, 80.0, 161 mg/kg/日、雌では2.8, 28.1, 140, 282 mg/kg/日であった。本試験の目的は、高齢の動物 (試験開始時に約31週齢) での毒性およびTKのデータを得ることであった。死亡の有無、一般状態および投与部位に対する影響を観察した。死亡または瀕死状態での安楽死が発生した場合、その動物は剖検した。

投薬に関連する死亡はみられなかった。16.3 mg/kg/日群および80.0 mg/kg/日群の雄各1例を切迫状態で安楽死させ、また80 mg/kg/日群の雄1例が死亡発見された。これらの動物では腎臓および膀胱で病変がみられたが、これらの変化はこの週齢の動物で通常みられるものであり、投薬に関連した死亡ではないと判断した。

ブプレノルフィンを投与した全群でみられた一般状態変化として、雄では毛並みの悪化、糞便量の減少、尿による汚れ、四肢の蒼白化、鼻/口の周囲に黒色物質の付着、腫脹、痂皮および脱毛が、また雌では毛並みの悪化、糞便量の減少、尿による汚れ、四肢の蒼白化、眼の蒼白化、自傷、痂皮、腫脹および口の開いた傷がみられた。皮膚の主な所見は、140 mg/kg/日群の雌1例および282 mg/kg/日群の雌7例でみられた投与部位の落屑に限定されていた。一般状態所見に明らかな用量依存性はなかった。平均体重の低下が投与1週目には対照群を含む全群でみられ、また投与2週目にはブプレノルフィン投与の全群でみられた。体重低下に用量依存性はみられず、毒性学的に意義のある変化ではないと判断した。平均摂餌量の減少がブプレノルフィン投与の雄で投与1週目および2週目に、また28.1 mg/kg/日群、140 mg/kg/日群および282 mg/kg/日群の雌で投与1週目にみられた。

低濃度のブプレノルフィンおよびノルブプレノルフィンが対照群の投与1日目 (投与開始日) お

よび 14 日目の一部の試料で検出された。対照群の試料におけるこれら化合物の由来については不明である。しかし、対照群において予期できない異常がみられなかったことから、この事態が試験目的の遂行に有害な影響を及ぼすものではないと考えられた。

投与 1 日目および 14 日目TKのデータでは、ブプレノルフィンおよびノルブプレノルフィンの曝露量の増加は、雌雄ラットとともに用量の増加比より低かった。投与 1 日目と 14 日目のブプレノルフィンおよびノルブプレノルフィン濃度の比較から、投薬全群の雌雄で蓄積性がみられた。ブプレノルフィンの蓄積係数は、雄で 1.94～6.52、雌で 1.57～8.07 の範囲にあった。ノルブプレノルフィンの蓄積係数は、雄では 1.05～5.39、雌では 3.60～6.79 の範囲にあった。薬物動態パラメータに明らかな性差はみられなかったが、試料数が少なくデータの統計学的な検定は行わなかった。

2.6.6.3.5 BTDS およびブプレノルフィン遊離塩基のラットにおける 3 ヶ月間がん原性用量設定経皮投与試験 (NDSE-581-GLP, 4.2.3.2.5)

ブプレノルフィンの毒性およびTKを評価するため、CrI:CD (SD) IGS BRラット（試験開始時に約 6 週齢）にBTDS貼付（パッチを投与部位に固定するため、動物をラッピング）またはアセトン溶液の皮膚塗布によりブプレノルフィンを経皮投与する 3 ヶ月間試験を実施した。本試験では、雌雄各群 10 例のラットにブプレノルフィンを 0（無処置）、0（プラセボパッチ）、5、10 若しくは 20 mg/ラット/日の用量でBTDSを用いて 3 日ごとに貼り替える、またはブプレノルフィン遊離塩基のアセトン溶液を 0（溶媒）、0.5、1.5 若しくは 5.0 mg/ラット/日の用量（1 mL/動物）で 1 日 1 回皮膚に塗布する方法によって投与した。BTDSの用量は貼付可能な最高面積に基づいて設定し、また皮膚塗布での用量はBTDS投与でのブプレノルフィンの用量とほぼ等しくなるように設定した。BTDSの場合、使用前に各パッチのブプレノルフィンを含まない粘着層部分を切り取り、ブプレノルフィンを含む粘着層部分のみを動物に適用した。皮膚への塗布によってブプレノルフィンを投与したラットは試験の他の動物とは分離して収容するとともに、雌雄各 6 例の無処置の「汚染」評価用対照群を皮膚塗布動物と同居させた。

所定の毒性パラメータを評価するとともに、TKの分析のための血漿試料をBTDSを貼付した動物、ブプレノルフィンを皮膚に塗布した動物および無処置の「汚染」対照群の動物から定期的に採取した。

BTDS貼付群では、投薬に関連する死亡または一般状態の変化はみられなかった。死亡または切迫状態での安楽死が 6 例発生したが（5 および 10 mg/ラット/日群において各 3 例）、一般状態の変化または病理組織学的検査で病変がみられなかったことから、死因は不適切なラッピング操作（ラッピングによる過度の締め付け）による二次的なものであると判断した。一般状態変化として、脱毛、尿による汚れ、腫脹、変色、被毛粗剛、消瘦および口の開いた傷がみられ、またパッチの貼付部位に機械的擦傷（プラセボおよび投薬群ともにみられ、剃毛操作に起因すると考えられる）がみられた。また、発生率は低いが、鼻/眼の周囲に黒色物質の付着および眼漏もみられた。これらの一般状態の変化は、ラッピング操作に伴う二次的なストレスによるものであり、投薬に関連するものではないと判断した。その他、非常に軽微な皮膚の紅斑が低い発生率でみられたが、毒性学的な意義はないと判断した。体重、摂餌量または血液学パラメータに毒性学的に意味のある

変化はみられなかった。

BTDSを貼付した動物の剖検または病理組織学的検査では、投薬に関連する変化はみられなかった。上記の検査で、体脂肪の減少、肺の暗赤色化、椎骨の形態異常、心臓の形態異常、胃の腺粘膜の病巣、胸骨および脊柱の形態異常ならびに肺に暗赤色化したうっ血がみられ、また胸腔に癒着および液の貯留がみられた。これらの所見の大部分は、プラセボパッチおよびBTDS貼付の両群においてみられたことから、動物をラッピングにより過度に締め付けたことに起因する二次的な所見であると判断した。

皮膚塗布群では、生存率、一般状態での毒性所見、皮膚所見、体重、血液学的検査、剖検または病理組織学的検査でのパラメータに関して投薬に関連した影響はみられなかった。1.5 mg/ラット/日群および5.0 mg/ラット/日群の投与1週目の平均摂餌量は溶媒対照に比較して雄で約16%~19%、雌で17%~18%低値であった。しかし、本試験の他の期間では摂餌量に対して一貫した影響はみられなかった。以上のことから、皮膚塗布試験での無毒性量は5 mg/ラットを超えると判断した。

BTDSの投与開始日の雌雄ラットにおけるブプレノルフィンの平均 C_{max} は10.4~102 ng/mL、平均AUCは531~4174 ng•h/mLの範囲にあった。投与45日目のブプレノルフィンの平均 C_{max} は3.74~43.2 ng/mL、平均AUCは133~1410 ng•h/mLの範囲にあった。また、投与87日目のブプレノルフィンの平均 C_{max} は17.0~37.1 ng/mL、平均AUCは414~1168 ng•h/mLの範囲にあった。蓄積係数（投与開始日に対して投与45日目または87日目）は0.3~0.8の範囲にあった。本試験の雌雄ラットにおけるBTDSの無毒性量（20 mg/ラット）での投与87日目の1日あたりの平均AUC（AUC_{day}：各々389および328 ng•h/mL）は、海外健康成人を対象とした試験（5.3.1.1.1, 5.3.1.1.2: BP97-0501試験）で最高用量であるBTDS 20 mgを投与した後のAUC_{day}（7.756 ng•h/mL）より42~50倍高かった。

BTDS投与後のノルブプレノルフィンの血漿中濃度は親化合物よりはるかに低く、雌雄ラットでの C_{max} は、定量下限である0.100 ng/mLを未満もしくはわずかに超える程度であり、そのため、血漿中濃度の多くの時間プロファイルは定量下限を超える1または2時点のみで評価した。用量をmg/kg体重で表示すると雄の方が雌より低いにもかかわらず、一般に C_{max} およびAUCは雄の方が雌より高かった。ブプレノルフィンの場合と同様に、投与45および87日目の曝露量（AUC）は投与開始日より低かった。蓄積係数は、投与87日目の値が6.1であった10 mg/ラット/日群の雌を除いて、0.02~0.4の範囲にあり、また用量の増加に伴って増加する傾向にあった。

BTDS投与後のブプレノルフィン-3β-グルクロン酸抱合体の血漿中濃度は、ブプレノルフィン濃度とほぼ等しかった。投与開始日のブプレノルフィン-3β-グルクロン酸抱合体の平均 C_{max} は9.80~50.3 ng/mL、平均AUCは406~2319 ng•h/mLの範囲にあった。投与45日目のブプレノルフィン-3β-グルクロン酸抱合体の平均 C_{max} は4.78~77.4 ng/mL、平均AUCは202~2776 ng•h/mLの範囲にあった。また、投与87日目のブプレノルフィン-3β-グルクロン酸抱合体の平均 C_{max} は9.75~102 ng/mL、平均AUCは516~2352 ng•h/mLの範囲にあった。 C_{max} およびAUCは用量の増加比にほぼ比例して増加した。ブプレノルフィン-3β-グルクロン酸抱合体は投与87日目に蓄積がみられ、試験した用量範囲で蓄積係数は1.3~3.5の範囲にあった。

ブプレノルフィン遊離塩基のアセトン溶液を皮膚塗布した場合、ブプレノルフィンの $C_{\max}$ およびAUCの増加は用量の増加比より低かった。投与開始日の雌雄ラットにおけるブプレノルフィンの平均 $C_{\max}$ は4.86~25.3 ng/mL, 平均AUCは73.3~371 ng•h/mLの範囲にあった。投与45日目のブプレノルフィンの平均 $C_{\max}$ は7.50~61.4 ng/mL, 平均AUCは141~1120 ng•h/mLの範囲にあった。また、投与87日目のブプレノルフィンの平均 $C_{\max}$ は7.64~52.9 ng/mL, 平均AUCは148~882 ng•h/mLの範囲にあった。蓄積係数は1.6~5.5の範囲にあった。皮膚塗布した場合の雌雄ラットにおける無毒性量(5 mg/日/ラット)でのブプレノルフィンの投与87日目のAUC₀₋₂₄(各々664および882 ng•h/mL)は、海外健康成人を対象とした試験(5.3.1.1.1, 5.3.1.1.2: BP97-0501 試験)で最高用量であるBTDS 20 mgを投与した後のAUC_{day}(7.756 ng•h/mL)より86~114倍高かった。

BTDS投与と同様に、皮膚塗布によってブプレノルフィンを投与した場合のノルブプレノルフィンの曝露量は親化合物より低かった。 $C_{\max}$ およびAUCの増加は用量の増加比より低かった。雄ラットの $C_{\max}$ およびAUCはいずれの場合でも雌より高かった。1.5 mg群および0.5 mg群における $C_{\max}$ は、定量下限である0.100 ng/mL未満またはわずかに超える程度であり、そのため、多くの血漿中濃度-時間プロフィールは定量下限を超える数時点でのみ評価した。蓄積係数は0.8~7.6の範囲にあった。雌雄ラットにおけるノルブプレノルフィンの曝露量(AUC₀₋₂₄: 各々5.38 および19.9 ng•h/mL)は、海外健康成人を対象とした試験(5.3.1.1.1, 5.3.1.1.2: BP97-0501 試験)で最高用量であるBTDS 20 mgを投与した後の1日あたりの平均AUC(AUC_{day} = 3.859 ng•h/mL)より、それぞれ、1.4倍および5.2倍高かった。

BTDS投与と同様に、皮膚塗布によるブプレノルフィン-3β-グルクロン酸抱合体の曝露量は、親化合物の曝露量とほぼ等しかった。投与開始日のブプレノルフィン-3β-グルクロン酸抱合体の平均 $C_{\max}$ は5.91~62.5 ng/mL, 平均AUCは106~606 ng•h/mLの範囲にあった。投与45日目のブプレノルフィン-3β-グルクロン酸抱合体の平均 $C_{\max}$ は17.1~227 ng/mL, 平均AUCは260~2747 ng•h/mLの範囲にあった。また、投与87日目のブプレノルフィン-3β-グルクロン酸抱合体の平均 $C_{\max}$ は12.9~309 ng/mL, 平均AUCは208~3195 ng•h/mLの範囲にあった。ブプレノルフィン-3β-グルクロン酸抱合体の蓄積係数は、2.0~9.3の範囲にあった。

ブプレノルフィン投与群と同居させた無処置の「汚染」対照動物では、各時点の試料で測定可能な濃度のブプレノルフィン、ノルブプレノルフィンおよびブプレノルフィン-3β-グルクロン酸抱合体が検出された。

低濃度のブプレノルフィンおよびブプレノルフィン-3β-グルクロン酸抱合体が無処置群、プラセボ群およびアセトン対照群の投与45日目および87日目の試料で検出された。しかし、濃度が低いことおよびこれらの動物では予期し得ない所見がみられなかったことから、この事態は試験目的の遂行に有害な影響を及ぼすものではないと判断した。

以上、本試験で用いた用量のブプレノルフィンを皮膚塗布した場合、BTDS投与とほぼ等しい曝露量が得られた。動物の体をラッピングすることは、パッチを皮膚の投与部位に固定するために必要であるが、不適切なラッピング操作による所見がみられることがあるのに対して、皮膚塗布ではこれを避けることができた。したがって、長期の試験でのブプレノルフィン投与については、

BTDSより皮膚塗布の方がより適した投与方法であると判断した。

対照動物をブプレノルフィンの皮膚塗布群と分離することによって、対照群の血漿試料でブプレノルフィンが検出される発生率および濃度が有意に低下したが、完全な防止とはならなかった。これら動物の血漿試料に存在するブプレノルフィンおよびその代謝物は、環境由来の曝露を反映したものであると推察された。すなわち、ブプレノルフィン溶液を投与されたラットの皮膚に由来する空中浮遊のブプレノルフィン粒子にブプレノルフィン処置室の動物が曝露された可能性が考えられた。

2.6.6.3.6 ブプレノルフィン遊離塩基のラットにおける6ヵ月間経皮投与試験および28日間回復性試験 (NDSE-598-GLP, 4.2.3.2.6)

ブプレノルフィン遊離塩基をラットの皮膚に3または6ヵ月間塗布し、その毒性、最大耐量およびTKを評価した。表2.6.6.3.6.1に示すように、8週齢のCrI:CD (SD) IGS BRラットを4群に無作為に割り当てた。

表 2.6.6.3.6.1 試験計画

群	動物数 ^{a,b,c}			投与濃度 (mg/mL)	用量 (mg/kg)	投与容量 (mL/kg)
	雄	雌	投与物質			
1	35 (15)	35 (15)	アセトン	0	0	2.0
2	30 (40)	30 (40)	ブプレノルフィン	10	20	2.0
3	35 (40)	35 (40)	ブプレノルフィン	30	60	2.0
4	35 (40)	35 (40)	ブプレノルフィン	100	200	2.0

^a 雌雄各群10例を投与3ヵ月間後に剖検した。

^b 6ヵ月間の投与終了時に群1、群3および群4の雌雄各群5例のラットを28日間の回復性試験に供した。

^c 括弧内に示した数の動物をTKの血液試料の採取に使用した。

本試験では、溶媒であるアセトンへのブプレノルフィンの溶解度および動物の投与部位から投与液が滴り落ちずに投与できる最高容量に基づいて最高用量を設定した。

主試験用動物の背部皮膚の投与部位にブプレノルフィンを1日1回、経皮投与した。この間、詳細な一般状態観察を通常法に従って実施した。投与部位の異常は定期的に検査し、体重、摂餌量および飲水量を測定した。眼科学的検査を投与開始前に1回、3ヵ月間投与後、6ヵ月間の投与期間の終了付近および回復期間の終了付近に実施した。血液学的検査、血液化学的検査および尿検査の各パラメータを測定するため、血液および尿試料を約1、3および6ヵ月間投与後ならびに回復期間の終了付近に主試験の動物から採取した。ブプレノルフィン、ノルブプレノルフィンおよびブプレノルフィン-3β-グルクロン酸抱合体の血漿中濃度を測定するため、TK用血液試料を別途設定したサテライト動物から採取した。全動物について詳細に剖検するとともに、主試験用動物について組織を採取した。これらの動物から採取した全組織および器官は、病理組織学的検査に供した。

試験期間中に被験物質投与に関連する死亡はみられなかった。一般状態観察では、自傷に関連する所見（前肢の腫脹、前肢に痂皮、前肢に口の開いた傷、投与後に前肢を噛む、指の欠落）、毛並みの悪化、ケージ/受け皿を噛む、尿による汚れ、鼻の周囲に黒色物質の付着、糞便量の減少、眼

の蒼白化および投与後の活動性の亢進/低下が1用量群以上の群でみられた。大部分の一般状態所見は、ブプレノルフィンの毒性薬理学的な作用によるものであり、試験実施施設でそれまでに実施したオピオイドの試験でもみられていた。回復期間中の一般状態では特記すべき所見はみられなかった。皮膚の変化は、対照群またはブプレノルフィン遊離塩基投与群の投与および回復期間ともにみられなかった。

体重/体重増加量では、投与期間中の一部の用量または測定時点で統計学的有意差がみられたが、毒性学的に意味のある差ではなかった。通常、体重の変化は摂餌量に相関するが、投与期間中の摂餌量はブプレノルフィン投与の全群において減少した。しかし、回復期間中には対照群と同等のレベルにまで戻った。摂餌量の減少はオピオイドの薬理作用と考えられた。

飲水量は投与期間中、ブプレノルフィン投与の雄の全群ならびに雌の60 mg/kg/日群および200 mg/kg/日群において対照群より低値であった。回復期間中の飲水量は、雄では対照群より低値であったが、60 mg/kg/日群および200 mg/kg/日群の雌の飲水量は対照群とほぼ等しかった。

血液学的または凝固系検査では、対照群とブプレノルフィン投与群との間に毒性学的に意味のある差はみられなかった。高用量群雄の平均GGTは3および6ヵ月間投与後に増加し、この変化は投薬に起因するものと考えられたが、可逆的であった。GGTは、げっ歯類では胆管系の変化に対して感度の高い指標であり、その増加は後述する200 mg/kg/日群の雄において6ヵ月目でみられた可逆的な胆管過形成と相関していると考えられた。その他の血液化学的パラメータでは、毒性学的に意義のある変化はみられなかった。

眼科学的検査では、試験に用いたいずれの動物でも被験物質投与に関連する変化はみられなかった。また、3または6ヵ月間投与の終了後あるいは回復期間終了時に安楽死させた生存ラットの剖検では特記すべき所見はなかった。器官重量では、投薬に起因する明らかな影響はみられなかった。副腎の絶対および相対重量の増加が200 mg/kg/日群の雄で3ヵ月間投与後および回復期後、60mg/kg/日群の雄で回復期間後、また、6ヵ月間投与後の200 mg/kg/日群の雌でみられた。しかし、病理組織学的な相関する変化はみられなかった。オピオイドがげっ歯類で副腎皮質ステロイドを増加させることは知られており、このことが重量増加の原因となった可能性が考えられ、本器官の重量変化に毒性学的な意味はないと判断した。しかし、投薬との関連性は完全には除外できなかった。

雄ラットに200 mg/kg/日のブプレノルフィンを6ヵ月間投与すると、胆管の過形成がみられた。この変化は、オピオイドの副次的薬理作用であるオッディ括約筋の収縮に伴う胆汁排泄量の減少および胆管圧の上昇が過剰に発現したことに起因する可能性が考えられた(2.6.2.6 参照)。本所見は、BTDS 20 mgを投与したヒトでみられる最高血漿中濃度(C_{max})の3000倍を超える濃度(AUCに基づく約732倍)でのみ認められたが、ヒトでの濃度の900倍を超える濃度(AUCに基づく353倍)となる雌の高用量群ではみられず、また C_{max} に基づくヒトでの濃度の600倍を超える濃度(AUCに基づく334倍の高値)となる中用量群においてはみられなかったことから、毒性学的な意義はないと判断した。200 mg/kg/日群の雄では3ヵ月間投与後に門脈周囲の肝細胞で空胞化がみられ、被験物質投与に関連している可能性があった。また、200 mg/kg/日群の雌雄では6

ヵ月間投与後にも被験物質投与に関連する門脈周囲の肝細胞の空胞化がみられた。しかし、これらの動物では肝細胞障害の指標（ASTまたはALTなど）に変化はみられず、また空胞化は回復期間中に回復する可逆的な変化であった。したがって、本所見は毒性学的に意義はないと判断した。

低濃度のブプレノルフィン、ノルブプレノルフィンおよびブプレノルフィン-3β-グルクロン酸抱合体が試験中の各時点に採取された対照群の一部の試料で検出された。対照群の試料におけるこれら化合物の由来については不明である。しかし、予期できない異常が対照動物でみられなかったことから、この事態が試験目的の遂行に有害な影響を及ぼすものではないと判断した。

ブプレノルフィンの C_{max} およびAUCは用量に応じて増加したが、多くの場合、その増加は用量の増加比より低かった。ただし、200 mg/kg/日群の雄では、用量の増加比を超えて増加した。3 または 6 ヶ月間投与後の雄のAUCは、いずれの用量でも雌より高かった。3 および 6 ヶ月間投与後の蓄積係数から、血漿中にブプレノルフィンが蓄積することが示唆されたが、6 ヶ月間投与後の蓄積性は3 ヶ月間投与後より低かった。

ノルブプレノルフィンの濃度は概して親化合物より低く、またブプレノルフィンと同様に C_{max} およびAUCの増加は用量の増加比より通常低かった。ノルブプレノルフィンの蓄積係数が高値であったことから、血漿中に経時的に蓄積することが示唆された。3 または 6 ヶ月間投与後の蓄積係数間に明らかな差はみられなかった。

ブプレノルフィン-3β-グルクロン酸抱合体の血漿中濃度は、投与開始日は親化合物より低い傾向にあったが、3 または 6 ヶ月間投与後は親化合物より高かった。親化合物と同様、ブプレノルフィン-3β-グルクロン酸抱合体の増加は、通常、用量の増加比より低かった。経時的な蓄積性が蓄積係数から示唆された。親化合物またはノルブプレノルフィンとは異なり、蓄積係数は3 ヶ月後からさらに 6 ヶ月後で増加したことから、ブプレノルフィン-3β-グルクロン酸抱合体の蓄積が継続していることが示唆された。

以上の成績から、ブプレノルフィン遊離塩基を 6 ヶ月間、毎日皮膚に塗布したときの雌雄ラットにおける無毒性量は、60 mg/kg/日であると判断した。本試験での最大耐量は雌雄ともに 200 mg/kg/日を超えていた。6 ヶ月間投与後の無毒性量でのブプレノルフィンの曝露量（ AUC_{0-24} ）は、雄および雌でそれぞれ 2591 および 1909 ng・h/mLであった。また、高用量群の雄および雌での曝露量（ AUC_{0-24} ）はそれぞれ 5679 および 2742 ng・h/mLであった。6 ヶ月間投与後の無毒性量（60 mg/kg/日）における AUC_{0-24} は、海外健康成人を対象とした試験（5.3.1.1.1, 5.3.1.1.2: BP97-0501 試験）で最高用量であるBTDS 20 mgを投与した後の1日あたりの平均AUC（ $AUC_{day} = 7.756 \text{ ng} \cdot \text{h/mL}$ ）と比較して246～334倍高かった。

2.6.6.3.7 BTDS のウサギにおける 7 日間経皮投与試験（DSE-258-GLP, 4.2.3.2.7）

BTDSを用い、ブプレノルフィンを0（無処置）、0（プラセボパッチ）、5、30 または 60 mg/ウサギを雌雄各群3例のニュージーランドホワイトウサギに7日間経皮投与した。最高用量の60 mg/ウサギは、確実にウサギに貼付が可能な20 mgのBTDSパッチの最大数に基づいて設定した。パッチは3日に1回交換した。パッチは、メリヤス製のジャケットおよび首かせを用いて投与部位に固

定した。死亡の有無は毎日観察し、体重を投与前および投与 1 および 8 日後に測定した。試験期間中、一般症状および皮膚所見は評価しなかった。試験終了後、すべての動物を安楽死させ、剖検は実施せずに廃棄した。

死亡はみられなかった。雄のプラセボ群とBTDS投与群、ならびに雌の 30 および 60 mg/ウサギ群で軽度な体重減少がみられたが、首かせ/ジャケットの影響と考えられた。

2.6.6.3.8 BTDS のウサギにおける 28 日間経皮投与試験 (DSE-168-GLP, 4.2.3.2.8)

雌雄各群 5 例のニュージーランドホワイトウサギを用いて 4 週間投与試験を実施した。BTDSを用い、ブプレノルフィン 0 (無処置), 0 (プラセボパッチ), 5, 30 または 60 mg/ウサギ (目標用量: 0, 0, 2.0, 12.0 または 24.0 mg/kg) の用量で 27 日間経皮投与した。パッチは 3 日に 1 回交換した。パッチは、メリヤス製のジャケットおよび首かせを用いて投与部位に固定した。最高用量の 60 mg/ウサギは、用量設定試験 (DSE-258-GLP, 4.2.3.2.7) の成績および確実にウサギに貼付が可能な 20 mgのBTDSパッチの最大数に基づいて設定した。所定の毒性パラメータを評価し、TK の分析のための血漿試料を採取した。投与部位では、各パッチの貼付部位ごとに刺激性を評価した。

死亡はみられなかった。30 mg/ウサギ群および 60 mg/ウサギ群において糞便量が一過性に減少した。プラセボ群および投薬全群の体重が無処置対照群に比較してわずかに低値であったが、首かせ/ジャケットの使用が体重に対して影響したと考えられた。しかし、30 mg/ウサギ群および 60 mg/ウサギ群の体重増加量はプラセボ対照群より低く、同群では摂餌量が一過性に減少していたことから、首かせ/ジャケットの使用に加えて、ブプレノルフィン投与の影響も考えられた。用量依存的に皮膚刺激性がみられたが、試験の後半にはその程度は減弱する傾向にあった。皮膚刺激性の程度は雌の方が雄よりわずかに強かった。プラセボパッチを貼付した動物でも軽微から中等度の皮膚刺激性がみられた。投与部位の皮膚でのみ組織学的な変化がみられ、その内容は極軽微から中等度の慢性皮膚炎、極軽微な表皮肥厚および極軽微から軽度な角質増殖であった。評価したその他のパラメータに対して投与による影響はみられなかった。

本試験で採取したTK用試料は、試験実施施設のミスによって分析しなかった。しかし、TKの評価は、0, 5, 30 および 60 mg/ウサギの用量で実施したBTDSのウサギにおける 7 日間用量設定試験 (DSE-258-GLP, 4.2.3.2.7) で採取していた血漿を用いて代替的に実施した。その試験でのブプレノルフィンの血漿中濃度は、5 および 30 mg/ウサギ群の大部分のウサギで定量下限 (0.1 ng/mL) 未満であり、これらの群において散発的に検出できた濃度範囲はそれぞれ 0.22~0.52 および 0.12~5.98 ng/mLであった。60 mg/ウサギ群における濃度範囲は 0.11~6.81 ng/mLであり、BTDS 20 mgを貼付したヒトでの平均 C_{max} の約 14 倍であった。5 mg/ウサギ群、30 mg/ウサギ群および 60 mg/ウサギ群の平均AUCは、雄ではそれぞれ 10.6, 155 および 88.7 ng·h/mL、雌ではそれぞれ 0, 2.85 および 237 ng·h/mLであった。5 mg/ウサギ群および 30 mg/ウサギ群の雄の値は高かったが、これは主として各群のうちの 1 例が高値を示したためであった。60 mg/ウサギ群の雌のAUCは雄より高かった。AUCおよび C_{max} と用量の関連性では、用量に対する比例性はみられなかった。

30 および 60 mg/ウサギ群でみられた体重に対する影響から、無毒性量は 5 mg/ウサギと判断した。

2.6.6.3.9 BTDS のウサギにおける 6 ヶ月間経皮投与試験 (DSE-304-GLP, 4.2.3.2.9)

雌雄各群 6 例のニュージーランドホワイトウサギを用いて 6 ヶ月間投与試験を実施した。BTDS を用いて、ブプレノルフィン を 0 (無処置), 0 (プラセボ), 5, 30 または 60 mg/ウサギ (目標用量 : 0, 0, 2.5, 15.0 または 30.0 mg/kg) の用量で経皮投与した。使用前に各パッチのブプレノルフィン を含まない粘着層部分を切り取り、ブプレノルフィン を含む粘着層部分のみを動物に適用した。パッチは 3 日に 1 回交換した。パッチは、メリヤス製のジャケットおよび首かせを用いて投与部位に固定した。最高用量の 60 mg/ウサギは、確実にウサギに貼付が可能な 20 mg の BTDS パッチの最大数に基づいて設定した。所定の毒性パラメータを評価し、血液化学的検査用および薬物濃度分析のための血漿を得るため、全動物から定期的に採血した。

死亡はみられなかった。60 mg/ウサギ群において、一過性の糞便量の減少が低頻度に見られた。体重の軽微な減少がプラセボ群, 5 mg/ウサギ群および 60 mg/ウサギ群においてみられたが、毒性的な意義はないと判断した。摂餌量の一過性の減少が 30 mg/ウサギ群および 60 mg/ウサギ群で見られた。パッチ投与の全群において軽微な皮膚刺激性がみられ、その程度は雌の方が雄よりわずかに強かった。評価したその他のパラメータでは、投薬に関連した影響はみられなかった。病理組織学的検査では、プラセボ群および投薬群の雌で投与部位の皮膚における扁平上皮細胞の非常に軽微な肥厚化および小型の慢性炎症細胞のわずかな増加がみられた。これらの変化は、ブプレノルフィンによるものではなく、パッチの貼付に関連すると判断した。

初回投与 24 時間後の低用量群, 中用量群および高用量群の平均血漿中ブプレノルフィン濃度は、雄ではそれぞれ 0.0, 0.40 および 3.08 ng/mL, 雌ではそれぞれ 0.28, 1.30 および 3.00 ng/mL であった。高用量群におけるこれらの濃度は、BTDS 20 mg を貼付投与したヒトでの C_{max} の約 6.5 倍であった。

投与 136 日目の低用量群, 中用量群および高用量群の平均血漿中ブプレノルフィン濃度は、雄ではそれぞれ 0.36, 0.69 および 1.18 ng/mL, 雌ではそれぞれ 0.74, 1.19 および 3.70 ng/mL であった。投与 136 日目での低用量群, 中用量群および高用量群の平均 AUC は、雄ではそれぞれ 11.8, 30.0 および 59.1 ng·h/mL, 雌ではそれぞれ 34.0, 53.4 および 187 ng·h/mL であった。高用量群 (60 mg/ウサギ) の雄および雌での投与 136 日目の C_{max} および 1 日あたりの平均 AUC (AUC_{day} : 各々 19.7 および 62 ng·h/mL) 値は、海外健康成人を対象とした試験 (5.3.1.1.1, 5.3.1.1.2: BP97-0501 試験) で最高用量である BTDS 20 mg を投与した後の C_{max} の平均値 (0.471 ng/mL) のそれぞれ 2.5 および 7.9 倍であり、 AUC_{day} (7.756 ng·h/mL) のそれぞれ 2.5 および 8 倍であった。

本試験での無毒性量は、60 mg/ウサギ (約 30 mg/kg) と判断した。

2.6.6.3.10 BTDS のイヌにおける 28 日間経皮投与試験 (DSE-169-GLP, 4.2.3.2.10)

雌雄各群 4 例のビーグル犬を用いて 4 週間投与試験を実施した。BTDS を用いて、ブプレノルフィン を 0 (無処置), 0 (プラセボパッチ), 30, 60 または 120 mg/イヌ (目標用量 : 0, 0, 3, 6 または 12 mg/kg) の用量で 27 日間経皮投与した。使用前に各パッチのブプレノルフィン を含まない粘着層部分を切り取り、ブプレノルフィン を含む粘着層部分のみを動物に適用した。パッチは 3 日に 1 回交換した。パッチは、メリヤス製のジャケットおよび首かせを用いて投与部位に固定した。

最高用量の 120 mg/イヌは、確実にイヌに貼付可能な 20 mgのBTDSパッチの最大数に基づいて設定した。所定の毒性パラメータを評価し、血漿中濃度を測定するための血液試料を、投与 1 日目から 29 日目の投与約 4 時間後に 1 日 1 回、雌雄各群 1 例から採取した。

死亡はみられなかった。発生率は低い、活動性の低下が 30 mg/イヌ群の雌ならびに 60 mg/イヌ群および 120 mg/イヌ群においてみられた。糞便量の減少/無便および摂餌量の減少が投薬全群で投与 1 週目にみられた。体重/体重増加量の軽微な減少がプラセボ群および投薬群でみられたが、これはジャケット/首かせの装着による二次的な変化であると判断した。軽微から中等度の皮膚刺激性がプラセボ群および投薬群でみられたが、用量依存性はなかった。病理組織学的検査では、投与部位に対する軽微な変化（極軽微から中等度の表皮肥厚、角質増殖）がプラセボ群および投薬群においてみられた。この変化は、パッチ貼付による二次的な変化であり、ブプレノルフィンによるものではないと判断した。本試験で評価したその他のパラメータに影響はみられなかった。

血漿中の最高薬物濃度は、各パッチを貼付した日にみられた。時間-濃度の比較で、用量と血漿中濃度とに関連性がみられ、また投与後 1 日以内に定常状態となった。

試験期間中の血漿中濃度は用量に応じて増加し、蓄積性はみられなかった。低用量群、中用量群および高用量群でのブプレノルフィンの平均最高血漿中濃度は、それぞれ、0.13~2.92 ng/mL, 1.24~4.73 ng/mLおよび 2.62~8.71 ng/mLの範囲にあった。高用量群の雄および雌での濃度は、BTDS 20 mgを貼付したヒトでのC_{max}の約 6~18 倍であった。

本試験での無毒性量は、120 mg/イヌ（約 12 mg/kg）と判断した。

2.6.6.3.11 BTDS のイヌにおける 3 ヶ月間経皮投与試験（DSE-213-GLP, 4.2.3.2.11）

雌雄各群 3 例のビーグル犬を用いて 3 ヶ月間投与試験を実施した。BTDSを用いて、ブプレノルフィンを 0（無処置）、0（プラセボパッチ）、10、35 または 120 mg/イヌ（目標用量：0, 0, 1, 3.5 または 12 mg/kg）の用量で経皮投与した。使用前に各パッチのブプレノルフィンを含まない粘着層部分を切り取り、ブプレノルフィンを含む粘着層部分のみを動物に適用した。パッチは 3 日に 1 回交換した。パッチは、メリヤス製のジャケットおよび首かせを用いて投与部位に固定した。最高用量の 120 mg/イヌは、確実にイヌに貼付可能な 20 mgのBTDSパッチの最大数に基づいて設定した。所定の毒性パラメータを評価し、血液化学的検査およびブプレノルフィンの血漿中濃度の評価のために血液試料を採取した。

死亡はみられなかった。発生率は低い、糞便量の減少/無便が 35 mg/イヌ群および 120 mg/イヌ群において投与 1 週目にみられた。体重の低下または体重増加量の減少が投薬全群において投与 1 週目にみられた。35 mg/イヌ群および 120 mg/イヌ群の試験終了時の体重増加量はプラセボまたは無処置対照群と比較して 30%~55%低かった。投薬群で投与 1, 2 および 3 週目の摂餌量が一過性に減少したが、その後の期間には回復した。軽微な皮膚刺激性がパッチ投与の全群（プラセボ群を含む）でみられたが、用量依存性はなかった。病理組織学的検査では、極軽微から中等度の表皮肥厚、および極軽微から軽度な急性若しくは慢性皮膚炎、不全角化または慢性毛包炎がプラセボ群およびブプレノルフィン投与群の投与部位でみられたのみであった。病理組織学的な変化

は、パッチ貼付による二次的变化であり、ブプレノルフィンによるものではないと判断した。本試験で評価したその他のパラメータに関しては、投薬の影響はみられなかった。

データが不十分であったため、薬物動態 (PK) パラメータは計算しなかった。しかし、投与 22/23, 52/53 および 88/89 日目に採取した血液試料では、ブプレノルフィン血漿中濃度が用量に依存して増加し、性差はみられなかった。投与 22 日目 (BTDS 貼付の 72 時間後) の 10 mg/イヌ群, 35 mg/イヌ群および 120 mg/イヌ群における平均血漿中濃度はそれぞれ約 0, 0.31 および 1.10 ng/mL であり、これらの値は、BTDS 20 mg を貼付したヒトにおける C_{max} のそれぞれ約 0, 0.7 および 2 倍であった。投与 52 日目および 88 日目 (BTDS 貼付の 72 時間後) の濃度と投与 22 日目の濃度との間に有意な差がみられなかったことから、蓄積性はないと考えられた。BTDS を貼付し、その 24 時間後である投与 89 日目の 10 mg/イヌ群, 35 mg/イヌ群および 120 mg/イヌ群における平均血漿中濃度はそれぞれ 0.23, 2.14 および 5.07 ng/mL であり、これらの値は、BTDS 20 mg を貼付したヒトにおける C_{max} のそれぞれ約 0.5, 5, および 11 倍であった。

本試験でみられた変化は、オピオイドの薬理作用に起因したものであり、毒性学的な意義はないと考えられた。したがって、本試験での無毒性量は 120 mg/イヌ (約 12 mg/kg) であると判断した。

2.6.6.3.12 BTDS のイヌにおける 6 カ月間経皮投与試験 (DSE-214-GLP, 4.2.3.2.12)

雌雄各群 5 例のビーグル犬を用いて 6 カ月間投与試験を実施した。BTDS を用いて、ブプレノルフィンを 0 (無処置), 0 (プラセボパッチ), 10, 35 または 120 mg/イヌ (目標用量: 0, 0, 1, 3.5 または 12 mg/kg) の用量で経皮投与した。使用前に各パッチのブプレノルフィンを含まない粘着層部分を切り取り、ブプレノルフィンを含む粘着層部分のみを動物に適用した。パッチは 3 日に 1 回交換した。パッチは、メリヤス製のジャケットおよび首かせを用いて投与部位に固定した。最高用量の 120 mg/イヌは、確実にイヌに貼付可能な 20 mg の BTDS パッチの最大数に基づいて設定した。所定の毒性パラメータを試験開始前および試験期間中に定期的に評価した。血液化学的検査および血漿中薬物濃度の評価のために、血液試料を試験期間中に定期的に採取した。

試験期間中に死亡はみられなかった。発生率は低いですが、糞便量の減少/無便が最初の 2 週間にみられた。摂餌量および体重の一過性の減少がプラセボおよび投薬群において投与 1 週目~2 週目にみられた。この作用は一部ジャケット/首かせの装着に起因すると考えられたが、3.5 mg/kg 群および 12.0 mg/kg 群の方が影響はわずかに強かった。投与部位に対する皮膚刺激性 [非常に軽微から明確な紅斑 (発生率は低いから中等度から重度の紅斑もみられた), 非常に軽微な浮腫 (発生率は低いから軽微から中等度の浮腫もみられた), 落屑および赤色化/隆起] がプラセボ群および投薬群においてみられ、用量依存性はなかった。そのため、皮膚に対する影響は、パッチによる閉塞に起因するものであり、ブプレノルフィンによるものではないと考えられた。軽微な徐脈が 3.5 mg/kg 群および 12 mg/kg 群の投与 1, 2, 4, 22 および 88 日目 (投与 88 日目は 12.0 mg/kg 群のみ) に用量に依存してみられた。しかし、投与 179 日目の心拍数は正常であった。心毒性を示す所見はなかった。病理組織学的検査では、パッチを貼付した全群において貼付部位に変化がみられたが、パッチの貼付に起因するものであって、ブプレノルフィンによるものではないと判断した。本試験で検査したその他のパラメータに関しては、投薬に関連する変化はみられなかった。

データが不十分であったため、PKパラメータは計算しなかった。血漿中ブプレノルフィン濃度に明らかな性差はみられなかった。投与3日目（パッチ貼付の2日目）の低用量群、中用量群および高用量群における平均血漿中ブプレノルフィン濃度はそれぞれ0.20, 0.87 および 4.25 ng/mLであり、これらの値は、BTDS 20 mgを貼付したヒトにおける最高血漿中濃度のそれぞれ約0.42, 1.8 および 9.0 倍であった。投与180日目（パッチ貼付の2日目）の低用量群、中用量群および高用量群における平均血漿中濃度はそれぞれ0.1未満, 0.39 および 1.31 ng/mLであり、中用量群および高用量群の濃度はヒトにおける C_{max} のそれぞれ約0.8 および 2.8 倍であった。

本試験での無毒性量は、120 mg/イヌ（約12 mg/kg）と判断した。

2.6.6.3.13 BTDS の雄性 Hanford ミニブタにおける用量設定試験（DSE-210, 4.2.3.2.13）

BTDSを用いて、ブプレノルフィンを0（無処置）、0（プラセボ）、10, 25, 50 または 100 mg/ミニブタ（目標用量：0, 0, 0.5, 1.5, 3.0 および 5.6 mg/kg）を各群1例の雄性Hanfordミニブタに2週間経皮投与した。最高用量は、投与部位の皮膚に貼付できる現実的なBTDSの最大数に基づいて設定した。パッチは3日に1回交換した。死亡および一般症状は毎日観察し、パッチ貼付部位は交換時に観察した。体重は貼付前および貼付後1, 8ならびに15日目に、心電図は投与12日目に測定した。ブプレノルフィンの血漿中濃度測定のために血液試料を採取した。すべての動物は、投与16日目に剖検した。

死亡はみられなかった。投与初期に体重が軽度減少したが、体重増加に影響は見られず、ラッピング処置による二次的な変化と考えられた。投与部位の皮膚に軽微な紅斑および浮腫が50 mg/ミニブタ群および100 mg/ミニブタ群においてみられた。ECGに影響は見られなかった。

10 mg/ミニブタ群、25 mg/ミニブタ群および50 mg/ミニブタ群におけるブプレノルフィン濃度は、多くの場合、定量下限（0.1 ng/mL）未満または近傍の値であった。100 mg/ミニブタ群におけるブプレノルフィンの血漿中濃度は定量下限をごくわずかに超える程度であった。

2.6.6.3.14 BTDS の Hanford ミニブタにおける 28 日間経皮投与試験（DSE-251-GLP, 4.2.3.2.14）

本試験は、BTDSを用いて、0（無処置）、0（プラセボ）、10, 25, 50 または 100 mg/ミニブタ（各群1例）の用量で実施した雄Hanfordミニブタにおける2週間用量設定試験（DSE-210 ; 4.2.3.2.13）に基づいて実施した。用量設定試験における最高用量は、投与部位の皮膚に貼付できる現実的なBTDSの最大数に基づいて設定した。試験では、パッチを3日間貼付投与するスケジュールを用いた。DSE-210 の試験では、軽微で一過性の体重に対する影響および投与部位の皮膚に軽微な変化が50 mg/ミニブタ群および100 mg/ミニブタ群においてみられた。

DSE-210 の試験では、用量設定試験の一環として血液試料を定期的に採取し、ブプレノルフィンの血漿中濃度を測定した。10 mg/ミニブタ群、25 mg/ミニブタ群および50 mg/ミニブタ群におけるブプレノルフィン濃度は、多くの場合、定量下限（0.1 ng/mL）未満または近傍の値であった。100 mg/ミニブタ群におけるブプレノルフィンの血漿中濃度は定量下限をごくわずかに超える程度であった（投与4, 5, 6, 10 および 13 日目の濃度はそれぞれ0.11, 0.14, 0.10, 0.14 および 0.14 ng/mL）。

本試験（DSE-251-GLP）では、ブプレノルフィンの目標用量を 8 mg/kg とし、6 例の雄 Hanford ミニブタに BTDS を 7 日間ごとに貼りかえるスケジュールで 4 週間経皮投与した。そして、3 日間と 7 日間の貼付スケジュールを比較した。ブタを粘着性伸縮テープによってラッピングすることによって、パッチを投与部位に固定した。実際の用量は、同数の BTDS を貼付した動物において総投与量を体重で除し、その値の概算の平均値で示した。本試験では、死亡の有無および一般状態変化を観察し、体重および摂餌量を測定した。剖検および器官重量の測定を投与 29 日目に実施し、病理組織学的検査は投与部位に限定した。薬物濃度を評価するための血漿を得るため、全動物から定期的に採血した。

死亡はみられず、また、毒性を示唆する一般状態変化も認められなかった。体重の低下が 1 例の投与 2 週目にみられた。皮膚刺激性は軽微であり、発生率も低く、また投与部位の紅斑に限定されていた。

本試験では、血液試料を投与 2 日目～7 日目および投与 16 日目～21 日目に 1 日 1 回採取した。血漿中ブプレノルフィン濃度は、多くの場合、定量下限（0.10 ng/mL）未満またはわずかに超える程度であった。最初の採血期間中では 1 試料のみが定量下限を超えており、2 回目の採取期間でも定量下限を超えたのは 6 例中 3 例のみであった。3 例中 1 例の濃度は一貫して定量下限を超えており、本例の AUC は 18.7 ng・h/mL であった。

これらの成績から、無毒性量は 8.0 mg/kg であると判断した。

2.6.6.3.15 BTDS の Hanford ミニブタにおける 3 ヶ月間経皮投与試験（DSE-211-GLP, 4.2.3.2.15）

雌雄各群 4 例の Hanford ミニブタを用いて 3 ヶ月間投与試験を実施した。BTDS を用いて、ブプレノルフィンを 0（無処置）、0（プラセボ）、0.8、4.0 および 8.0 mg/kg の目標用量で経皮投与した。使用前に各パッチのブプレノルフィンを含まない粘着層部分を切り取り、ブプレノルフィンを含む粘着層部分のみを動物に適用した。実際の用量は、同数の BTDS を貼付した動物において、総投与量を群平均体重で除して算出した。最高用量は、試験 DSE-185（4.2.3.1.2）の成績および投与部位の皮膚に貼付できる現実的な BTDS の最大数に基づいて設定した。ブタを粘着性伸縮テープでラッピングすることによってパッチを投与部位に固定した。パッチは 3 日に 1 回交換した。所定の毒性パラメータを評価し、血液化学的検査および血漿中薬物濃度測定のために、全動物から定期的に採血した。

死亡はみられなかった。活動性の低下が 8.0 mg/kg 群の雄 2 例で散発的にみられた。8.0 mg/kg 群の動物では、体重増加量がプラセボ対照群より 21%～23% 低値であったが、統計学的な有意差はなかった。非常に軽微から中等度/重度の刺激性がプラセボ群および投薬群の動物の投与部位の皮膚でみられたが、用量依存性はなかった。したがって、この刺激性はパッチ貼付による二次的な反応であり、ブプレノルフィンによるものではないと判断した。

総蛋白およびグロブリンの増加ならびにアルブミン/グロブリン比の減少が 8.0 mg/kg 群の雄でみられ、これらの変化は統計学的に有意であった。総蛋白質およびグロブリンの増加は、試験実施

施設の背景データの上限を超えていた。しかし、同様の変化は雌ではみられず、相関する病理組織学的変化がなかったことから、その毒性学的意義は不明である。病理組織学的検査では、極軽微から軽度の不全角化および慢性皮膚炎ならびに表皮角質層に極軽微から中等度の微小膿瘍がプラセボ群および投薬全群の皮膚の貼付部位でみられた。眼科学的検査、ECG、血液学的検査、器官重量、剖検または組織学的検査では投薬に関連する影響はみられなかった。

データが不十分であったため、PKパラメータは計算しなかった。低用量群における血漿中濃度は、試験の全期間を通して定量下限未満 (<0.1 ng/mL) であった。中用量群では投与 52, 88 および 90 日目、高用量群では投与 22 日目以降の全測定時点において血漿中に薬物が検出された。血漿中濃度に有意な性差はみられなかった。高用量群の試験終了時の血漿中濃度は約 0.38 ng/mL であり、この値はBTDS 20 mgを貼付したヒトにおける C_{max} の約 0.8 倍であった。

本試験での無毒性量は、8 mg/kgと判断した。

2.6.6.3.16 BTDS の Hanford ミニブタにおける 6 ヶ月間経皮投与試験 (DSE-212-GLP, 4.2.3.2.16)

雌雄各群 5 例のHanfordミニブタを用いて 6 ヶ月間経皮投与試験を実施した。BTDSを用いたブプレノルフィンの目標用量は、0 (無処置), 0 (プラセボ), 0.8, 4.0 および 8.0 mg/kgとし、3 日間貼付スケジュールで貼付した。使用前に各パッチのブプレノルフィンを含まない粘着層部分を切り取り、ブプレノルフィンを含む粘着層部分のみを動物に適用した。本試験の用量は、DSE-211-GLP (4.2.3.2.15) の成績および投与部位の皮膚に貼付できる現実的なBTDSの最大数に基づいて設定した。ブタを粘着性伸縮テープでラッピングすることによって、パッチを投与部位に固定した。所定の毒性パラメータを評価し、血液化学的検査および血漿中薬物濃度の分析のため、全動物から定期的に採血した。全例について、剖検、器官重量測定および病理組織学的検査を含む完全な解剖検査を試験終了時に実施した。

投薬に関連する死亡はみられなかった。活動性の低下が中用量群の雄 1 例ならびに高用量群の雄 1 例および雌 2 例で散発的にみられた。無処置対照群と比較すると、体重/体重増加量の低値が全群でみられた。これらの変化はラッピング操作に関連すると考えられたが、影響の程度は高用量群の方が強いことから、一部ブプレノルフィン投与に関連すると判断した。軽微から中等度の皮膚刺激性がみられたが、用量依存性はなかった。したがって、本所見はパッチ貼付によるものであって、ブプレノルフィン投与に起因したものではないと判断した。高用量群の 2 例では、刺激性による変化は重度となり、2 回の投与スケジュール (投与 55 日目および 58 日目) を取りやめる必要があったが、その後、刺激性変化はプラセボ対照群と同程度にまで回復した。このことから、本変化は投薬に関連するものではないと判断した。極軽微から軽度または中等度の組織学的変化 (不全角化、微小膿疱の形成、角質層のケラチンの退色) がプラセボ群を含む全処置群の投与部位においてみられたが、用量依存性はなく、投薬に関連するものではないと判断した。ECG、血液化学的検査、眼科学的検査、剖検および病理組織学的検査では投薬に関連する変化はみられなかった。

データが不十分であったため、PKパラメータは計算しなかった。低用量群の雄 2 例および雌 2 例

の血漿中ブプレノルフィン濃度は、定量下限 (0.1 ng/mL) を散発的に超えていた。中用量群および高用量群における血漿中ブプレノルフィン濃度は全体的に低く、性差はみられなかった。また、同群での濃度は、最初の 13 週間は増加しなかった。投与 26 週目の中用量群 (4 mg/kg) での平均血漿中濃度は 0.51 ng/mL であり、健康成人を対象とした試験 (5.3.1.1.1, 5.3.1.1.2: BP97-0501 試験) で最高用量である BTDS 20 mg を投与した後の C_{max} の平均値 (0.471 ng/mL) の 1.1 倍であった。

最高用量での体重に対する影響に基づいて、無毒性量は 4 mg/kg であると判断した。

2.6.6.4 遺伝毒性試験

今回の承認申請に際して、一連の遺伝毒性試験を実施した。実施した *in vitro* およびマウスを用いた *in vivo* 試験では BTDS を用いることができなかった。BTDS に含有されているブプレノルフィンは遊離塩基であるが、その溶解度は低いため、塩酸塩を用いて遺伝毒性試験を実施した。これにより、遺伝毒性を評価するために十分な高曝露が得られた。遺伝毒性は、試験に用いた最高濃度 (遊離塩基として 28~930 µg/mL に相当) でもみられず、その濃度は BTDS 20 mg を貼付したヒトにおける C_{max} の約 $59 \times 10^3 \sim 2 \times 10^6$ 倍であった。

2.6.6.4.1 *In vitro* 試験

2.6.6.4.1.1 塩酸ブプレノルフィンのネズミチフス菌および大腸菌を用いる復帰突然変異試験 (DSE-232-GLP, 4.2.3.3.1.1)

ネズミチフス菌株 (TA98, TA100, TA1535 および TA1537) のヒスチジン遺伝子座および大腸菌株 (WP2*uvrA*) のトリプトファン遺伝子座に対する塩酸ブプレノルフィンおよびその代謝物の突然変異誘発能を評価した。S9 (Aroclor™ 1254 誘導のラット肝臓から調製) 存在下の場合、塩酸ブプレノルフィンは 1000 µg/プレート (ネズミチフス株) および 3300 µg/プレート (大腸菌) までの濃度で試験細菌株とインキュベーションした。S9 非存在下の場合、333 µg/プレート (ネズミチフス菌株) および 1000 µg/プレート (大腸菌) までの濃度で試験した。上記の最高濃度は、更に高い濃度では許容できない抗菌性がみられたことから選択した。

最初の試験および確認試験のいずれの試験のいずれの濃度においても突然変異体 (復帰変異体) の増加はみられなかった。一方、また陽性対照および陰性対照では予想通りの成績が得られた。

2.6.6.4.1.2 塩酸ブプレノルフィンの L5178Y TK^{+/+}マウスリンフォーマ試験 (DSE-233-GLP, 4.2.3.3.1.2)

L5178Y TK^{+/+}マウスのリンパ腫細胞のチミジンキナーゼ遺伝子座に対する塩酸ブプレノルフィンの突然変異誘発能を評価した。試験は、S9 の有無の条件で実施した。ブプレノルフィン濃度は、S9 存在下および非存在下の条件でそれぞれ 30 および 35 µg/mL までとした。試験で用いた最高濃度は、更に高い濃度では許容できない細胞毒性がみられたことから選択した。

最初の試験および確認試験のいずれの試験のいずれのブプレノルフィン濃度でも、S9 の有無にかかわらず、突然変異の発生率に有意な増加はみられなかった。一方、陽性対照および陰性対照では予想通りの成績が得られた。

2.6.6.4.1.3 塩酸ブプレノルフィンのヒト全血リンパ球を用いる染色体異常試験 (DSE-234-GLP, 4.2.3.3.1.3)

培養ヒト全血リンパ球における塩酸ブプレノルフィンの染色体異常誘発能を評価した。試験は、S9の有無の条件で実施した。最初の試験での濃度は、S9非存在下および存在下の条件でそれぞれ60および120 µg/mLまでとした。確認試験では、S9非存在下および存在下の条件でそれぞれ50および140 µg/mLまでとした。これらの最高濃度は、更に高い濃度では許容できない細胞毒性がみられたことから選択した。

いずれの試験においても、染色体異常、倍数体または核内倍加を有する細胞の有意な増加はみられなかった。一方、陽性対照および陰性対照では予想通りの成績が得られた。

2.6.6.4.2 *In vivo* 試験

2.6.6.4.2.1 塩酸ブプレノルフィンのマウス小核試験 (DSE-235-GLP, 4.2.3.3.2.1)

CrI:CD-1 (ICR) BRマウス骨髄の多染性赤血球に対する塩酸ブプレノルフィンの小核誘発能によって評価した。トウモロコシ油に懸濁した塩酸ブプレノルフィンを200, 400 および 800 mg/kgの用量で雌雄各群各時点5例のマウスに強制経口投与した。動物を投与約24, 48 または 72 時間後に安楽死させ、骨髄を摘出した。摘出した骨髄細胞について、多染性赤血球対正染性赤血球比 (PCE : NCE) およびPCE中の小核の存在を評価した。シクロホスファミド (80 mg/kg) を陽性対照として用いた (ただし、投与24時間後の時点のみとした)。

死亡が800 mg/kgでみられた。骨髄細胞に対する毒性が200 または 800 mg/kgの雄または雌の1時点以上でみられた。しかし、いずれの用量、いずれの時点でも小核の増加はみられなかった。一方、陽性対照および陰性対照 (溶媒) では予想通りの成績が得られた。

2.6.6.5 がん原性試験

2011年に実施した医薬品医療機器総合機構との対面助言において、Tg.ACマウスを用いたがん原性試験の妥当性およびラットを用いたがん原性試験の成績について討議した。対面助言の議事録を「4.3 参考文献」の項に添付する。

2.6.6.5.1 ブプレノルフィン遊離塩基の Tg.AC マウスにおける 26 週間経皮投与がん原性試験 (BUP-P-012, 4.2.3.4.1.1)

本試験の目的は、ブプレノルフィン遊離塩基のアセトン溶液をTg.ACトランスジェニックマウスに毎日、26週間皮膚塗布したときに、皮膚腫瘍の発生率が増加するか否かを評価することであった。また、その他の器官での毒性または発がん性を評価するため、病理組織学的検査を実施した。本試験では、Tg.ACマウスを用いた主試験に加えて、FVB/Nマウスを用いたTK試験を実施した。FVB/Nマウスは、Tg.ACマウスの遺伝的背景を有していることから選択した。試験計画を表2.6.6.5.1.1に示す。

主試験は、溶媒対照の1群 (群1)、陽性対照の1群 (群2) および被験物質投与の4群 (群3～群6) から構成されていた。TK試験は、溶媒対照の1群および被験物質投与の4群から構成されていた。陽性対照群には、1.25 µgのTPA (12-O-テトラデカノイルホルボール 13-アセテート) のアセトン溶液

を 0.1 mL の投与容量で週 3 回皮膚塗布した。その他の動物には、アセトンまたは被験物質溶液のいずれかを 6.7 μ L/g の投与容量で 26 週間、毎日皮膚塗布した。被験物質投与の 4 群のマウスには、ブプレノルフィン を 18.75, 37.5, 150 または 600 mg/kg/日の用量で投与した。血漿中濃度の分析のため、血液試料を FVB/N マウス (TK 試験) から種々の時点で採取した。用量は、用量設定試験 (BUP-P-011 ; 4.2.3.2.2) の成績およびブプレノルフィン遊離塩基のアセトンへの溶解度および投与部位の皮膚から滴り落ちない投与容量に基づいて設定した。

一般状態変化の評価、皮膚腫瘍の計数および皮膚刺激性の観察を毎週実施した。皮膚腫瘍は、大きさが直径 2 mm に到達し、表面から隆起したときに「潜在的」、また 3 週間連続して計数可能を維持したときに「実在」と判定した。陽性対照動物は、「実在」する乳頭腫が 20 以上となったとき屠殺した。

試験終了時 (投与 183 日目～184 日目) に生存していた主試験の全動物を剖検し、所定の器官重量を測定した。生存していたおよび途中死亡した主試験用の全動物について、試験計画書で示された器官/組織および剖検で病変を示したすべての器官/組織を採取し、病理組織学的検査に供した。

表 2.6.6.5.1.1 試験計画

群	主試験での動物数 (Tg.AC)		TK試験での動物数 (FVB/N)	
	雄	雌	雄	雌
群 1 溶媒対照	25	25	8	8
群 2 陽性対照, TPA (1.25 μ g) のアセトン溶液 を週 3 回塗布	20	20	-	-
群 3 低用量 (18.75 mg/kg/日)	30	25	34	28
群 4 中間低用量 (37.5 mg/kg/日)	30	25	34	28
群 5 中間高用量 (150 mg/kg/日)	30	25	34	28
群 6 高用量 (600 mg/kg/日)	30	25	34	28
合計	165	145	144	120

主試験の群 1, 群 2, 群 3, 群 4, 群 5 および群 6 の雄ではそれぞれ 1/25, 3/20, 3/30, 3/30, 3/30 および 7/30 例, 雌ではそれぞれ 2/25, 5/20, 3/25, 4/25, 6/25 および 5/25 例が死亡した。主試験の一部のブプレノルフィン投与群の死亡率は、統計学的に有意ではなかったが、対照群に比較して増加していた。しかし、死因と投薬との関連性を示唆する傾向はみられなかった。もっとも多い死因の分類は「不明」であった。被験物質を投与した TK 用動物の試験終了時までの死亡は、群 1, 群 3, 群 4, 群 5 および群 6 の雄ではそれぞれ 0/8, 4/22, 4/22, 8/22 および 10/22 例, 雌ではそれぞれ および 0/8, 6/16, 9/16, 10/16 および 16/16 例であった。雌の高用量の 2 群 (150 mg/kg/日群 および 600 mg/kg/日群) の死亡率は、溶媒対照と比較して統計学的に有意であった。死亡に対す

る感受性はFVB/Nマウスの方がTg.ACマウスより、またその中でも雄より雌の方が高かった。死亡率がFVB/Nマウスにおいて増加したとブプレノルフィン投与との関連性は不明であり、また、Tg.ACマウスに比べて用量の増加による死亡率の増加の程度が小さかったこと、および主試験用動物の投薬群において死亡率の増加を説明できる病理組織学的所見（腫瘍性または他の病変）がみられなかったことから、その毒性学的な意義も不明である。

主試験の投薬群では、一般状態、体重、体重増加量、摂餌量および腫瘍数を生存中に検査した。投薬に関連する一般状態変化として、脱水（雄の投薬全群）、粗毛ならびに経皮投与部位に腫瘍およびアトニーが投薬全群の雌雄でみられた。投与部位の皮膚に被験物質の沈殿（雌雄）および皮毛の汚れ（雄）が投薬に関連してみられたが、毒性を示唆するものではなかった。体重または体重増加量に対する被験物質投与の影響は雌雄ともにみられなかった。摂餌量に対する被験物質投与の影響は雄ではみられなかったが、雌の群4～群6での総摂餌量の減少（溶媒対照群より約7.0%～9.0%低値）は被験物質投与に関連している可能性があった。

群1、群2、群3、群4、群5、群6で、計画または最終屠殺時まで生存していた動物において皮膚の投与部位に皮膚腫瘍が発生したマウス数は、雄ではそれぞれ2/25、16/20、2/30、4/30、2/30および3/29、雌ではそれぞれ2/25、18/20、3/25、0/25、0/25および1/23であった。陽性対照群（群2）では、腫瘍を有する動物数が雌雄ともに統計学的に有意に増加し、また、腫瘍の総数も雌雄ともに溶媒対照群（群1）に比較して統計学的に有意に増加したことから、本試験系の妥当性が確認された。腫瘍を有する動物数/群または腫瘍総数に関して、ブプレノルフィン投薬群と溶媒対照群（群1）との間に統計学的な有意差はみられなかった。

絶対または相対器官重量に対するブプレノルフィン投与の影響は雌雄ともにみられなかった。小結節または腫瘍が皮膚（投与部位またはその他の部位）または胃（剖検時）に散発的にみられたが、群あたりの発生率には投薬との関連性を示唆する傾向はみられなかった。病理組織学的検査では、リンパ腫、骨髄性白血病、皮膚若しくは胃に乳頭腫、歯原性の腫瘍または歯の過形成などの通常みられる増殖性の変化がみられた。さらに、いくつかの腫瘍性病変が散発的にみられたが、投薬との関連性を示唆する傾向はみられなかった。ブプレノルフィンの投与部位に乳頭腫がみられたが、用量依存性はなかった。これらの変化は、長期にわたる試験の無処置マウス、特にTg.ACマウスで通常みられるものである。

本試験での最大用量（600 mg/kg/日）でのブプレノルフィンの曝露量（AUC₀₋₆）は、海外健康成人を対象とした試験（5.3.1.1.1, 5.3.1.1.2: BP97-0501 試験）で最高用量であるBTDS 20 mgを投与した後の1日あたりの平均AUC（AUC_{day} = 7.756 ng•h/mL）の185～437倍高かった。

結論として、ブプレノルフィン遊離塩基を18.75、37.5、150および600 mg/kg/日の用量でTg.ACトランスジェニックマウスに26週間、毎日皮膚塗布しても、投与部位の皮膚またはその他の器官系いずれにおいても腫瘍の発生率の増加はみられなかった。

2.6.6.5.2 ブプレノルフィン遊離塩基のラットにおける 2 年間経皮投与がん原性試験 (BUP-N-004, 4.2.3.4.1.2)

本試験の当初の目的は、被験物質であるブプレノルフィン遊離塩基をCrI:CD (SD) IGS BRラットの皮膚に 1 日 1 回、少なくとも 104 週間塗布し、そのがん原性を評価することであった。しかし、評価に必要な適切な動物数を確保するため、少なくとも 99 週間毎日投与した後の投与 100 週目に最終剖検した。試験計画を表 2.6.6.5.2.1 に示す。

当初、低用量群、中用量群および高用量群用の投与溶液は、それぞれ 10, 30 および 100 mg/mL になるよう調製し、動物に投与した。しかし、100 mg/mL 溶液で、ブプレノルフィンの沈殿が散発的に発生したため、投与 178 日目以降の高用量群用の投与溶液の濃度を 90 mg/mL に低下させた。ただし、動物への投与容量を調整することによって用量を維持した。本試験で用いた用量は、試験NDSE-581-GLP (4.2.3.2.5) の成績に基づいて設定した。

皮膚へのアセトン塗布に起因する所見として、雄では投与 70 週目以降、雌では投与 50 週目から 70 週目の間の死亡率が無処置対照群よりわずかに高くなった。ただし、雌での死亡率は投与 70 週目以降低下した。無処置対照群と比較して皮膚へのアセトン塗布によって発生率が高くなった所見は、散発的な痙攣 (雄)、頭位傾斜 (雌)、円背位 (雌)、削瘦 (雌)、整った被毛 (雌)、生殖器に赤色分泌物 (雌)、皮膚の赤色化 (雄)、後肢足蹠にびらん/痂皮または腫張 (雄)、後肢の腫張 (雄)、後肢足蹠の皮膚の赤色化 (雌)、および単径部に腫瘤 (雌) であった。逆に発生率が低くなった所見は、粗毛 (雄)、接触に対する過敏性 (雌)、赤色の眼漏 (雌) および呼吸不整 (雌) であった。

表 2.6.6.5.2.1 試験計画

群	動物数		被験物質	用量 (mg/kg/日)	投与 間隔	投与濃度 (mg/mL)	投与容量 (mL/kg/日)
	雄	雌					
毒性検討用動物							
1	65	65	無処置	0	—	0	0
2	65	65	溶媒	0	毎日	0	2
3	65	65	ブプレノルフィン	20	毎日	10	2
4	65	65	ブプレノルフィン	60	毎日	30	2
5	65	65	ブプレノルフィン	200	毎日	100/90 ^c	2/2.22 ^c
TK用動物							
6 ^a	5	5	溶媒	0	毎日	0	2
7 ^b	12	12	ブプレノルフィン	20	毎日	10	2
8 ^b	12	12	ブプレノルフィン	60	毎日	30	2
9 ^b	12	12	ブプレノルフィン	200	毎日	100/90 ^c	2/2.22 ^c
汚染モニター用動物							
10	10	10	d	d	d	d	d

— : 該当せず

^a TK用試料を雌雄各時点 5 例の動物から採取した。

^b TK用試料を雌雄各時点 3 例の動物から採取し、他の雌雄各時点 3 例の動物は死亡発生で必要となったときに供する追加動物とした。

^c 群 5 および 9 では、投与 1 日目から 177 日目まで、投与濃度は 100 mg/mL、投与容量は 2 mL/kg としたが、投与 178 日目以降の投与濃度は 90 mg/mL、投与容量は 2.22 mL/kg/日とした。

^d 汚染モニター用動物には投与しなかった；雌雄各 5 例を対照群用飼育室に収容し、雌雄各 5 例を群 3、群 4 および群 5 用飼育室に収容した。

無処置およびアセトン投与の対照群に比較して、ブプレノルフィン投与の1群以上の群で雌雄ともに発生率が顕著に高くなった所見として、整った被毛、攻撃的な行動、生殖器に赤色分泌物、後肢足蹠の異常（皮膚の赤色化、びらん/痂皮または腫張）および後肢の腫張がみられた。単径部の腫瘍の発生率が60および200 mg/kg/日群の雌で高くなった。これらのアセトンまたはブプレノルフィン投与によりみられた所見と発がん性との関連性はなかった。

投与92週目にみられた眼科学的検査での異常の発生率および所見は、高齢のラットに特有の変化であり、いずれもブプレノルフィン投与に起因しないと判断した。

試験に用いた動物の死亡率に関するデータを表2.6.6.5.2.2および2.6.6.5.2.3に示す。雄では、対照群1と対照群2とでは有意差はみられなかったが、群3（20 mg/kg/日）の死亡率は対照群2より有意に高値であった（表2.6.6.5.2.2）。雌では、対照群1と対照群2とでは有意差はみられなかったが、群4（60 mg/kg/日）の死亡率は対照群2より有意に高値であった（表2.6.6.5.2.3）。しかし、ブプレノルフィン投与に関連した毒性学的に意義のある死亡率の傾向は雌雄ともにみられなかった。

血液化学的検査では、ブプレノルフィン投与群でいくつかの比較的軽度な変化がみられたが、発がん性の増加を示唆する変化ではなかった。変化は投薬全群でみられ、用量依存性はなかった。

表 2.6.6.5.2.2 死亡率の統計解析成績-雄

群 用量 (mg/kg/日)	1 0	2 0	3 20	4 60	5 200
死亡 (未補正)	43/65	51/65	54/65	44/65	50/65
死亡率	(0.662)	(0.785)	(0.83)	(0.677)	(0.769)
死亡率 (補正後)					
カプラン・マイヤー推定値 (最終値)	0.662	0.785	0.831	0.677	0.769
標準誤差	0.059	0.051	0.047	0.058	0.052

	Cox-Tarone検定	Gehan-Breslow検定
群1対群2のp値 (片側)	0.0576 +	0.0624 +
群2対群3～5のp値 (片側)	0.2207 -	0.2316 -
群2対群3のp値 (片側)	0.0461 +*	0.0108 +*
群2対群4のp値 (片側)	0.2151 -	0.2877 -
群2対群5のp値 (片側)	0.4697 +	0.3989 +

+ : 増加の方向への影響

- : 減少の方向への影響

* : 5.0%レベルで有意

表 2.6.6.5.2.3 死亡率の統計解析成績-雌

群 用量 (mg/kg/日)	1 0	2 0	3 20	4 60	5 200
死亡 (未補正)	44/65	42/65	48/65	53/65	45/65
死亡率	(0.677)	(0.646)	(0.738)	(0.815)	(0.692)
死亡率 (補正後)					
カプラン・マイヤー推定値 (最終値)	0.677	0.646	0.738	0.815	0.703
標準誤差	0.058	0.059	0.055	0.048	0.057

	Cox-Tarone検定	Gehan-Breslow検定
群 1 対群 2 のp値 (片側)	0.4254 -	0.4891 +
群 2 対群 3~5 のp値 (片側)	0.1283 +	0.1377 +
群 2 対群 3 のp値 (片側)	0.1115 +	0.1267 +
群 2 対群 4 のp値 (片側)	0.0227 +*	0.0493 +*
群 2 対群 5 のp値 (片側)	0.1976 +	0.1623 +

+: 増加の方向への影響

-: 減少の方向への影響

*: 5.0%レベルで有意

剖検では、ブプレノルフィン投与の動物で足蹠の病変の発生率が高かった。投与開始週から投与 53 週目まで、慢性かつ活動性の炎症を伴う尿管の拡張の発生率が 60 mg/kg/日群または 200 mg/kg/日群の雌で高かった。また、投与開始週から投与 53 週目まで、膀胱および前立腺内の出血の発生率も被験物質投与の雄の全群で高かった。しかし、それ以外の期間では、上記変化はみられなくなった。腎乳頭壊死が被験物質投与の雄でみられたが、いずれの対照群でもこの所見はみられなかった。これらの所見の病因は不明であるが、腫瘍性変化と関連することはなかった。

腫瘍の発生に関しては、雄では、群 4 および群 5 (それぞれ 60 mg/kg/日群および 200 mg/kg/日群) の精巣で間質細胞の良性腫瘍が投薬に関連して増加し、変化は有意な正のトレンドを示した (表 2.6.6.5.2.4)。60 mg/kg/日群および 200 mg/kg/日群での上記腫瘍の発生率は、試験実施施設での背景値の上限よりそれぞれ 1.5%および 3%高かった。一方、群 3 (20 mg/kg/日) の発生率に対して投薬の影響はなく、また対照の 2 群での発生率は類似していた。

表 2.6.6.5.2.4 腫瘍発生率の統計解析成績

組織および病変	群 用量 (mg/kg/日)	未補正の生涯発生率				
		1	2	3	4	5
		0 (無処置)	0 (溶媒)	20	60	200
雄						
精巣, 間質細胞の良性腫瘍 (I)		1/65	0/65	0/65	5/65	6/65
群 1 対群 2 のp値 (片側)			—			
群 2 対群 3～5 のp値 (片側)			0.0012+**	—	0.0247+*	0.0030+**
雌						
副腎髄質, 良性クロム親和性細胞腫 (I)		3/65	2/62	10/65	9/65	7/64
群 1 対群 2 のp値 (片側)			—			
群 2 対群 3～5 のp値 (片側)			0.0935+	0.0145+*	0.0072+**	0.0419+*
副腎, 髄質, 悪性クロム親和性細胞腫 (I)		0/65	0/62	0/65	0/65	1/64
(選択基準に該当せず)						
副腎髄質, 良性/悪性クロム親和性細胞腫 (I)		3/65	2/62	10/65	9/65	8/64
群 1 対群 2 のp値 (片側)			—			
群 2 対群 3～5 のp値 (片側)			0.0618+	0.0145+*	0.0072+**	0.0297+*
多器官, 良性ポリープ, 子宮内膜間質 (I/F)		3/65	0/65	5/65	1/65	9/65
群 1 対群 2 のp値 (片側)			0.1669- (E)			
群 2 対群 3～5 のp値 (片側)			0.0015+ (E)	0.0041+**	—	0.0004+**
多器官, 悪性肉腫, 子宮内膜間質 (I/F)		0/65	0/65	1/65	1/65	1/65
(選択基準に該当せず)						
多器官, ポリープ/肉腫, 子宮内膜間質 (I/F)		3/65	0/65	6/65	2/65	10/65
群 1 対群 2 のp値 (片側)			0.1669- (E)			
群 2 対群 3～5 のp値 (片側)			0.0011+**	0.0018+**	0.5377+ (E)	0.0002+**

I: 偶発的腫瘍, F: 致死性腫瘍, P: 触診可能な腫瘍

+/-: 影響の増加/減少方向

*: 5.0%レベルで有意, **: 1.0%レベルで有意

(E): 正確確率検定

—: 該当せず

雌では、副腎髄質で良性のクロム親和性細胞腫ならびに良性および悪性を合算したクロム親和性細胞腫の発生率が被験物質投与の全 3 群で有意に高かった（表 2.6.6.5.2.4）。20 mg/kg/日群、60 mg/kg/日群および 200 mg/kg/日群での腫瘍の発生率は、試験実施施設での背景値の上限よりそれぞれ 3%、1.5%および 0.2%高かった。ただし、用量依存性が厳格には単調な増加を示さなかったため、本変化の正のトレンドは有意でなかった。群 5（200 mg/kg/日）では 1 例のみに悪性のクロム親和性細胞腫がみられた。また、良性子宮内膜間質ポリープならびにポリープと悪性間質肉腫を合算した発生率が増加した。これらは、20 mg/kg/日投与群および 200 mg/kg/日投与群で統計学的に有意であった。しかし、60 mg/kg/日群での増加は統計学的に有意でなかったため、用量依存性はみられなかった。この所見の毒性学的な意義は不明である。200 mg/kg/日群での合算した腫瘍の発生率は、試験実施施設での背景値の上限より 2.1%高かった。

ブプレノルフィンの投与に起因するその他の腫瘍性に関する所見は、検討した 3 用量（20, 60 および 200 mg/kg/日）のいずれにおいてもみられなかった。

ブプレノルフィンのTKパラメータを表 2.6.6.5.2.5 に示す。ブプレノルフィン遊離塩基を皮膚塗布によって雌雄ラットに経皮投与すると、20 から 200 mg/kg/日までの用量の増加にともなって、ブプレノルフィンおよび代謝物の全身曝露量は概して増加した。しかし、用量の増加に伴うC_{max}およびAUC₀₋₂₄の増加は、親化合物および代謝物ともに用量の増加比より低かった。反復投与後のブ

ブレノルフィンの $C_{\max}$ および AUC_{0-24} に一貫した性差はみられなかった。低用量群，中用量群および高用量群の投与53週目における曝露量(AUC_{0-24})は，海外健康成人を対象とした試験(5.3.1.1.1, 5.3.1.1.2: BP97-0501 試験)で最高用量であるBTDS 20 mgを投与した後の1日あたりの平均AUC ($AUC_{\text{day}} = 7.756 \text{ ng}\cdot\text{h/mL}$)の116~360倍であった。

ブブレノルフィンを反復投与すると，雌雄ともにブブレノルフィンがわずかに蓄積することが蓄積係数から示唆された。また，雄ではブブレノルフィンの反復投与によってノルブブレノルフィンが蓄積する傾向があった。ブブレノルフィンを雄に53週間投与すると，ノルブブレノルフィン-3 β -グルクロン酸抱合体は蓄積する傾向にあったが，ブブレノルフィン-3 β -グルクロン酸抱合体の蓄積は雌雄ともにみられなかった。

代謝物対親化合物の比から，ブブレノルフィン-3 β -グルクロン酸抱合体がブブレノルフィンの循環血中の主代謝物であることが示された。ブブレノルフィン-3 β -グルクロン酸抱合体濃度はブブレノルフィン濃度より高く，代謝物対親化合物の比は3.14~8.02の範囲にあった。循環血中のノルブブレノルフィンはブブレノルフィンの微量代謝物であり，本代謝物対親化合物の比は0.00533~0.0579の範囲にあった。ノルブブレノルフィン-3 β -グルクロン酸抱合体については，代謝物対親化合物の比は0.364~1.32の範囲にあり，本化合物はブブレノルフィンの中程度の代謝物であることが示された。

表 2.6.6.5.2.5 ラットにおける血漿中ブプレノルフィンのTKパラメータ

投与群	用量 (mg/kg/日)	性	C _{max} (ng/mL)	T _{max} (時間)	AUC _{0-t} (ng·h/mL)	AUC ₀₋₂₄ (ng·h/mL)	用量補正した AUC ₀₋₂₄	蓄積係数
投与 3 週	20	雄	51.3	1.00	747	747	37.3	—
		雌	36.5	12.0	686	686	34.3	—
	60	雄	62.3	0	1271	1271	21.2	—
		雌	78.1	12.0	1426	1426	23.8	—
	200	雄	136	12.0	2642	2642	13.2	—
		雌	147	12.0	2645	2645	13.2	—
投与 13 週	20	雄	42.8	12.0	953	953	47.6	1.28
		雌	38.3	1.00	689	689	34.4	1.00
	60	雄	69.7	1.00	1532	1532	25.5	1.21
		雌	119	0	1857	1857	30.9	1.30
	200	雄	125	12.0	2604	2604	13.0	0.986
		雌	145	12.0	2286	2286	11.4	0.864
投与 27 週	20	雄	54.8	12.0	1084	1084	54.2	1.45
		雌	37.8	12.0	766	766	38.3	1.12
	60	雄	82.7	4.00	1740	1740	29.0	1.37
		雌	106	4.00	1690	1690	28.2	1.19
	200	雄	136	12.0	2635	2635	13.2	0.997
		雌	117	12.0	2252	2252	11.3	0.851
投与 53 週	20	雄	61.8	12.0	1153	1153	57.6	1.54
		雌	66.3	4.00	900	900	45.0	1.31
	60	雄	80.2	1.00	1768	1768	29.5	1.39
		雌	104	0	1706	1706	28.4	1.20
	200	雄	120	1.00	2648	2648	13.2	1.00
		雌	199	2.00	2794	2794	14.0	1.06

— : 該当せず

2.6.6.6 生殖発生毒性試験

2.6.6.6.1 BTDS 貼付によるラットにおける受胎能および着床までの初期胚発生に関する試験 (NDSE-554-GLP, 4.2.3.5.1.2)

雌雄Sprague-Dawley CrI:CD (SD) IGS BRラットの受胎能および初期胚発生に及ぼすブプレノルフィンの影響を評価した。本試験では、BTDSを用いて、雌雄各群 25 例のラットにブプレノルフィンを 0 (無処置), 0 (プラセボ), 1.25, 5 または 20 mg/ラットの用量で投与した。使用前に各パッチのブプレノルフィンを含まない粘着層部分を切り取り、ブプレノルフィンを含む粘着層部分のみを動物に適用した。用量は、用量設定試験 (DSE-390, 4.2.3.5.1.1 ; DSE-418-GLP, 4.2.3.5.2.1) の成績に基づいて設定した。雄ラットへの投与は、交配のために同一群の雌と同居する 4 週間前から開始し、交配後も少なくとも 68 日間投与を継続した。雌ラットへの投与は、交配のために同一群の雄と同居する 2 週間から開始し、妊娠 7 日目 (妊娠 0 日 : 膣栓がみられた日) まで継続した。パッチは、3 日ごとに貼り替えて適用した。ただし、交配期間中は、各日の朝にパッチを貼付し、夜間の交配を妨げないようその日の遅くにパッチを除去した。パッチは、粘着性のあるラッピング材を用いて投与部位に固定した。生存性、体重、摂餌量、血液化学的検査、皮膚観察、性周期、精子検査、剖検、器官重量および胎児パラメータを含む所定の毒性パラメータを評価した。TKは、同一投与スケジュールで投与したサテライト群の動物を用いて評価した。

プラセボ対照群ならびに 1.25 mg/ラット群および 5 mg/ラット群の雄で死亡がみられた。無処置対照群または 20 mg/ラット群の雄では死亡は発生せず、雌ではいずれの群でも死亡はみられなかった。死亡に用量依存性がなかったことから、その死因は、不適切なラッピング操作（ラッピングによる過度の締め付け）による二次的なものであると判断した。

ブプレノルフィンを投与した雄および雌ラットの一般状態所見として、接触に対する過敏性、ケージ受け皿に帯赤色の液、糞便量の減少/糞便の小型化、口の周囲に黒色物質の付着、攻撃性の亢進、異常発声、軟便および指の欠落がみられた。プラセボ群および投薬群において用量依存性がなくみられたその他の一般状態所見は、不適切なラッピング操作による二次的な変化であると判断した。皮膚所見として、ごく軽微から明らかな紅斑、ごく軽微な浮腫、落屑およびラッピングによる刺激（パッチの貼付部位の外側）がみられた。これらの皮膚所見は、貼付投与した全群でみられ、用量依存性がなかったことから、投薬に関連したものではないと判断した。体重および摂餌量の減少が貼付投与の全群でみられたが（無処置対照群との比較）、用量依存性はなく、これらの変化もラッピング操作による二次的な変化であると判断した。

剖検では、貼付投与の全群の雄で心臓に灰色の領域、腋窩リンパ節の腫張および肝臓所見がみられたが、用量依存性はなく、ラッピング操作に伴う二次的な変化であると判断した。前立腺、精囊、精巣および精巣上体重量の減少が貼付投与の全群の雄でみられたが、用量依存性はなかった。

精子パラメータ（精子数、運動性、形態）に関して、投薬に関連した影響はみられなかった。プラセボ群および投薬群の平均性周期は 4.3～4.7 日の範囲であったが、本試験の無処置対照群および過去の対照群の背景値は約 4 日であった。性周期に用量依存性はなく、ラッピング操作が性周期に影響を及ぼした可能性が示唆された。また、貼付投与の全群の非妊娠雌数が無処置対照群より多かったが、用量依存性はなく、剖検でも明確な所見はみられなかった。胎児パラメータに関して、投薬に関連した影響はみられなかった。

ブプレノルフィンの平均 C_{max} および AUC_{0-72} は、雄では用量の増加比より低く増加したのに対して、雌では用量の増加比を超えて増加する傾向にあった。1.25 mg/ラット群、5.0 mg/ラット群および 20.0 mg/ラット群における平均 C_{max} は、雄ではそれぞれ 7.84, 31.3 および 78.5 ng/mL であり、雌ではそれぞれ 3.14, 25.8 および 125 ng/mL であった。また、これらの群の AUC_{0-72} は、雄ではそれぞれ 250, 908 および 2337 ng•h/mL、雌ではそれぞれ 144, 871 および 3538 ng•h/mL であった。高用量群 (20 mg/ラット) での雄および雌での 1 日あたりの AUC (AUC_{day} : 各々 779 および 1179 ng•h/mL) と、海外健康成人を対象とした試験 (5.3.1.1.1, 5.3.1.1.2: BP97-0501 試験) で最高用量である BTDS 20 mg を投与した後の C_{max} の平均値 (0.471 ng/mL) および AUC_{day} (7.756 ng•h/mL) とを比較すると、 C_{max} はそれぞれ 167 および 265 倍であり、 AUC_{day} はそれぞれ 100 および 152 倍であった。

BTDS の貼付によって経皮投与したときの生殖に対する影響の無毒性量は 20 mg/ラットであると判断した。

2.6.6.6.2 BTDS の貼付または塩酸ブプレノルフィンの皮下投与によるラットにおける出生前および出生後の発生ならびに母体の機能に関する用量設定試験 (DSE-418-GLP, 4.2.3.5.2.1)

本用量設定試験の目的は、ラットにおける出生前および出生後の発生に関する重要な試験 (2.6.6.6.3 参照) での用量を設定するため、妊娠および授乳中のラットにブプレノルフィンを皮下注射またはBTDSの貼付により投与し、ブプレノルフィンの影響を検討することであった。本試験では、妊娠 20 日に安楽死させた雌で胎児の発生を評価するとともに、雌に出産させて授乳 21 日まで出生児を哺育したときの発育に及ぼす影響も検討した。

本試験の計画を表 2.6.6.6.2.1 および 2.6.6.6.2.2 に示す。

表 2.6.6.6.2.1 パッチ投与試験の試験計画

群	雌動物数	投与物質	用量 (mg/ラット)	貼付したパッチ数
1A	10	プラセボパッチ	0	1
2A	10	BTDS 5 mg	1.25	1/4
3A	10	BTDS 5 mg	2.5	1/2
4A	10	BTDS 5mg	5.0	1
5A	10	BTDS 10 mg	10.0	1

注：群 2Aの動物には、1.25 mg/ラットの用量で投与するため、5 mgパッチの 1/4 を投与した。群 3Aの動物には、2.5 mg/ラットの用量で投与するため、5 mgパッチの 1/2 を投与した。

表 2.6.6.6.2.2 皮下投与試験の試験計画

群	雌動物数	投与物質	用量 (mg/kg/日) ^{a,b}	投与濃度 (mg/mL) ^b	投与容量 (mL/kg)
1B	10	注射用滅菌水 (溶媒対照)	0	0	1
2B	10	ブプレノルフィン遊離塩基	1	1	1
3B	10	ブプレノルフィン遊離塩基	5	5	1

^a いずれの投与液も各動物の左右の肩甲骨部位に交互に皮下注射した。

^b 塩酸ブプレノルフィンの用量および濃度はブプレノルフィン遊離塩基量で表示する。

被験薬は、妊娠および授乳中の雌に投与した。各群 5 例の雌を妊娠 20 日に安楽死させ、帝王切開した。残余の各群 5 例の雌は出産させ、出生児を授乳 21 日まで哺育させた。試験には無処置対照群を含めなかった。

BTDSは3日ごとに貼り替えた。使用前に各パッチのブプレノルフィンを含まない粘着層部分を切り取り、ブプレノルフィンを含む粘着層部分のみを動物に適用した。パッチは、粘着性のあるラッピング材を用いて投与部位に固定した。皮下投与は1日1回実施した。妊娠20日に帝王切開する雌については、妊娠18日に投与を中止した。BTDS投与で出産させる雌については、授乳21日まで継続して投与したが、正常な出産と授乳の開始ができるように、妊娠21日にBTDS投与を中断し、授乳1日に再開した。皮下投与で出産させる雌については、授乳20日まで投与を中断しなかった。全身曝露量を評価するため、別途設けたサテライト群のラットを用い、BTDSまたは皮下投与でのTK試験を並行実施した。

パッチ投与試験の成績

BTDSの試験で出産させる予定であった雌1例が妊娠23日の出産前に死亡した。本例の剖検では、子宮頸部の閉塞によって自己融解した胎児が2例みられた。左子宮角には8胎児、右子宮角には9胎児が存在し、その一部の胎児は軽微から中等度に自己融解していた。しかし、その他の胎児の外表はすべて形態学的に正常であった。

鼻周囲に黒色物質が付着している発生率の増加ならびに発生率は低い。眼の蒼白化、透明の眼漏および口の周囲に黒色物質の付着がブプレノルフィン投与の全群の雌でみられ、ブプレノルフィン投与に関連すると判断した。ブプレノルフィン投与の全群で糞便量の減少の発生率が対照群より増加していた。糞便量の減少は、オピオイドで知られている薬理作用に起因すると考えられた。

一般状態所見として、自傷（四肢で指の欠落、口の開いた傷、腫脹および痂皮形成など）がブプレノルフィン投与の全群の雌でみられた。これらの所見はその他のオピオイドでの所見と一致しており、げっ歯類の常同行動によるものと判断した。ごく軽微から中等度の皮膚刺激性がプラセボおよびブプレノルフィン投与ラットのパッチ貼付部位にみられた。投与部位での皮膚刺激性の程度は、ブプレノルフィン群の雌で限局性または点状の痂皮が低い発生率でみられるのに対してプラセボ対照群ではみられないことを除いて、プラセボ貼付群とブプレノルフィン貼付群とではほぼ等しかった。

妊娠 20 日における 1.25 mg/ラット群, 2.5 mg/ラット群および 5.0 mg/ラット群の母動物の平均体重はプラセボ群より有意に低く (約 12%~13%), 10.0 mg/ラット群でも有意ではないが妊娠 20 日の体重はプラセボ群よりわずかに低かった (約 7%)。1.25 mg/ラット群, 2.5 mg/ラット群および 10.0 mg/ラット群の平均体重増加量は, 妊娠 18 日から 20 日の間はプラセボ群より低く, 5.0 mg/ラット群ではこの間の体重が低下した。しかし, 出産させた雌の授乳中の平均体重または体重増加量では有意な差はみられなかった。

剖検では, 同腹子が全死亡したため安楽死させた雌および妊娠 20 日および授乳 21 日にスケジュールに従って安楽死させるまで生存していた雌のいずれにおいても特記すべき所見はみられなかった。

黄体数, 着床数, 生存胎児数, 前期および後期吸収胚数, 着床後死亡, 胎児の性比, 胎児体重および妊娠子宮重量を含めて, 検査した生殖に関するパラメータに明らかな群間差はみられなかった。胎児の外表の奇形は, 10.0 mg/ラット群の 1 例の胎児にみられた小眼球および 5.0 mg/ラット群の 1 例の胎児にみられた浮腫に限定されていた。その他の胎児では外表奇形はみられなかった。無眼球および小眼球は, 試験実施施設の背景データにも報告されていた。

授乳 0 日の出生児生存率に明らかな群間差はみられなかった。しかし, 1.25 mg/ラット群および 2.5 mg/ラット群の出生児生存率は授乳 1 日に減少し, また授乳 4 日の淘汰前ではブプレノルフィン貼付の全群で減少した。授乳 4 日の淘汰前の出生児生存率は, 1.25 mg/ラット群, 2.5 mg/ラット群, 5.0 mg/ラット群および 10.0 mg/ラット群においてそれぞれ 80.6%, 58.8%, 90.3%および 65.4%であった。授乳 4 日の淘汰以降の出生児生存率は, 残りの全授乳期間を通して, 群間でほぼ等しかった。授乳 21 日の 10.0 mg/ラット群の出生児の平均体重は対照群より約 10%低値であった。しかし, 他の出生児の平均体重は, 授乳全期間を通して群間でほぼ等しかった。出生児の授乳期間中の所見および死亡発見された出生児の剖検において, 被験物質に起因する特記すべき変化はみられなかった。

皮下投与試験の成績

死亡はみられなかった。尿による汚れ, 四肢の蒼白化, 眼の蒼白化, 透明の眼漏, 黒色物質の付着 (眼, 鼻および口の周囲) および糞便の減少 (無便または糞便量の減少) の頻度が 1 mg/kg/日群および 5 mg/kg/日群で増加した。その他の一般状態所見として雌で自傷がみられたが, この変化はブプレノルフィンの薬理作用による変化であると判断した。1 mg/kg/日群および 5 mg/kg/日群の皮下注射部位では局所に変化がみられた。その主な所見である痂皮形成は用量に依存していた。

妊娠または授乳中の平均体重または体重増加量には, 毒性学的に意義のある群間差はみられなかった。剖検では, 注射部位に皮下出血, 黄褐色の部分, 白色の部分および痂皮形成などの局所の損傷がみられ, その程度は 5 mg/kg/日群で強かった。

黄体数, 着床数, 生存胎児数, 前期および後期吸収胚数, 着床後死亡, 胎児性比, 胎児体重および妊娠子宮重量を含む生殖に関するパラメータに明らかな群間差はみられなかった。対照群, 1 mg/kg/日群または 5 mg/kg/日群では, 胎児外表の奇形はみられなかった。

5 mg/kg/日群における授乳 0 日での出生児死亡率が対照群に比較して高かったが、その後の出生児生存率では群間差はみられなかった。出生児の観察では、5 mg/kg/日群において皮下出血の発生率が高かった。出生児でみられたその他の所見は、発生率が一般的に低く、また各群で散発的にみられるものであった。授乳期間中の出生児の平均体重を対照群と比較すると、1 mg/kg/日群では約 4%~11%、5 mg/kg/日群では約 10%~17%低値であった。出生児の平均体重でもっとも著しい差がみられたのは、1 および 5 mg/kg/日群ともに授乳 7 日であった。授乳期間中に死亡発見された出生児の剖検では、被験物質に起因する明確な所見はみられなかった。

TK

血液および乳汁試料を採取し、ブプレノルフィン濃度を測定した。妊娠 6 日から 15 日まで BTDS または皮下注射によってブプレノルフィンを投与した場合、ブプレノルフィンの曝露量は用量の増加比にほぼ比例して増加した。また、ブプレノルフィンの曝露量は皮下注射の方が BTDS より高かった。

BTDS または皮下注射をした母動物の出生児には微量のブプレノルフィンが検出された。授乳中に BTDS を貼付した場合、授乳 7 日の投与 49 時間および 73 時間後におけるブプレノルフィンの血漿中濃度は、妊娠 15 日の投与 48 時間および 72 時間後の濃度とほぼ等しかった。授乳中に皮下投与した場合、授乳 9 日の投与 2 時間および 5 時間後におけるブプレノルフィンの血漿中濃度は、妊娠 15 日の投与 1 時間および 4 時間後における濃度の約 1/2 であった。

ブプレノルフィンは、授乳中ラットの乳汁中にも検出された (2.6.4.6.2 参照)。しかし、乳汁試料は長期間保存された後分析されており、また保存期間中の乳汁中ブプレノルフィンの安定性は確認されていなかった。このため、そのデータは定性的にのみ評価可能と判断した。

以上の成績から、重要な試験での用量は、BTDS 貼付の場合は 1.25~20 mg/ラット、皮下投与での高用量は 5 mg/kg が適切であると判断した。

2.6.6.6.3 BTDS 貼付または塩酸ブプレノルフィンの皮下投与によるラットにおける出生前および出生後の発生ならびに母体の機能に関する試験 (NDSE-555-GLP, 4.2.3.5.2.2)

BTDS の貼付または皮下注射によってブプレノルフィンを妊娠ラットの着床から離乳まで投与し、ブプレノルフィンの発生に及ぼす影響を検討した。本試験では、F₀ 雌の出産および授乳ならびに F₁ 児の生存率、成長、発生、行動および生殖能等について検査した。試験は、パッチ貼付および皮下投与の主試験に加えて、それぞれの TK 試験を実施した。妊娠 0 日の雌ラットは約 90 日齢であった。BTDS の場合、使用前に各パッチのブプレノルフィンを含まない粘着層部分を切り取り、ブプレノルフィンを含む粘着層部分のみを動物に適用した。パッチは、粘着性のあるラッピング材を用いて固定した。パッチ貼付および皮下投与試験の計画を表 2.6.6.6.3.1 および表 2.6.6.6.3.2 に示す。

表 2.6.6.6.3.1 パッチ貼付試験の試験計画

群	雌動物数	投与物質	用量 (mg/ラット) ^a	貼付したパッチ数
1A	25	プラセボパッチ	0	1
2A	25	無処置	0	0
3A	25	BTDS (5 mg)	1.25	¼

^a 妊娠 6 日から授乳 21 日まで、パッチを 3 日に 1 回各動物に貼付した。

表 2.6.6.6.3.2 皮下投与試験の試験計画

群	雌動物数	投与物質	用量 (mg/kg/日) ^a	投与濃度 (mg/mL)	投与容量 (mL/kg)
1B	25	注射用滅菌水 (USP)	0	0	1
2B	25	塩酸ブプレノルフィン	0.05	0.05	1
3B	25	塩酸ブプレノルフィン	0.5	0.5	1
4B	25	塩酸ブプレノルフィン	5	5	1

^a 妊娠 6 日から授乳 21 日まで、1 日 1 回各動物に投与した。

F₀ 雌では、一般状態の毒性変化を毎日観察した。パッチ貼付の雌では貼付部位の皮膚所見を少なくとも週 1 回記録した。また、皮下投与では、試験の全期間を通して各投与 30 分後～2 時間後まで動物を観察し、注射部位の反応（紅斑、浮腫および潰瘍形成など）を記録した。パッチ貼付および皮下投与試験では、F₀ 雌の体重を妊娠および授乳中に定められた間隔で記録し、また F₀ 雌の摂餌量を妊娠期間中に定められた間隔で記録した。F₀ 雌は出産させ、出生児（F₁ 児）を哺育させた。F₁ 児の生存率、成長、発生の指標および行動を定められた間隔で評価した。F₀ 雌は、授乳期間終了後安楽死させて剖検した。雌雄各群 20 例の F₁ 動物を選択し、約 10 週齢に交配させた。F₁ 雌は出産させ、それらの出生児（F₂ 児）を授乳 21 日まで哺育させた。F₁ 雄は、出産完了後に安楽死させて剖検した。F₁ 雌および F₂ 児は、授乳期間完了後に安楽死させて剖検した。F₁ 動物は妊娠および授乳中に定められた間隔で体重を記録した。

全身曝露量を評価するため、TK用の血液試料を別途設定したサテライト動物から採取した。パッチ貼付のTK試験では、授乳 7 日の投与前、投与 12 時間および投与 48 時間後に各群 3 例の雌から採血し、また授乳 7 日の投与 6 時間後、24 時間および 72 時間後に各群 2 例の雌から採血した。皮下投与のTK試験では、授乳 9 日の投与前ならびに投与 4 時間および 12 時間後に各群 3 例の雌から採血し、また授乳 9 日の投与 1 時間、2 時間および 24 時間後に各群 3 例（可能な場合）の雌から採血した。TK用動物の体重は、妊娠および授乳中に定められた間隔で記録した。雌動物は出産させ、出生児の生存率および性別を定められた時点に記録した。同腹子がすべて死亡したため安楽死させた雌および死亡した出生児は、剖検せずに廃棄した。生存していた雌および出生児は、TK用に採血した後に安楽死させ、剖検せずに廃棄した。組織は保存しなかった。

パッチ投与試験の成績

死亡はみられなかった。1.25 mg/ラット群の F₀ 雌では、鼻および口の周囲に黒色物質の付着、頭部背面に黒色物質の付着ならびに尿による汚れの発生率が増加し、また、発生率は低いが見の蒼白

化、皮膚の蒼白化および眼漏がみられた。これらの所見は、ブプレノルフィン投与に関連すると判断した。糞便量の減少（糞便数の減少、無便および糞便の小型化）も 1.25 mg/ラット群のF₀ 雌でみられた。糞便量の減少は、オピオイドの薬理作用として知られている。さらに、一般状態では自傷を示す所見（前肢の腫脹、口の開いた傷および痂皮形成など）が 1.25 mg/ラット群のF₀ 雌でみられた。これらの所見は、オピオイドの薬理作用として知られている。

1.25 mg/ラット群のF₀ 雌では、ごく軽微から中等度の紅斑、落屑およびラッピングに用いた接着剤による明らかな刺激（主として貼付部位の外側）がみられ、その変化はプラセボパッチの対照群に類似していたが、程度は対照群より低かった。

F₀ 雌の平均体重または体重増加量には、プラセボパッチの対照群と 1.25 mg/ラット群との間に毒性学的に意味のある差はなかった。F₀ 雌の 1.25 mg/ラット群の妊娠 6 日～9 日の間の平均摂餌量は、プラセボパッチの対照群と比較して統計学的に有意に低かった。食欲の抑制は、オピオイドの薬理作用として知られており、1.25 mg/ラット群でみられた摂餌量の減少は薬理作用によるものと判断した。

F₀ 雌の 1.25 mg/ラット群の妊娠期間はプラセボパッチの対照群とほぼ等しかった。分娩時間の遅延または異常な営巣行動はみられなかった。F₀ 雌の剖検では意義のある所見はなかった。

1.25 mg/ラット群の平均出生F₁ 児数はプラセボパッチの対照群とほぼ等しかった。授乳中の 1.25 mg/ラット群で死亡、欠落または共食いされたF₁ 児数はプラセボパッチの対照群と比較して統計学的に有意に多かった。したがって、1.25 mg/ラット群で授乳 21 日まで生存したF₁ 児数は、プラセボパッチの対照群と比較して統計学的に有意に少なかった。しかし、授乳期間中の 1 腹当たりのF₁ 児数については、1.25 mg/ラット群とプラセボパッチの対照群との間で差はみられなかった。授乳 4 日および 7 日の 1.25 mg/ラット群におけるF₁ 児の平均体重は、プラセボパッチの対照群より統計学的に有意に低かった。しかし、授乳 21 日までに、1.25 mg/ラット群のF₁ 児の平均体重とプラセボパッチの対照群の体重との差は約 5%以内となった。

プラセボパッチの対照群と比較すると、1.25 mg/ラット群のF₁ 児で接触時の冷感および胃に乳汁なしの発生率が増加し、またF₁ 児の小型化が軽微に増加した。しかし、授乳 21 日のF₁ 児の剖検では、被験物質投与に起因する変化はみられなかった。

驚愕反射が 1.25 mg/ラット群で軽微に遅延したことを除いて、F₁ 児の発生指標またはオープンフィールド試験について、プラセボパッチの対照群と 1.25 mg/ラット群との間に差はみられなかった。F₁ の遊泳能力、学習または記憶想起は、プラセボパッチの対照群と 1.25 mg/ラット群との間で毒性学的に意味のある差はなかった。

選択されたF₁ 児の成長、成熟、妊娠または授乳中に死亡はみられず、また明らかな一般状態の変化はみられなかった。選択されたF₁ 児では、1.25 mg/ラット群の初期成長段階および成熟段階の平均体重はプラセボパッチの対照群より約 10%～11%より低くかった。ただし、平均体重の群間差は成長段階の最初の数週間で小さくなった。F₁ 児の成長段階の 32 日までの期間、妊娠およびF₂

に授乳中の全期間の平均体重は、1.25 mg/ラット群とプラセボパッチの対照群とでほぼ等しかった。

F₁ 動物の交尾率，受胎率，平均交尾前期間および平均妊娠期間は，プラセボパッチの対照群と1.25 mg/ラット群とでほぼ等しく，また分娩時間の遅延または異常な営巣行動はみられなかった。F₁ 親動物の剖検では，プラセボパッチの対照群または1.25 mg/ラット群ともに明確な所見はなかった。

1.25 mg/ラット群の出生F₂ 児数は，プラセボパッチの対照群と比較して統計学的に有意に少なく，また1.25 mg/ラット群のF₂ 死産児数は，プラセボパッチの対照群と比較して統計学的に有意に多かった。プラセボパッチの対照群と1.25 mg/ラット群の授乳期間中のF₂ 児の生存率，性比および平均体重はほぼ等しかった。1.25 mg/ラット群のF₂ 児では，発生率は低い指の欠落，部分的な尾の欠落，接触時の冷感および紫色化が授乳期間中にみられた。F₂ 児の剖検では意義のある所見はみられなかった。

皮下投与試験の成績

5 mg/kg/日群のF₀ 雌の1例が妊娠11日に死亡した。本例の剖検では，腎臓および膀胱での所見がみられた。投薬したその他の雌では同様の所見はみられなかったが，本薬との関連性は否定できなかった。その他の死亡はみられなかった。F₀ 雌の0.05 mg/kg/日群，0.5 mg/kg/日群および5 mg/kg/日群の生存例では，用量に依存して，以下の一般状態所見がみられた。すなわち，糞便量の減少または無便；糞便の小型化；皮膚の蒼白化；眼の蒼白化；眼，鼻および口の周囲に黒色物質の付着；前肢の腫脹；前肢に痂皮；前肢または腹側頸部に口の開いた傷；脱毛；指の欠落；尿による汚れ；眼漏；ケージ/受け皿に帯赤色の液；ハンドリング時に硬直化；投与後に前肢を噛む；活動性の低下；腹部膨満；ならびに体の種々の部位に帯赤色または帯褐色の汚れがみられた。糞便量の減少は，オピオイドで知られている薬理作用と一致する。前肢を噛むことおよび自傷を示す所見（前肢の腫脹，前肢に痂皮，前肢に口の開いた傷および指の欠落など）は，他のオピオイドでの所見と一致する。これらの所見は，副次的薬理作用によるものであると判断した。

5 mg/kg/日群のF₀ 雌の注射部位で認められた皮膚所見は，痂皮および口の開いた傷であった。

0.05 mg/kg/日群，0.5 mg/kg/日群および5 mg/kg/日群のF₀ 雌では，妊娠および授乳中の平均体重が対照群と比較して統計学的に有意に低値であったが，体重差に用量依存性はみられなかった。

0.05 mg/kg/日群，0.5 mg/kg/日群および5 mg/kg/日群のF₀ 雌における妊娠6日～18日の平均摂餌量は，対照群と比較して統計学的に有意に低値であった。食欲の抑制は，オピオイドの薬理作用として知られており，その二次的作用として摂餌量が抑制したと考えられた。

0.05 mg/kg/日群，0.5 mg/kg/日群および5 mg/kg/日群のF₀ 雌における平均交尾前期間，妊娠期間および受胎率は対照群とほぼ等しかった。分娩時間の遅延または異常な営巣行動はみられなかった。生存していたF₀ 雌の剖検でもっとも顕著であった所見は，対照群，0.05 mg/kg/日群，0.5 mg/kg/日群および5 mg/kg/日群における注射部位の皮下出血の用量に依存した増加，0.5 mg/kg/日群および5 mg/kg/日群における指の欠落ならびに5 mg/kg/日群における注射部位の痂皮形成であった。

5 mg/kg/日群の出生F₁児数は対照群と比較して統計学的に有意に少なく、また0.5 mg/kg/日群および5 mg/kg/日群のF₁死産児数は対照群と比較して統計学的に有意に多かった。一方、0.5 mg/kg/日群の出生F₁児数は対照群と比較して統計学的に有意に多かった。5 mg/kg/日群の1腹当たりの生存F₁児数の平均は、授乳0, 1および4日では対照群と比較して統計学的に有意に少なかったが、授乳21日では対照群とほぼ等しくなった。F₁児の平均体重は、0.5 mg/kg/日群では授乳1日および4日、5 mg/kg/日群では授乳1, 4, 7, 14および21日に対照群と比較して統計学的に有意に低値であった。

授乳期間中のF₁児の一般状態での所見として、0.5 mg/kg/日群および5 mg/kg/日群で皮膚の蒼白化がみられ、また接触時の冷感および皮下出血の発生率が増加した。5 mg/kg/日群では、あえぎ、紫色化および痂皮の発生率が増加した。しかし、授乳21日のF₁児の剖検では被験物質投与に起因した変化はみられなかった。

驚愕反射が5 mg/kg/日群でわずかに遅延したことを除いて、F₁児の発生指標またはオープンフィールド試験データに群間差はみられなかった。F₁児の学習試行において、5 mg/kg/日群のF₁雄の試行4での平均過誤数が対照群と比較して統計学的に有意に多く、その値は試験実施施設での背景値の範囲外にあった。その他、F₁の遊泳能力、学習または記憶想起では、対照群と投薬群との間に毒性学的に意味のある差はなかった。

選択されたF₁児の成長、成熟、妊娠または授乳中に被験物質投与に関連する死亡または一般状態の毒性変化はみられず、また毒性学的に意味のある平均体重または体重増加量の差はみられなかった。

F₁動物の交尾率、受胎率、平均交尾前期間および平均妊娠期間については、対照群と被験物質投与群との間に差はみられず、また分娩時間の遅延または異常な営巣行動はみられなかった。F₁親動物の剖検では、対照、0.05 mg/kg/日群、0.5 mg/kg/日群および5 mg/kg/日群ともに明確な所見はなかった。

対照群、0.05 mg/kg/日群、0.5 mg/kg/日群および5 mg/kg/日群の総出産F₂児数の平均値、出生児数および死産児数はほぼ等しかった。さらに、授乳期間中の1腹当たりのF₂生存児数の平均、F₂児の生存率およびF₂児の平均体重は対照群と被験物質投与群との間に差はみられなかった。授乳期間中のF₂児の一般状態では顕著な所見はなく、またF₂児の剖検でも意義のある所見はなかった。

TK

授乳7日にBTDS 1.25 mg/ラットを投与したときのC_{max}は4.84 ng/mL、t_{max}は投与12時間後および平均AUC₀₋₇₂は149 ng•h/mLであった。

授乳9日に0.05, 0.5および5 mg/kg/日の塩酸ブプレノルフィン投与したときのブプレノルフィンのC_{max}はそれぞれ0.964, 21.5および95.3 ng/mL、t_{max}はいずれの投与群でも投与1時間後であった。AUC₀₋₂₄はそれぞれ3.69, 104および720 ng•h/mLであった。補正したAUCに基づく、ブプレノルフィンの曝露量は用量の比を超えて増加した。

結論

1.25 mg/ラットのブプレノルフィンのパッチの貼付によって投与すると、薬理作用に起因する変化、すなわち一般状態の悪化および摂餌量の減少で特徴付けられる毒性がF₀母動物でみられた。また、1.25 mg/ラット投与群のF₀母動物の交尾前期間、妊娠期間もしくは生殖能に影響はみられず、分娩時間の遅延または異常な営巣行動はみられなかった。1.25 mg/ラット群ではF₁児で生存率および体重減少の軽微な発生毒性がみられた。また、1.25 mg/ラット群の出生F₂児数はプラセボパッチの対照群と比較して統計学的に有意に少なく、1.25 mg/ラット群のF₂死産児数はプラセボパッチの対照群と比較して統計学的に有意に多かった。また、授乳期間中のF₂児では一般状態所見が増加した。したがって、F₀母動物の一般毒性および生殖能に対する無毒性量は1.25mg/ラット、F₁児の発生および生殖能に対する無毒性量は1.25 mg/kg/日未満であると判断した。

塩酸ブプレノルフィンを皮下投与すると、0.05 mg/kg/日群、0.5 mg/kg/日群および5 mg/kg/日群のF₀母動物では薬理作用で特徴付けられる一般状態の変化がみられた。わずかな摂餌量の減少および体重の減少がみられたが、用量依存的ではなかった。5 mg/kg/日群の一般状態の変化の頻度から母動物の一般毒性に対する無毒性量は0.5 mg/kg/日と考えられる。生殖能および発生毒性として、F₁死産児数の増加ならびに授乳期間中のF₁児で体重の減少および一般状態所見の増加が0.5 および5 mg/kg/日の用量でみられた。したがって、F₀母動物の生殖能および次世代の発生に対する無毒性量は0.05 mg/kg/日、F₁児の生殖能に関する有害作用は見られなかったことから次世代の生殖能に対する無作用量として5 mg/kg/日であると判断した。

2.6.6.6.4 BTDS の貼付または塩酸ブプレノルフィンの皮下投与によるラットにおける胚および胎児発生に関する試験 (NDSE-527-GLP, 4.2.3.5.3.1)

BTDSを貼付または塩酸ブプレノルフィンを皮下注射することによって妊娠Sprague-Dawley Crl:CD (SD) IGS BRラットに投与し、その胚・胎児発生に及ぼす影響を検討した。本試験の用量は、用量設定試験 (DSE-390, 4.2.3.5.1.1 ; DSE-418-GLP, 4.2.3.5.2.1) の成績に基づいて設定した。各群25例の雌にBTDSを0 (無処置)、0 (プラセボ)、1.25、5若しくは20 mg/ラットの用量で妊娠6日から18日まで貼付 (BTDSは妊娠18日に除去) または塩酸ブプレノルフィンを0 (注射用滅菌水) 若しくは5 mg/kg/日の用量で妊娠6日から17日まで皮下注射した。BTDSの場合、使用前に各パッチのブプレノルフィンを含まない粘着層部分を切り取り、ブプレノルフィンを含む粘着層部分のみを動物に適用した。パッチは3日ごとに貼り替え、粘着性のあるラッピング材を用いて投与部位に固定した。所定の毒性パラメータを評価し、妊娠20日にすべての動物を安楽死させ、帝王切開した。外表、骨格および内臓について変異および奇形を肉眼的に観察することを含めて、所定の胎児パラメータを評価した。さらに、別群として各用量12例の動物に同一方法で投与し、薬物濃度の分析のために血漿を採取した。

いずれの群でも死亡はみられなかった。ブプレノルフィン投与全群の母動物で、常同行動、一般状態の悪化、母動物の投与期間を通した体重増加量の減少、摂餌量の減少、糞便量の減少および皮膚刺激性が1群以上の母動物でみられた。摂餌量に対する影響および糞便量の減少はブプレノルフィンの薬理作用と一致する。平均黄体数、着床数、着床前胚死亡率、生存胎児数、前期および後期吸収胚数、着床後死亡率、胎児の平均体重、および妊娠子宮の平均重量などの生殖に関するパラメータでは毒性学的に意味のある差はみられなかった。胎児の奇形または胎児発生の変異

はみられなかった。

20 mg/ラットのBTDSを貼付した妊娠 15 日のラットにおいて血漿中ブプレノルフィン濃度を測定したところ、 C_{max} および AUC_{0-72} はそれぞれ 62.1 ng/mLおよび 1993 ng·h/mLであった。妊娠 17 日目の 5 mg/kgを皮下注射したラットでは、 C_{max} および AUC_{0-24} はそれぞれ 148 ng/mLおよび 1106 ng·h/mLであった。

20 mg/ラットのBTDSを貼付したとき（妊娠 15 日目）の C_{max} （62.1 ng/mL）および 5 mg/kgを皮下注射したとき（妊娠 17 日目）の C_{max} （148 ng/mL）は、海外健康成人を対象とした試験（5.3.1.1.1, 5.3.1.1.2: BP97-0501 試験）で最高用量であるBTDS 20 mgを投与した後の C_{max} の平均値（0.471 ng/mL）のそれぞれ 132 倍および 314 倍であった。貼付後の 1 日あたりの AUC_{day} （664 ng·h/mL）もしくは皮下注射後の AUC_{0-24} （1106 ng·h/mL）は、海外健康成人における 1 日あたりの平均 AUC （ $AUC_{day} = 7.756$ ng·h/mL）のそれぞれ 86 倍および 143 倍であった。

以上、器官形成期にある妊娠ラットにブプレノルフィンを投与しても、発生毒性を示す知見は得られなかった。発生に対する無作用量および母動物の無毒性量ともに、BTDSの貼付では 20 mg/ラット、皮下注射では 5 mg/kg/日と判断した。

2.6.6.6.5 BTDS の貼付または塩酸ブプレノルフィンの皮下投与によるニュージーランドホワイトウサギにおける胚および胎児発生に関する試験（NDSE-528-GLP, 4.2.3.5.3.3）

BTDSを皮膚に貼付または塩酸ブプレノルフィンの皮下注射することによって妊娠ニュージーランドホワイトウサギにブプレノルフィンを投与し、その胚・胎児発生に及ぼす影響を検討した。本試験の用量は、用量設定試験（DSE-395, 4.2.3.5.3.2）の成績に基づいて設定した。各群 20 例の妊娠雌に 0（無処置）、0（プラセボ）若しくは 80 mg/ウサギの用量のBTDSを妊娠 6 日から 20 日まで貼付（パッチは妊娠 20 日に除去）または 0（注射用滅菌水）0.1, 1 若しくは 5 mg/kg/日の用量の塩酸ブプレノルフィンを妊娠 6 日から 19 日まで皮下注射した。BTDSの場合、使用前に各パッチのブプレノルフィンを含まない粘着層部分を切り取り、ブプレノルフィンを含む粘着層部分のみを動物に適用した。パッチは妊娠 6, 9, 12, 15, 18 および 19 日に貼り替え、メリヤス製のジャケットおよび発泡スチロール製首かせを用いて投与部位に固定した。皮下注射は 1 日 1 回実施した。所定の毒性パラメータを評価した。妊娠 29 日に、すべての動物を安楽死させ、帝王切開した。外表、骨格および内臓について変異および奇形を肉眼的に観察することを含めた所定の胎児パラメータを評価した。さらに、別群として各用量 3 例の動物に同一方法で投与し、血漿中薬物濃度を分析するため採血した。

いずれの群でも死亡はみられなかった。皮下投与の 1.0 mg/kg/日群の 1 例で流産がみられた。ブプレノルフィン投与全群の母動物で、一般状態の悪化、摂餌量の減少、糞便量の減少および軽微な皮膚刺激性がパッチ投与の全動物でみられ、80 mg/ウサギ群ではその程度がわずかに強かった。摂餌量および糞便量の減少に対する作用はオピオイドの薬理作用と一致した。

平均黄体数、着床数、着床前胚死亡率、生存胎児数、前期および後期吸収胚数、着床後死亡率、

胎児の平均体重、および妊娠子宮の平均重量などの生殖に関するパラメータでは毒性学的に意味のある差はみられなかった。また、胎児の奇形または胎児発生の変異はみられなかった。

80 mg/ウサギのBTDSを貼付投与したウサギの血漿中薬物濃度を分析したところ、妊娠 6 日の C_{max} および AUC_{0-24} はそれぞれ 0.715 ng/mLおよび 1.09 ng•h/mLであり、また妊娠 19 日ではそれぞれ 9.31 ng/mLおよび 198 ng•h/mLであった。妊娠 6 日および 19 日の C_{max} は、BTDS 20 mgを投与したヒトにおける値のそれぞれ約 1.5 および 20 倍であった。同日の AUC_{0-24} はBTDS 20 mgを投与したヒトにおける値のそれぞれ約 0.14 および 26 倍であった。妊娠 19 日の方が血漿中濃度が高かったのは、投与期間中の蓄積、またはBTDSの継続的な貼付の結果である可能性が考えられた。5 mg/kg/日のブプレノルフィンを経口投与したときの血漿中薬物濃度を分析したところ、妊娠 19 日の C_{max} および AUC_{0-24} はそれぞれ 72.0 ng/mLおよび 880 ng•h/mLであった。これらの値は、海外健康成人を対象とした試験（5.3.1.1.1, 5.3.1.1.2: BP97-0501 試験）で最高用量であるBTDS 20 mgを投与した後の C_{max} の平均値（0.471 ng/mL）および 1 日あたりの平均AUC（ $AUC_{day} = 7.756$ ng•h/mL）のそれぞれ 153 および 113 倍であった。皮下注射後の妊娠 6 日と妊娠 19 日の値はほぼ等しかった。

以上、器官形成期にある妊娠ウサギにブプレノルフィンを投与しても、発生毒性を示す知見は得られなかった。発生に対する無作用量および母動物の無毒性量ともに、BTDS貼付の場合は 80 mg/ウサギ、皮下投与の場合は 5 mg/kg/日と判断した。

2.6.6.7 局所刺激性試験

2.6.6.7.1 BTDS のウサギにおける皮膚一次刺激性試験（DSE-170-GLP, 4.2.3.6.1）

BTDSの皮膚刺激作用をニュージーランドホワイトウサギを用いて検討した。各用量各時点 3 例の剃毛した雄ウサギの背部に 1 枚のBTDS（5, 10 または 20 mg/ウサギ）を貼付し、半閉塞的な接着テープを用いて貼付部位に 4 時間または 3 日間固定した。反対側の背部には同一のサイズのプラセボパッチを貼付した。BTDSを除去した後、皮膚を約 1 時間後から 14 日間観察し、刺激の所見を評価した。プラセボ群およびBTDS群で軽微な刺激性がみられたが、用量依存性は明確でなかった。

2.6.6.7.2 Buehler 法による BTDS のモルモットにおける皮膚感作性試験（DSE-163-GLP, 4.2.3.6.2）

BTDSの皮膚感作性（遅延型接触過敏症）をHartleyモルモットを用いたBuehlerの方法に従って評価した。本試験では、1 枚のBTDS（2×2 cm, 約 3.2 mgのブプレノルフィンをBTDS 10 mg製剤から切り取った）を剃毛したモルモットの背部に週 1 回（6 時間貼付）、3 週間貼付した。2 週間休薬した後、BTDSを再貼付し、遅延型接触過敏症が惹起するかどうかを調べた。対照として、ジニトロクロロベンゼン（DNCB）感作/DNCB惹起、プラセボ感作/プラセボ惹起および無処置/BTDS惹起の対照群を設定した。BTDS感作群は雌雄各群 10 例、対照群はいずれも雌雄各群 5 例の動物を用いた。

死亡はみられなかった。BTDSを介してブプレノルフィンを投与した動物では、無処置/BTDS惹起およびプラセボ感作/プラセボ惹起の対照群と比較して、無反応から極軽微な皮膚反応を示すのみであった。DNCBを用いた陽性対照群では強い皮膚感作反応がみられた。これらの結果から、

BTDSは接触感作性物質でないと判断した。また、プラセボ感作/プラセボ惹起の反応が無処置/BTDS惹起の反応に類似していたことから、プラセボパッチも接触感作性物質ではないと判断した。

2.6.6.8 その他の毒性試験

2.6.6.8.1 ブプレノルフィン遊離塩基のマウスにおける31週間経皮投与試験および4週間回復試験 (BUP-N-003, 4.2.3.7.7.1)

本試験の当初の目的は、ブプレノルフィン遊離塩基のアセトン溶液を雌雄Crl:CD-1 (ICR) BRマウスの皮膚に1日1回少なくとも104週間塗布し、被験物質の発がん性を評価することであった。しかし、生存性に影響する予期しなかった所見がみられたため、投与期間を31週間に短縮し、試験目的を被験物質の慢性毒性の評価に変更した。また、所見の可逆性を評価するため、投与期間終了後に4週間の回復期間を設定した。

本試験の成績については、Tg.ACマウスを用いるがん原性試験について2011年に実施した医薬品医療機器総合機構との対面助言において詳細に討議した。上記対面助言の議事録を「4.3 参考文献」の項に添付する。

当初および変更後の試験計画を表 2.6.6.8.1.1 に示す。

表 2.6.6.8.1.1 試験計画

群	動物数	被験物質	用量 (mg/kg/日)	投与間隔 ^a	投与濃度 (mg/mL)	投与容量 (μ L/g/日)
毒性検討用動物 1 ^b	雄 雌 60 60	無処置				
2	60 60	溶媒	0	毎日	0	8
3	60 60	ブプレノルフィン	80	毎日	10	8
4	60 60	ブプレノルフィン	240	毎日	30	8
5	60 60	ブプレノルフィン	800	毎日	100/90 ^c	8/8.9 ^c
TK用動物 6	9 9	溶媒	0	毎日	0	8
7	63 63	ブプレノルフィン	80	毎日	10	8
8	63 63	ブプレノルフィン	240	毎日	30	8
9	63 63	ブプレノルフィン	800	毎日	100/90 ^c	8/8.9 ^c
感染モニター用動物 10 ^b	20 20	無処置				
TK用無処置動物 11 ^b	12 12	無処置				

a 投与1日目から129日目(群2および群6)、128日目(群3、群4、群5)および127日目(群7、群8および群9)まで全例に毎日投与した。しかし、投与130日目(群2および群6)、129日目(群3、群4、群5)ならびに128日目(群7、群8および群9)から投与期間終了まで全例への投与を3日に1回とした。

b 群1(毒性検討の対照動物)、群10(感染モニター用動物)および群11(TK用無処置動物)には投与しなかった。

c 投与1日目から200日目(群5)/199日目(群9)まで、動物には100 mg/mLの濃度および8 μ L/g/日の容量で投与した。投与201日目(群5)および200日目(群9)以降、動物への投与濃度は90 mg/mL、投与容量は8.9 μ L/g/日とした。

本試験に用いた用量は、用量設定試験(NDSE-606-GLP, 4.2.3.2.3)の成績、ブプレノルフィン遊離塩基のアセトンへの溶解度および投与部位の皮膚から投与液が滴り落ちずに投与できる最高容量に基づいて最高用量を設定した。

試験の目的を変更するに至った経緯は以下のとおりである。ブプレノルフィン¹を18週間、毎日皮膚塗布したところ、マウスの死亡が増加した（表 2.6.6.8.1.2）。投薬に関連する所見は、尿路に限定されていた。膀胱の膨満のために死亡または瀕死状態で安楽死させた動物では、膀胱内腔の拡張、尿管の拡張または後方圧に起因する腎盂の拡張を含めて、尿のうっ滞（または尿閉）がみられた。生存時の一般状態観察では、触診可能なまでに膨満した膀胱、被毛に黄色の汚れ（湿性および乾燥状態）および腹部腫張などの種々の所見が、より重度に影響を受けた動物で明らかにみられた。膀胱の膨満は投与約17週目までは確認できなかった。膀胱の膨満の発生率は雌より雄の方が高い傾向にあった。

上記の結果から、いずれの投薬群も最大耐量を超えていることが明らかになったため、投与19週目以降はブプレノルフィンの投与を毎日投与から3日に1回投与に変更した。しかし、投与スケジュールを3日に1回としても、膀胱の膨満の軽減またはそれまで変化がみられなかった動物での膀胱の膨満の発生を防止することはできなかった（表 2.6.6.8.1.2）。投与間隔を毎日から3日に1回に変更する前に死亡した動物でみられた病変は、投与スケジュールの変更後に死亡したまたは安楽死させた動物での所見と同様であった。

投与スケジュールを変更した時点で（投与19週目）、TK用試料を6ヵ月間採取するスケジュールを投与19週目までに変更し、試験のその時点でのマウスの尿路に対する影響の程度を病理組織学に評価するため、群7、群8、群9および群11のうち雌雄各9例を19週目に中間屠殺し、尿路組織を採取した（表 2.6.6.8.1.2）。これらの群は、それぞれ毒性検討用の群3、群4、群5および群1に相当した。中間屠殺した動物の剖検での尿路の病変は、それまでに死亡または瀕死状態で安楽死させた動物での病変と類似していたが、中間屠殺した動物の方がその程度は全体として少し軽い傾向にあった。

尿路への影響を緩和させるとともに、膀胱の膨満から回復する機会を与えることによって影響を受けた動物を主試験に戻し、当初の目的であるがん原性試験を遂行するための試みとして、影響を受けた一部の動物についてブプレノルフィン投与を中断した（表 2.6.6.8.1.3）。投与の中断期間は試験約120日目～204日目（試験約17週目～29週目）とした。動物を瀕死状態にさせる可能性がある尿閉を一般状態の膀胱の膨満所見（触診）に基づいて診断し、ブプレノルフィンの投与を試験中に中断する動物を決定した。しかし、投与を中断しても尿路に関連する瀕死状態の軽減にほとんど無効であった。ブプレノルフィン投与を中断した動物数およびそれらの動物の試験でのその後の経過を表 2.6.6.8.1.3 に示す。

ブプレノルフィン投与の全群（特に雄マウス）で継続して死亡が発生したため、ブプレノルフィンの発がん性を適切に評価するために必要な24ヵ月後の十分な生存率を確保することができないと判断した。そこで、6ヵ月後の可能な限り速やかな時点で試験を終了し、試験目的を慢性毒性試験に変更することをFDAに提案し、FDAはこの提案に同意した。

以上の経緯から試験計画を変更し、計画屠殺を2回実施することとした（表 2.6.6.8.1.2）。最初の屠殺は、試験30週目以降の早期に実施した。生存していたマウスの雌雄各群20例を屠殺用として無作為に選択した。また、ブプレノルフィン投与に関連する影響の回復性を評価するため、雌

雄各群 20 例を最初の屠殺時に無作為に選択した。残余のマウスについては、更なる評価をせずに屠殺して廃棄した。回復期間終了時の 2 回目の屠殺は試験 36 週目に実施した。

表 2.6.6.8.1.2 各試験期間ごとの死亡数および剖検または病理組織学的検査で膀胱の膨満所見を示す動物数

群	用量 [mg/kg]	投与 1～16 週目 ^a での死亡	投与 17～18 週目 ^a での死亡	投与 19～30 週目 ^b での死亡	投与期間終了時 の屠殺 投与 30～31 週目	投与 31～36 週目 ^c での死亡 [回復期間]	回復期間終了時 の屠殺 [投与 36 週目]	剖検なしでの屠殺 [投与 31 週目]	投与 19 週での 中間屠殺 ^d [TK動物]
雄									
1	無処置	0/60	0/60	0/60	20 (0)	0/20	20 (0)	20	9 (0)
2	溶媒	0/60	1 (1)/60	0/59	20 (11)	0/20	20 (8)	19	0
3	80	0/60	0/60	14 (13)/60	20 (9)	1 (1)/20	19 (7)	6	9 (2)
4	240	1 (0)/60	5 (5)/59	10 (7)/54	20 (14)	0/20	20 (11)	4	9 (2)
5	800	1 (0)/60	1 (1)/59	9 (5)/58	20 (12)	0/20	20 (5)	9	9 (2)
雌									
1	無処置	0/60	0/60	1/60	20 (0)	0/20	20 (0)	19	9 (0)
2	溶媒	0/60	0/60	2/60	20 (4)	0/20	20 (6)	18	0
3	80	0/60	0/60	1 (1)/60	20 (6)	1 (0)/20	19 (5)	19	9 (3)
4	240	1 (0)/60	1 (1)/59	7 (5)/58	20 (3)	0/20	20 (2)	11	9 (3)
5	800	2 (0)/60	0/58	3 (1)/58	20 (6)	0/20	20 (5)	15	9 (4)

^a 毎日投与した期間^b 3 日に 1 回投与した期間^c 投与終了時の回復期間^d 尿路の変化を評価するため、TK用マウス（群 7，群 8，群 9 および群 11）の雌雄各群 9 例を中間屠殺した。^e 括弧内の数字は，膀胱の膨満および/または関連する所見を剖検または病理組織学的検査で示す死亡動物数

表 2.6.6.8.1.3 投与を中断した動物数およびその後の経過

群	投与を中断した動物の総数		投与の再開なし		投与を再開したが、計画外 剖検が必要であった		投与を再開し、 その後も生存	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
3 (80 mg/kg)	9	0	3	0	6	0	0	0
4 (240 mg/kg)	8	3	3	1	5	2	0	0
5 (800 mg/kg)	6	4	2	0	4	1	0	3

投与終了時に剖検した動物での尿路の病変は、死亡または瀕死状態で安楽死させた動物のものと類似していたが、程度は少し軽い傾向にあった。また、尿路所見の発生率については回復期間終了時の動物の方が投与期間終了時よりやや低かった（表 2.6.6.8.1.2）。

休薬による 4 週間の回復期間後には、膀胱の膨満は、すべてではなかったが一部の動物で回復した。膀胱の膨満等の所見を除いて、最高用量である 800 mg/kg/日を含む試験したいずれの用量でも、ブプレノルフィンの直接的な毒性は約 31 週間の投与期間を通してみられなかった。

ブプレノルフィンの用量が 80 mg/kg/日から 800 mg/kg/日と高くなるに従って、ブプレノルフィンおよびその代謝物の曝露量は概して高くなった（表 2.6.6.8.1.4）。 $C_{\max}$ または AUC_{0-24} に一貫した性差はみられなかった。投与間隔を毎日投与から 3 日に 1 回投与に減らしても、ブプレノルフィンの血漿中濃度に著しい変化は一般にみられなかった。

ノルブプレノルフィンは、ブプレノルフィン-3 β -グルクロン酸抱合体およびノルブプレノルフィン-3 β -グルクロン酸抱合体に比べて相対的に微量の血漿中代謝物であった。これらの代謝物濃度も、ブプレノルフィンの用量が 80 mg/kg/日から 800 mg/kg/日と高くなるに従って増加した。

上記代謝物の $C_{\max}$ および AUC_{0-24} は雄の方が雌よりおおむね高かった。ブプレノルフィンを毎日投与したときのグルクロン酸抱合体代謝物の $C_{\max}$ および AUC_{0-24} は、3 日に 1 回投与に比較して明らかな (>2 倍) 差があった。本成績は、グルクロン酸抱合体の全身濃度の方がブプレノルフィン濃度より投与間隔の影響を受けやすいことを示唆している。

以上、膀胱の膨満および本変化に付随して、死亡、一般状態変化ならびに剖検および病理組織学的検査で病変がみられたため、本試験では無毒性量は決定できなかった。本試験の低用量群（80 mg/kg/日）におけるブプレノルフィンの投与 30 週目の曝露量（ AUC_{0-24} ）は、海外健康成人を対象とした試験（5.3.1.1.1, 5.3.1.1.2: BP97-0501 試験）で最高用量である BTDS 20 mg を投与した後の 1 日あたりの平均 AUC（ $AUC_{\text{day}} = 7.756 \text{ ng} \cdot \text{h/mL}$ ）の 264～301 倍であった。

表 2.6.6.8.1.4 マウス血漿中のブプレノルフィンのTKパラメータ

投与群	用量 (mg/kg/日) ^a	性	C _{max} (ng/mL)	T _{max} (時間)	AUC _{0-t} (ng•h/mL)	AUC ₀₋₂₄ (ng•h/mL)	DN AUC ₀₋₂₄	蓄積係数
投与 3 週								
7	80	雄	382	0	2981	2981	37.3	—
		雌	162	0	1949	1949	24.4	—
8	240	雄	1992	6	9238	9238	38.5	—
		雌	246	3	4781	4781	19.9	—
9	800	雄	394	1	6654	6654	8.32	—
		雌	408	12	7229	7229	9.04	—
投与 19 週								
7	80	雄	246	3	3345	3345	41.8	— ^b
		雌	185	1	3053	3053	38.2	— ^b
8	240	雄	598	12	7209	7209	30.0	— ^b
		雌	465	12	7253	7253	30.2	— ^b
9	800	雄	356	12	6128	6128	7.66	— ^b
		雌	520	12	9123	9123	11.4	— ^b
投与 30 週								
7	80	雄	117	24	2050	2050	25.6	0.613
		雌	163	1	3781	2336	29.2	0.765
8	240	雄	276	24	4015	4015	16.7	0.557
		雌	177	12	7215	3755	15.6	0.518
9	800	雄	455	12	12033	7244	9.05	1.18
		雌	488	12	14811	8627	10.8	0.946

^a 3 日に 1 回間隔での投与を投与 19 週目に開始した。

^b —：該当せず（蓄積係数の計算は、投与方法が同一であった投与 30 週目と 19 週目間でのみ可能であった）。

2.6.6.8.2 BTDS のビーグル犬における単回カプセル経口投与安全性試験（DSE-244-GLP, 4.2.3.7.7.2）

パッチを誤飲したときの安全性をビーグル犬を用いて評価した。各群 3 例の雄ビーグル犬に 0（プラセボ）、5、20（無処置のパッチ）または 20 mg（そしゃくをしたように、たたいて砕いたパッチ）の BTDS をカプセルに充填して単回投与した。動物は 14 日間観察した。所定の毒性パラメータを評価し、観察終了後に剖検するとともに器官重量を測定した。病理組織学的検査は消化管に限定した。血液化学的検査および薬物濃度の分析のため採血した。

死亡はみられなかった。糞便量の減少が 5 mg 群の 1 例でみられた。その他の意味のある変化はみられなかった。

無処置の BTDS を 5 および 20 mg の用量で投与したイヌでの投与 4 時間後の平均血漿中濃度はそれぞれ約 0.25 および 0.78 ng/mL であった。砕いた BTDS 20 mg を投与したイヌでの t_{max}（1.42 時間）での平均血漿中濃度は約 0.51 ng/mL、投与 4 時間後の平均濃度は約 0.14 ng/mL であった。イヌでの血漿中濃度は、BTDS 20 mg を投与したヒトでの最高濃度とほぼ同等であったが、イヌに BTDS を経口投与しても毒性変化は伴わなかった。

2.6.6.8.3 BTDS のビーグル犬における単回口腔内投与安全性試験（DSE-245-GLP, 4.2.3.7.7.3）

BTDS を口腔内投与したときの安全性をビーグル犬を用いて評価した。口腔内投与は、小児が BTDS をみつけ、パッチを口に含む事故が発生することを想定して選択した。各群 3 例の雌ビーグル犬の口腔粘膜に 0、5、20（無処置のパッチ）および 20 mg/イヌ（15 の小さな穴を開けたパッチ）の

パッチを適用し、手で保定することによって 30 分間その位置に固定した。毒性を評価するため、投与後 14 日間イヌを観察した。ECG測定、剖検および器官重量測定を含めた所定の毒性パラメータを評価した。病理組織学的検査は口腔粘膜に限定した。血液化学的検査および薬物濃度の分析のため採血した。

死亡はみられなかった。穴を開けたパッチを投与したイヌ 1 例で活動性の低下がみられ、また未使用パッチの 5 mg群および 20 mg群で流涎がみられた。試験期間中、20 mg群（無処置のパッチ）では体重が低下し、また、20 mg群（穴を開けたパッチ）で体重増加量が減少した。摂餌量が試験の最初の数日間投薬全群で低値であった。軽微な口腔刺激性（頬粘膜の赤色/腫張）が投与 1 日目および 2 日目に全群でみられた。剖検、器官重量および病理組織学的検査を含めて、その他のパラメータでは、投与の影響はみられなかった。

5 および 20 mg/イヌのBTDS（無処置のパッチ）を投与したイヌでの投与 4 時間後の血漿中濃度はそれぞれ約 0.50 および 3.03 ng/mLであった。20 mg群（穴を開けたパッチ）での最高血漿中濃度（投与 0.5 時間後）は約 174 ng/mLであったが、投与 4 時間後には約 4.91 ng/mLに低下した。5 mg群、20 mg群（無処置のパッチ）および 20 mg群（穴を開けたパッチ）での投与 4 時間後の平均血漿中濃度は、BTDS 20 mgを投与したヒトにおける最高濃度のそれぞれ約 1.1 および 6.4 ならびに 10 倍であった。20 mg群（穴を開けたパッチ）の最高血漿中濃度の平均値はBTDS 20 mgを投与したヒトにおける最高血漿中濃度の約 370 倍であった。高曝露が得られたイヌでも、毒性学的に意義のある所見はみられなかった。

2.6.6.8.4 依存性試験 (Yanagita et al. 1981, 4.3.6)

ブプレノルフィンの身体依存性および精神依存性をアカゲザルを用いて評価した。ブプレノルフィン（0.004～4 mg/kg）を静脈内投与すると、皮膚掻きなどの弱いモルヒネ様作用が 4 µg/kg 以上の用量で認められた。しかし、重度の行動抑制、呼吸抑制および痙攣などの毒性徴候は、4 mg/kg の用量を静脈内投与しても認められなかった。

オピオイドの退薬症候に及ぼすブプレノルフィンの影響をモルヒネに対する身体依存性を形成させたサルで検討した。モルヒネ依存性サルは、モルヒネ投与の中断により過敏表情の増強、意図振戦、発声、立毛、腹筋硬直および奇異姿勢などの退薬症候を発現させた。これらのサルにブプレノルフィン（1 および 16 mg/kg）を皮下投与すると、これらの退薬症候は抑制されず、むしろ悪化した。一方、モルヒネ（3 mg/kg）およびコデイン（16 mg/kg）はこれらの症候を抑制した（表 2.6.6.8.4.1）。

表 2.6.6.8.4.1 モルヒネ依存性アカゲザルにおけるブプレノルフィンによる
モルヒネ退薬症候に対する作用

薬物	投与量 (mg/kg, 皮下投与)	検討した動物数	退薬症候抑制 (カッコ内の数字は動物数)
生理食塩液	0.5 (mL/kg)	1	抑制なし (1)
	5.0 (mL/kg)	1	抑制なし (1)
ブプレノルフィン	1	2	抑制なし (2)
	16	2	抑制なし (2)
モルヒネ	3	2	完全 (1), 不完全 (1)
コデイン	16	2	完全 (2)

モルヒネを 3 mg/kg/回の用量で 1 日 4 回反復皮下投与し身体依存性を形成させた。モルヒネの最終投与 13~14 時間後に投与を中断した。本試験では、ブプレノルフィン用量は塩酸塩として示す。

ブプレノルフィンのモルヒネ退薬症候の誘発について、モルヒネに対し身体依存性を形成させたサルを用いて検討した。モルヒネの最終投与 2 時間後にブプレノルフィンを皮下投与すると、30 分以内にモルヒネの退薬症候が誘発され、その重症度は中等症 (0.015 mg/kg) および重症 (0.06 mg/kg) であった (表 2.6.6.8.4.2)。

表 2.6.6.8.4.2 モルヒネ依存性アカゲザルにおけるブプレノルフィンによる
モルヒネ退薬症候の誘発

薬物	投与量 (mg/kg, 皮下投与)	動物数	誘発された退薬症候の程度
生理食塩液	1 (mL/kg)	2	なし
ブプレノルフィン	0.015	2	中等症
	0.06	2	重症

塩酸モルヒネを 3 mg/kg/回の用量で 1 日 4 回反復皮下投与して身体依存性を形成させ、モルヒネの最終投与 2 時間後にブプレノルフィンを投与した。生理食塩液には 0.01N 乳酸を含む。本試験では、ブプレノルフィン用量は塩酸塩として示す。

ブプレノルフィンの反復皮下投与による身体依存性の形成について検討した。ブプレノルフィンを 1 mg/kg の用量で投与したところ、皮膚掻き、反応性低下、ときおりの閉眼が認められた。ブプレノルフィンを反復投与するとこれらの症状は弱くなり、皮膚掻き以外の症状は 2 週間以内に消失した。このことから、ブプレノルフィンに対する耐性の形成が示唆された。

正常なアカゲザルにブプレノルフィンを 1 mg/kg の用量で 1 日 4 回、31 日間反復皮下投与し、5 日間の退薬期間を設けるスケジュールを 2 回繰り返したが、退薬症候は認められなかった (表 2.6.6.8.4.3)。最初の 31 日間投与/5 日間退薬の期間中には体重への影響は認められなかったが、2 回目の 31 日間投与/5 日間退薬の期間中にはごくわずかに減少した。投与 14, 28, 49 および 63 日目に実施したナロキソン退薬試験では、ナロキソンにより奇異姿勢および落ち着き欠如などの退薬症候が一時的に誘発された。しかし、自立神経系症候および神経過敏といったモルヒネやコデインに典型的な退薬症候は認められなかった。

表 2.6.6.8.4.3 アカゲザルにおけるブプレノルフィンの反復投与による身体依存性の形成

個体 番号	体重 (kg)					退薬症候の程度					
	初回	28 日 目	1 回目の退 薬期間	63 日 目	2 回目の退 薬期間	ナロキソン試験				退薬試験	
						14 日 目	28 日 目	49 日 目	63 日 目	1 回 目	2 回 目
No. 896	4.7	4.8	4.8	4.7	4.45	軽度	軽度	軽度	軽度	なし	なし
No. 988	4.8	5.05	4.8	4.7	4.65	なし	軽度	なし	軽度	なし	なし
No. 997	3.8	3.8	3.6	3.55	3.45	軽度	軽度	軽度	軽度	なし	なし
No.1008	4.75	4.65	4.4	4.35	4.1	なし	軽度	軽度	軽度	なし	なし

ブプレノルフィンは、1～32 日目および 36～67 日目に 1 mg/kg/回の用量で 1 日 4 回皮下投与した。ナロキソンは、投与 14, 28, 49 および 63 日目に 1 mg/kg の用量で単回皮下投与した。自然離脱症状の観察は 32～36 日目および 67～71 日目に実施した。

ブプレノルフィンの精神依存性を静脈内自己投与試験において検討した。標準的な強化薬であるレフェタミン (0.1 mg/kg) の 1 日 4 時間の平均摂取回数は 93.2～168.6 回であり、一方、生理食塩液では 4.8～20.1 回 (レフェタミンの投与率の 3.0～19.6 %) であった (表 2.6.6.8.4.4)。ブプレノルフィンの自己投与回数が最高となったのは、1 µg/kg で 3 例、4 µg/kg で他の 3 例であった。ブプレノルフィンの自己投与回数の個体差はこのように比較的大きかったが、1 および 4 µg/kg では生理食塩液に比べ有意に高かった。しかし、15 µg/kg では有意差はなかった。

表 2.6.6.8.4.4 アカゲザルにおけるブプレノルフィンの静脈内自己投与試験

個体番号	1 日平均自己投与回数 (4 時間/日)	レフェタミンを 100%としたときの自己投与回数の比					
		レフェタミン 用量	生理食塩液 0.25 (mL/kg)	ブプレノルフィン (µg/kg, 静脈内投与)			
				0.25	1	4	15
No. 634	107±17.2	0.1 (mg/kg)	14.6%	— %	53.3%	66.1%	40.5%
No. 838	162.3±23.4		3.0	—	10.5	20.9	14.4
No. 931	140.4±44.3		3.4	6.9	94.0	30.8	19.2
No. 981	168.6±28.2		3.6	—	16.6	48.6	7.9
No. 989	93.2±11.8		6.2	31.1	38.6	12.6	8.3
No.1002	102.3±18.2		19.6	—	42.0	24.4	28.6
平均±S.D.			8.4±6.4	19.0±17.1	42.5±29.9*	33.9±19.9*	19.8±12.7

生理食塩液およびブプレノルフィン各用量の 4 時間あたりの自己摂取回数を、レフェタミン 0.1 mg/kg/回投与時の値に対する比として示す。各投与量について 1 日 4 時間、3 日間検討した。本試験では、ブプレノルフィン用量は塩酸塩として示す。

* p<0.05 (生理食塩液に対する比較)

アカゲザルを用いて、自己投与法によるレバー押し比率累進試験においてブプレノルフィンの強化効果をペンタゾシンと比較した。本試験では、静脈内に留置カテーテルを植込んだ 4 頭のアカゲザルをあらかじめレフェタミンを用いて薬液 1 回の摂取にレバー押し 100 回を要するスケジュール (FR 100) に習熟させ、7 日間の FR 100 による自由摂取での 1 日あたりの薬物摂取回数および FR 100 から始まってレバー押し比が摂取毎に $4\sqrt{2}$ 倍ずつ増大し、サルが摂取を放棄するまでの最大レバー押し比を測定した。その結果、ブプレノルフィン (0.015 および 0.06 mg/kg) を静脈内投与したサルでは、ペンタゾシン (0.06 および 0.25 mg/kg) を投与した場合と比較して、FR 100 期での平均薬物摂取回数および累進期でのレバー押しの最大値も概して少なく、ブプレノルフィンの強化効果はペンタゾシンよりも低かった (表 2.6.6.8.4.5)。

表 2.6.6.8.4.5 アカゲザルを用いたブプレノルフィンの薬物自己投与法による
レバー押し比率累進試験

サル		生理食塩液	ペンタゾシン (mg/kg)		ブプレノルフィン (mg/kg)		生理食塩液
		0.25 ml/kg	0.06	0.25	0.015	0.06	0.25 ml/kg
No. 966	摂取回数*	5.0±3.3 ^[1]	18.9±6.2 ^[2]	37.6±6.2 ^[3]	12.6±10.2 ^[4]	19.4±4.1 ^[5]	1.7±2.9 ^[6]
雄	最終値**	100	950	1130	1600	950	200
No.1025	摂取回数*	4.3±3.5 ^[1]	11.0±6.5 ^[5]	27.9±4.5 ^[4]	7.3±6.1 ^[2]	9.7±4.4 ^[3]	2.7±0.8 ^[6]
雄	最終値**	100	670	6400	1130	2690	120
No.1029	摂取回数*	3.7±2.5 ^[1]	18.4±6.0 ^[2]	37.1±4.6 ^[5]	12.4±3.9 ^[4]	5.7±2.7 ^[3]	15.0±6.9 ^[6]
雌	最終値**	120	570	3200	3810	670	1130
No.1037	摂取回数*	1.6±2.1 ^[1]	30.0±3.5 ^[5]	40.0±10.8 ^[4]	13.6±6.6 ^[3]	10.7±5.2 ^[2]	12.6±5.2 ^[6]
雌	最終値**	170	3200	6400	1350	950	1350

* FR 100 期での1日あたりの平均薬物摂取回数。平均±S.D. カッコ内は投与薬物の順番。

** 累進期での薬物摂取を放棄するまでの累進レバー押し回数

本試験では、ブプレノルフィン用量は塩酸塩として示す。

2.6.6.8.5 添加剤および不純物の毒性試験

BTDS中に含まれる添加剤および不純物単体の毒性試験は実施しなかった。しかし、BTDS製剤を用いたラット、ウサギ、イヌおよびミニブタにおける単回および反復投与毒性試験ならびに生殖発生毒性試験で、原薬のみを除いたプラセボパッチについてもその安全性を評価した。これらの試験では、ヒトで用いる 20 mgのBTDSを複数枚貼付し、また、プラセボパッチも同数貼付した。プラセボパッチを貼付した動物では、投与部位の刺激性を除いて毒性はみられなかったことから、BTDSに含まれる添加剤または不純物の安全性に問題はないと考えられた。なお、BTDSに含まれる新規添加剤であるレブリン酸およびアルミニウムアセチルアセトネートの安全性に関する文献情報は、「3.2.A.3 添加剤」の項に示す。

2.6.6.9 考察および結論

今回の承認申請に際して実施した大部分の試験では、臨床での投与経路である経皮経路を用いてブプレノルフィンを投与した。本経路を用いることで、ヒトにおけるブプレノルフィンおよびその代謝物の曝露を反映した薬物動態プロフィールが得られ (2.6.4.3 および 2.6.4.5 参照)、予定されているBTDS製剤の安全性評価が可能であった。BTDSを用いた試験では、ブプレノルフィンの全身曝露量 (AUC_{0-24}) を、最高用量のBTDS 20 mgを投与したヒトより少なくとも2~8倍 (通常約20~40倍) 高くすることができた。また、ブプレノルフィンのアセトン溶液を皮膚に塗布した試験では、ブプレノルフィンおよびその代謝物の曝露をBTDS貼付による曝露より高くすることができ、その曝露量 (AUC_{0-24}) は、BTDS 20 mgを投与したヒトの曝露量より約140~1800倍高かった。BTDS貼付では、経皮投与部位にパッチを固定するために動物を粘着性テープでラッピングする操作に起因する二次的な影響により、ブプレノルフィンによる作用の評価を困難にする可能性が、特に慢性毒性試験およびがん原性試験で懸念されたが、皮膚への塗布による投与経路を用いることによって、これらのリスクは回避することができた。

ブプレノルフィンをBTDSを用いて投与した場合、急性毒性に対する安全域は高かった。BTDSお

よびプラセボTDSはともにモルモットにおいて皮膚感作を引き起こさなかった。BTDSをラット、ウサギ、イヌまたはミニブタに最長 6 ヶ月間にわたって反復貼付投与しても、ブプレノルフィンの直接的な毒性はみられなかった。みられた所見の多くは、ブプレノルフィンおよびオピオイドで知られている副次的薬理作用に起因した変化であると考えられた(2.6.2.4 および 2.6.2.6 参照)。また、BTDSを貼付したラットの試験でみられたいくつかの所見は、BTDSを投与部位の皮膚に固定するために実施した接着テープによるラッピングでの不適切な操作に関連していた。反復投与試験では、BTDSおよびプラセボTDSで皮膚刺激性がみられたが、この一部またはすべてが、試験に用いたパッチの貼付スケジュールに関連する機械的な刺激に起因すると推測された。動物におけるBTDSの貼付スケジュールは、新しいパッチを 3 日ごとに、同一の皮膚投与部位に貼付するとした。貼付頻度を手技上で最大にするために用いたこのスケジュールは、新しいパッチを 7 日ごとに、異なった部位に貼付する臨床でのスケジュールとは異なっていた。なお、BTDSの臨床試験においても、皮膚刺激性に関連した有害事象が報告されている (2.7.4.2.1.1 参照)。

アセトン溶液として皮膚に塗布することによって経皮投与した場合、マウスにおける 31 週間試験またはラットにおける 6 ヶ月試験でブプレノルフィンは皮膚刺激性をほとんど引き起こさず、また直接的な毒性はみられなかった。これらの試験で認められた毒性所見は、BTDS投与後にみられた所見と類似しており、薬理作用に起因するものと判断した。皮膚への塗布によって 3 または 6 ヶ月間ブプレノルフィンをラットに投与すると、ブプレノルフィンの最高用量 (200 mg/kg) 群のGGTが可逆的に増加し、また 6 ヶ月間の投与では可逆的な胆管の過形成が雄でみられた (2.6.6.3.6 参照)。オッディ括約筋の収縮に伴う胆管圧の上昇は、動物およびヒトでのオピオイドの薬理作用として知られており、胆管過形成は、この作用が継続して発現したことに起因する二次的な反応であると考えられた (2.6.2.6 参照)。しかし、この可逆的な胆管過形成は 6 ヶ月試験の高用量群の雄ラットでのみ認められたこと、また、影響を受けた高用量群の動物でのブプレノルフィンの曝露量 (AUC_{0-24}) はBTDS 20 mgを投与したヒトの曝露量の約 732 倍であったこと (影響を受けなかった動物での曝露量は約 334 倍)、さらに、同一用量を用いた 100 週間ラットがん原性試験 (2.6.6.5.2 参照) では胆管または関連する肝臓に対する影響がみられなかったことから、本所見が臨床において問題になることはない判断した。

皮膚への塗布によってブプレノルフィンを投与したCD-1 マウスにおける 31 週間試験 (2.6.6.8.1 参照) では、ブプレノルフィン投与の全群で、尿のうっ滞 (尿閉) に付随する膀胱の膨満等の変化がみられ、剖検および病理組織学的検査では、尿閉による圧力上昇に起因する尿路の変化がみられた。これらの変化は、ブプレノルフィン投与の中断で一部回復した。本試験の最低用量 (80 mg/kg/日) でのブプレノルフィンの曝露量 (AUC_{0-24}) は、海外健康成人を対象にBTDS 20 mgを投与した後の 1 日あたりの平均AUC ($AUC_{day} = 7.756 \text{ ng}\cdot\text{h/mL}$) の 264~301 倍であった。一方、Tg.AC マウスにおける 26 週間皮膚塗布試験では、ブプレノルフィンの全身曝露量が上記試験と同等であったにもかかわらず、膀胱の所見はみられなかった (2.6.6.5.1 および 4.2.3.4.1.1 参照)。また、上記所見は、最長 6 ヶ月間で実施したラット、ウサギ、イヌ、またはミニブタにおけるBTDSの毒性試験でもみられなかった。ただし、これらの試験でのブプレノルフィンの全身曝露量は、マウスでの曝露量に比較して低かった。他のオピオイド、たとえばヒドロモルフォンまたはオキシコドンのマウスを用いた反復投与試験はこれまでに実施していないが、過去に実施したCD-1 マウスの単回経口投与試験では、これらのオピオイドによる膀胱に対する影響はみられなかった。しかし、

このマウス単回投与試験の無作用量/無毒性量での曝露量とヒトでの曝露量の比は、ヒドロモルフオンの場合は約 17～約 57 倍 (AUC)、また、オキシコドンの場合は約 81 倍 (C_{max}) であり、ブプレノルフィンのマウスにおける 31 週間試験の低用量での曝露量比 (AUC 比で 264～301 倍) より低かった。

ブプレノルフィンの単回投与によって尿量が一過性に減少することがラットにおいて確認されており (2.6.2.4.4 および 2.6.2.6 参照)、また、尿量の減少と尿閉はヒトにおいてもみられ、これらは、オピオイドの薬理作用であることが知られている (2.6.2.6 参照)。CD-1 マウスにおける 31 週間試験でのみ膀胱での毒性所見がみられた詳細なメカニズムは不明確であるが、一つの可能性として、感受性の高い系統の動物でブプレノルフィンの高曝露が維持されたことにより、副次的薬理作用が過剰かつ継続的に発現し、その結果、膀胱に致死性の変化が生じたと推察される。なお、尿量については、臨床でモニターすることは容易であり、必要な場合には、投薬中止によりそれに続く有害事象を防止することが可能である。

細菌を用いる復帰突然変異試験、マウスリンフォーマTK試験、ヒトリンパ球を用いる染色体異常試験およびマウス小核試験において、塩酸ブプレノルフィンは遺伝毒性を示さなかった。

Tg.ACマウスにおける 26 週間がん原性試験において、ブプレノルフィンは腫瘍原性または発がん性を示さなかった。試験動物の高用量群 (600 mg/kg/日) におけるブプレノルフィンの全身曝露量 (AUC に基づく) は、海外健康成人を対象に BTDS 20 mg を投与した後の 1 日あたりの平均 AUC ($AUC_{day} = 7.756 \text{ ng}\cdot\text{h/mL}$) の 185～437 倍であった。本試験では AUC_{0-24} に基づく曝露量比は計算しなかったが、FVB/N マウスにおける 28 日間用量設定試験結果に基づくと、高用量での AUC_{0-24} と海外健康成人を対象に BTDS 20 mg を投与した後の 1 日あたりの平均 AUC ($AUC_{day} = 7.756 \text{ ng}\cdot\text{h/mL}$) の比は 1442～1804 倍であった。

皮膚塗布によるラットがん原性試験では、悪性腫瘍の発生率の増加は見られなかったが、間質細胞 (ライディヒ細胞) の良性腫瘍の発生率が中用量群および高用量群の雄ラットで増加し (正のトレンド)、また副腎髄質の良性クロム親和性細胞腫の発生率がブプレノルフィン投与の全群の雌ラットで増加した (ただし、正のトレンドはみられなかった) (表 2.6.6.5.2.4)。これらの腫瘍の発生率は、いずれも試験実施施設が 10 年間にわたって収集した背景データにおけるこれらの腫瘍の発生率をわずかに上回っていた (2.6.6.5.2 参照)。他の良性腫瘍として、子宮内膜間質ポリープの発生率が低用量群および高用量群の雌で統計学的に有意に増加した (表 2.6.6.5.2.4)。しかし、本腫瘍は単調な増加のトレンドを示さなかった。また、中用量群の雌における本タイプの腫瘍の発生率は、統計学的に有意ではなく、背景データの範囲内であった。

本試験実施施設での腫瘍発生率の年ごとの変動は比較的小さく、また年単位での特記すべき一定の傾向もなかった。「US Guide for the Care and Use of Laboratory Animals and the Association for Assessment and Accreditation of Laboratory Animals International」は、試験動物を維持するための施設および環境制御に関するガイダンスを提供している。本ガイダンスには、動物の収容方法、室温、湿度、明暗周期、実施施設および器材の洗浄などが含まれている。本試験実施施設は、背景データを収集した 10 年間の全期間を通して、このガイダンスに適合していた。また、試験実施施設は

保証された飼料を動物に摂取させ、定期的に分析された水を供給していた。以上のことから、ラットを用いたがん原性試験での腫瘍発生率の比較に、本施設の背景データを使用することは妥当であると判断した。

本試験に用いた用量で、ブプレノルフィンの持続的かつ高濃度の全身曝露がラットでみられた。低用量群、中用量群および高用量群における曝露量 (AUC_{0-24}) は、海外健康成人を対象にBTDS 20 mgを投与した後の1日あたりの平均AUC ($AUC_{day} = 7.756 \text{ ng}\cdot\text{h/mL}$) の116~360倍であった。したがって、このように、本試験におけるブプレノルフィンの曝露量がヒトの最高用量であるBTDS 20 mgを投与したヒトにおける最高曝露量より高かったことに加えて、ブプレノルフィンは遺伝毒性を示さなかったことから、ブプレノルフィンには直接的な腫瘍原性作用はないと考えられた。

本試験でみられた良性腫瘍の詳細な発生メカニズムは不明である。一つの可能性として、オピオイドの副次的な薬理作用として知られている卵胞刺激ホルモン、黄体形成ホルモン、成長ホルモンおよびプロラクチンのバランスの攪乱 (2.6.2.6 参照) が、高濃度のブプレノルフィンによる持続的な曝露によって過剰に発現した結果、上記の良性腫瘍の発生率が増加したことが考えられる。また、ラットで良性腫瘍がみられた組織は、これらのホルモンの乱れに対して感受性が高い可能性が考えられる。しかし、良性腫瘍が見られた組織の機能についてはラットとヒトの間で生物学的な差があること (Bunton et al., 4.2.3.4.1.3), また、ラットでの曝露量がBTDS 20 mgを投与したヒトと比較して高かったことから、本試験でみられた良性腫瘍のヒトへの外挿性は低いと判断した。なお、臨床用量のブプレノルフィンを投与された男性では、黄体化ホルモン、テストステロン、卵胞刺激ホルモンおよびプロラクチン濃度は正常範囲内にあることが報告されている (2.6.2.6 参照)。また、日本またはその他の国における臨床使用で、重篤な有害事象としてこれらの良性腫瘍の報告はない (2.7.4.2.1.3 参照)。

BTDSを用いて雄または雌ラットにブプレノルフィンを投与した受胎能および着床までの初期胚発生に関する試験において、受胎能または一般的な生殖行動に対する影響はみられなかった。本試験での曝露量 (AUC_{0-24}) は、海外健康成人にBTDS 20 mgを投与した後の1日あたりの平均AUC ($AUC_{day} = 7.756 \text{ ng}\cdot\text{h/mL}$) の100および152倍であった。

ラットおよびウサギにBTDSを貼付またはブプレノルフィンを皮下投与して実施した胚および胎児発生に関する試験において催奇形性作用はみられなかった。ラットにおける全身曝露量 (1日あたりの平均AUC, AUC_{day}) は、海外健康成人にBTDS 20 mgを投与した後の AUC_{day} ($7.756 \text{ ng}\cdot\text{h/mL}$) より86倍高かった。また、ウサギにBTDSを貼付 (80 mg/ウサギ) またはブプレノルフィンを皮下投与 (5 mg/kg/日) したときの AUC_{day} は、海外健康成人にBTDS 20 mg投与後の AUC_{day} より、それぞれ26および113倍高かった。

出生前および出生後の発生ならびに母体の機能に関する試験では、母動物で一般状態の変化、摂餌量の減少および体重減少がみられる用量で (0.5 および 5 mg/kg/日の皮下投与), 死産児数の増加, 出生児の体重減少および出生児の一般状態所見の増加などの発生毒性がみられた。さらに、驚愕反射のわずかな遅延および学習での過誤の増加が皮下投与の 5 mg/kg/日群の出生児でみられた。発生に対する影響の無毒性量は 0.05 mg/kg/日であった。また、授乳中ラットの乳汁中にブプレノルフィン

レノルフィンが検出された。これらの結果に基づき、添付文書の「使用上の注意 6.妊婦，産婦，授乳婦等への投与」の項に注意を喚起した（1.8.1 参照）。

オピオイドは、反復投与により身体依存性および精神依存性を形成し、このことがオピオイドの長期使用に対する大きな懸念となっている。ブプレノルフィン μ 受容体の部分作動薬であるため、モルヒネのような完全作動薬よりも身体依存性および精神依存性形成の潜在的可能性は低いと考えられる。また、 δ 受容体をその拮抗薬で選択的に遮断すると、モルヒネの依存性形成が減弱することが報告されている^{2),3)}。したがって、 μ 受容体の部分作動作用と δ 受容体の拮抗作用を併せ持つブプレノルフィンでは、依存性のリスクはモルヒネより低いことが期待される。実際、モルヒネ依存性を示すサルにおいて、ブプレノルフィンはモルヒネの退薬症候を抑制しなかった（表 2.6.6.8.4.1 および 2.6.6.8.4.2）。また、モルヒネ依存性を示すカニクイザルでもブプレノルフィンによる退薬症候の悪化が報告されている⁴⁾。さらに、正常サルに 31 日間反復皮下投与し 5 日間の退薬期間を設けるスケジュールを 2 回繰り返しても、身体依存性の形成は認められなかった（表 2.6.6.8.4.3）。ブプレノルフィンは静脈内自己投与試験において強化効果を示したが（表 2.6.6.8.4.4）、この作用はペンタゾシンより弱かった。同様に、ブプレノルフィンはサルにおいて強化効果を示したが、その強化効果はヘロインより弱いことが報告されている^{5),6)}。

結論として、BTDSの貼付、皮膚塗布または皮下投与で投与した場合のブプレノルフィンの毒性学的なプロファイルは、他のオピオイドで知られているものと同様であった。すなわち、主および副次的薬理作用に関連した一過性の鎮静、摂餌量の減少およびそれに付随する体重の変化がみられたが、いずれの器官組織に対しても直接的な毒性作用を示す知見はなかった。種々の試験および動物種における病理組織学的検査では、直接的な標的器官は示されなかった。雄ラットでは、6 ヶ月間にわたって高濃度（BTDS 20 mgを投与したヒトのAUC₀₋₂₄の約 732 倍）のブプレノルフィンに曝露されると、副次的薬理作用である胆管圧の持続的な上昇に起因すると考えられる胆管の過形成がみられた。しかし、この所見は可逆的であり、ラットにおけるがん原性試験ではみられなかった。マウスにおける 31 週間試験では、ブプレノルフィン投与の全群で副次的薬理作用に起因すると考えられる尿閉および膀胱膨満がみられた。本試験の低用量群でのブプレノルフィンの曝露量（AUC₀₋₂₄）は、海外健康成人にBTDS 20 mgを投与した後の 1 日あたりの平均AUC（AUC_{day} = 7.756 ng・h/mL）の 264~301 倍であった。本所見は部分的に可逆的であり、またTg.ACマウスにおける 6 ヶ月間試験ではみられなかった。このように、ラットおよびマウスでみられた上記所見は、臨床用量よりはるかに高曝露でみられたことから、临床上の問題はないと考えられた。ブプレノルフィンは遺伝毒性を示さず、Tg.ACマウスにおける 6 ヶ月間皮膚投与試験においても発がん性および腫瘍原性はみられなかった。また、ラットにおける 2 年間の皮膚投与試験でも発がん性はみられなかった。ラットのがん原性試験では、発生率が試験実施施設の背景値よりわずかに高い良性腫瘍がみられたが、ヒトでのリスクは低いと考えられた。生殖発生毒性試験では、親動物にブプレノルフィンの毒性がみられる用量においても、受胎能および一般的な生殖行動に影響は認められず、またラットまたはウサギにおいて催奇形性もみられなかった。ブプレノルフィンは、0.5 および 5 mg/kg/日の皮下投与で、ラットにおける出生前および出生後の発生に影響を及ぼした。サルを用いた依存性試験において、ブプレノルフィンは身体依存性を示さず、また、精神依存性形成の程度もモルヒネと比較して弱かった。

以上の結果から、BTDSは、適切な臨床使用において、その安全性に問題はないと結論する。

2.6.6.10 図表

図表は本文中に記載した。

参考文献

1. RTECS - Registry of Toxic Effects of Chemical Substances. Search conducted 22 August 2001. Buprenorphine and Buprenorphine Hydrochloride. Compiled by the National Institute for Occupational Safety and Health of the U.S. Department of Health and Human Services.
2. Abdelhamid EE, Sultana M, Portoghese PS, Takemori AE. Selective blockage of delta opioid receptors prevents the development of morphine tolerance and dependence in mice. *J Pharmacol Exp Ther* 1991;258:299-303.
3. Fundytus ME, Schiller PW, Shapiro M, Weltrowska G, Coderre TJ. Attenuation of morphine tolerance and dependence with the highly selective δ - opioid receptor antagonist TIPP[ψ]. *Eur J Pharmacol* 1995;286:105-8.
4. Fukase H, Fukuzaki K, Kojima T, Nagata R, Lukas SE. Effects of morphine, naloxone, buprenorphine, butorphanol, haloperidol and imipramine on morphine withdrawal signs in cynomolgus monkeys. *Psychopharmacology* 1994;116:396-400.
5. Mello NK, Bree MP, Mendelson JH. Buprenorphine self-administration by rhesus monkey. *Pharmacol Biochem Behav* 1981;15:215-25.
6. Mello NK, Lukas SE, Bree MP, Mendelson JH. Progressive ratio performance maintained by buprenorphine, heroin and methadone in macaque monkeys. *Drug Alcohol Depend* 1988;21:81-97.