

ベピオゲル2.5%

第2部（モジュール2） CTDの概要（サマリー）

2.4 非臨床試験の概括評価

マルホ株式会社

略号一覧

略号	省略していない表現
BPO	Benzoyl peroxide : 過酸化ベンゾイル
[¹⁴ C]BPO	Carbon 14で標識した過酸化ベンゾイル
BPOゲル	■社で実施した試験に使用された有効成分として過酸化ベンゾイルを含有するゲル剤
BPO含有製剤	公表文献等で使用された有効成分として過酸化ベンゾイルを含有する製剤
M605101	社内試験で使用された有効成分として過酸化ベンゾイルを含有するゲル剤（申請製剤）
[¹⁴ C]M605101	社内試験で使用された有効成分としてCarbon 14で標識した過酸化ベンゾイルを含有するゲル剤
[¹⁴ C]安息香酸	Carbon 14で標識した安息香酸
CHPA	Consumer Healthcare Products Association : 米国OTC薬協会
C _{max}	Maximal plasma concentration : 最高血漿中濃度
FAO	Food and Agriculture Organization : 国際連合食糧農業機関
FDA	Food and Drug Administration : 米国食品医薬品局
GLP	Good Laboratory Practice : 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施基準
HPLC	High performance liquid chromatography : 高速液体クロマトグラフィー
IARC	International Agency for Research on Cancer : 国際がん研究機関
JECFA	FAO/WHO Joint Expert Committee on Food Additives : FAO/WHO合同食品添加物専門家会議
LSC	Liquid scintillation counter : 液体シンチレーションカウンター
MBC	Minimal bactericidal concentration : 最小殺菌濃度
MIC	Minimal inhibitory concentration : 最小発育阻止濃度
OECD	Organization for Economic Co-operation and Development : 経済協力開発機構
OTC	Over The Counter
<i>P. acnes</i>	<i>Propionibacterium acnes</i>
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
SD	Sprague Dawley
<i>S. epidermidis</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
WHO	World Health Organization : 世界保健機関

目次

	頁
2.4 非臨床試験の概括評価	4
2.4.1 非臨床試験計画概略	4
2.4.1.1 薬理試験計画の概略	4
2.4.1.2 薬物動態試験計画の概略	4
2.4.1.3 毒性試験計画の概略	4
2.4.2 薬理試験	5
2.4.2.1 効力を裏付ける試験	5
2.4.2.2 副次的薬理試験	7
2.4.2.3 安全性薬理試験	7
2.4.3 薬物動態試験	8
2.4.3.1 分析法	8
2.4.3.2 吸収	8
2.4.3.3 分布	9
2.4.3.4 代謝	9
2.4.3.5 排泄	9
2.4.3.6 薬物動態学的相互作用	10
2.4.4 毒性試験	10
2.4.4.1 急性毒性試験	10
2.4.4.2 反復投与毒性試験	10
2.4.4.3 遺伝毒性試験	11
2.4.4.4 がん原性試験	11
2.4.4.5 生殖発生毒性試験	12
2.4.4.6 局所刺激性試験	12
2.4.4.7 その他の毒性試験	13
2.4.5 総括及び結論	13
2.4.6 参考文献一覧	15

2.4 非臨床試験の概括評価

2.4.1 非臨床試験計画概略

過酸化ベンゾイル（BPO）は、1960年代より欧米など多くの国で尋常性ざ瘡治療薬として販売されており、本薬に関する研究成績は、多くの成書並びに公表論文に報告されている。このことを踏まえ、非臨床試験パッケージは公表論文に、導入元である米国■■■■社が実施した試験及びマルホ株式会社（申請者）が実施した試験を加えて構築した。採用した公表論文は、BPOに関連した総説及び海外で販売されているBPO含有製剤（Acanya Gel、Duac Topical Gel及びEpiduo Gel）の申請資料として引用されているものが多く、結果に矛盾がないことから信頼性は高いと考えた。

本非臨床試験パッケージは、医薬品■■■■相談において、医薬品医療機器総合機構から助言を得ており、その助言に従ったものである。

2.4.1.1 薬理試験計画の概略

BPOの薬理試験のうち、効力を裏付ける試験は公表論文を引用した。

安全性薬理試験は、中枢神経系、呼吸器系、心血管系への影響及びその他の一般薬理作用について検討した公表論文の成績に基づいて評価した。ただし、心血管系については、現行のガイドラインに従うと、心電図の評価が不十分であったため、安全性薬理試験ガイドライン（平成13年6月21日医薬審発第902号）を踏まえて、イヌを用いた追加試験を実施した。本剤の臨床適用経路は経皮投与であるが、より高い全身暴露を確保するために、安全性薬理試験は主に経口投与により実施された。これらの安全性薬理試験には、GLP非適用の試験が含まれるが、試験情報が詳細に記載されており、信頼性が高いと判断したものを選択した。イヌを用いた追加試験はGLPを遵守して実施した。

2.4.1.2 薬物動態試験計画の概略

BPOの薬物動態試験のうち、ヒト皮膚組織を用いた*in vitro*試験、ラット、ウサギ及びサルにおける*in vivo*試験は公表論文の成績を引用した。放射標識体（以下、 $[^{14}\text{C}]$ BPO）及び非標識体を用いた*in vitro*及び*in vivo*試験は、マルホ株式会社で新たに実施した。

BPOは、ヒト及び動物のいずれの皮膚においても、速やかに安息香酸に変換され（2.6.4.5.1.1「*In vitro*皮内代謝」参照）、また、血漿中ではすべて安息香酸に変換され（2.6.4.5.1.2「*In vitro*血漿中代謝」参照）、全身循環血へ移行後、速やかに腎臓より排泄されることが報告されている（2.6.4.6.1.1.1「ヒト及び各動物種における単回経口投与時の尿中排泄」）。したがって、BPOを経皮投与した際の、全身循環移行後の体内動態は、安息香酸を指標とした文献成績により評価した。分布、代謝及び排泄については、主に安息香酸を評価した文献の成績により構築した。更に、本剤の経皮吸収性については、放射標識M605101（以下、 $[^{14}\text{C}]$ M605101）を使用した*in vitro*及び*in vivo*試験を実施した。

2.4.1.3 毒性試験計画の概略

BPOの毒性試験は、導入元である米国■■■■社で実施された試験及び公表論文の成績を引用した。毒性試験項目として、急性毒性、反復投与毒性、遺伝毒性、がん原性、生殖発生毒性、局所刺激性（皮膚及び眼粘膜）、皮膚感作性及び光毒性について評価した。なお、BPOの非げっ歯類を用いた長期投与毒性試験及び胚及び胎児発生に関する試験は実施していないが、経皮投与されたBPOは、皮膚中で速やかに安息香酸へ変換され、血中で未変化体として存在しないため、安息香

酸の公表論文を用いて、BPOの長期投与毒性及び催奇形性について考察した。また、皮膚光感作性について非臨床試験は実施していないが、ヒトにおいて、皮膚安全性試験の一環として皮膚光感作性試験が実施されており、陰性結果が得られている（「2.7.2.2.2.5 健康成人における皮膚光アレルギー性試験」参照）ことから、新たに非臨床試験を実施する必要はないと判断した。

これらの毒性試験は、臨床適用経路である経皮投与、並びにより高い全身暴露を確保するための代替投与経路である経口投与及び腹腔内投与により実施された。

社で実施されたすべての試験は、GLPを遵守して実施された。一方、引用した公表論文にはGLP非適用の試験が含まれるが、試験情報が詳細に記載されており、信頼性が高いと判断したものを選択した。

2.4.2 薬理試験

薬理試験の一覧表を2.6.3.1に示す。

2.4.2.1 効力を裏付ける試験

以下に、尋常性ざ瘡の形成過程とBPOの効力を裏付ける試験とその成績を示す。

2.4.2.1.1 尋常性ざ瘡の形成過程

尋常性ざ瘡の形成過程を下図（図 2.4.2-1）に示す¹⁾。尋常性ざ瘡は脂腺性毛包を発症部位とする慢性炎症性疾患であり、毛孔一致性の面皰、丘疹、膿疱が混在するのを特徴とする¹⁾²⁾。その発症には、(1)アンドロゲンによる皮脂分泌の亢進、(2)毛漏斗部の角化亢進、(3)毛漏斗部における *Propionibacterium acnes* (*P. acnes*) の増殖が関与している。尋常性ざ瘡の形成過程は、上記(1)及び(2)に起因する微小面皰から始まり、閉鎖面皰や開放面皰へと進展する（非炎症性皮疹）。続いて、(3)に起因する炎症が加わり、紅色丘疹、膿疱へと進展する（炎症性皮疹）。

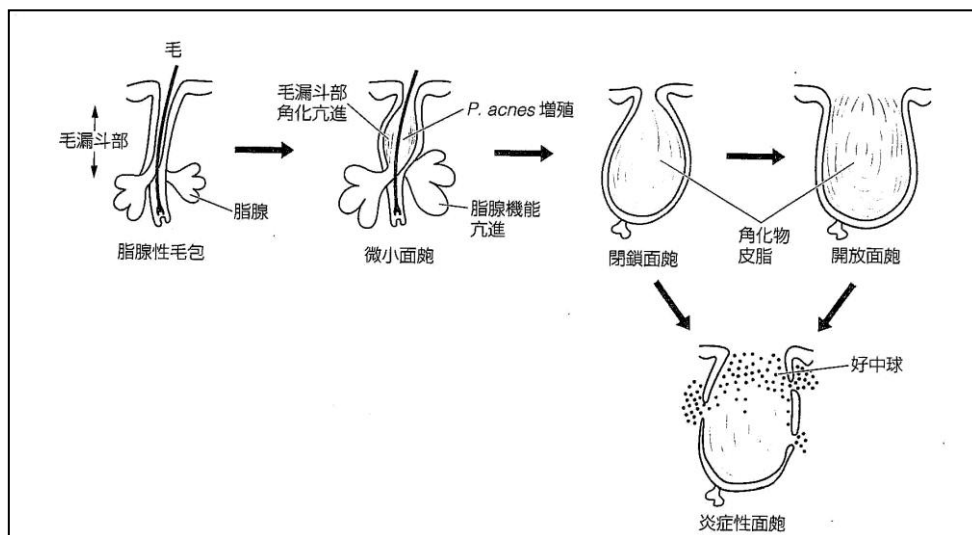


図 2.4.2-1 尋常性ざ瘡の形成過程（標準皮膚科学 第10版 図31-2を引用¹⁾）

2.4.2.1.1.1 非炎症性皮疹

非炎症性皮疹は微小面皰の形成から始まり、閉鎖面皰や開放面皰へと進展する病態である¹⁾²⁾。すなわち、アンドロゲンが皮脂分泌を亢進させ、毛漏斗部に皮脂が充満し、ここに脂性環境を好

む*P. acnes*が増殖する。*P. acnes*の産生する細菌性リパーゼは皮脂中のトリグリセリドを遊離脂肪酸に分解し、これが毛漏斗部の角化亢進を引き起こして、微小面皰が形成される。微小面皰では、毛漏斗部に固着した角質細胞が層状に栓塞している（貯留角化）。このような病態が進展すると、毛孔の閉鎖した閉鎖面皰へと移行する。更に、閉鎖面皰内で貯留物が増えると、毛孔の開口した開放面皰となる。閉鎖及び開放面皰に炎症が加わると、炎症性皮疹へと移行する。

2.4.2.1.1.2 炎症性皮疹

閉鎖及び開放面皰では、毛漏斗部の皮脂貯留と閉塞により嫌気状態となるため、*P. acnes*の増殖は更に促進される¹²⁾。*P. acnes*は、好中球走化因子やヒアルロニダーゼ、プロテアーゼ、ノイラミニダーゼなどの菌体外酵素を産生する。これらは好中球の誘導や毛包壁の破壊を起こし、毛包内の内容物が周囲の結合組織に流出して、炎症が進展する（紅色丘疹）。更に進展すると、被覆している表皮が壊死し、角層直下に好中球主体の炎症細胞による毛包一致性の膿瘍が形成される（膿疱）。この病態が炎症性皮疹とみなされる。

2.4.2.1.2 BPOの抗菌作用

2.4.2.1.2.1 *In vitro*抗菌作用

尋常性ざ瘡の病因菌である*P. acnes*に対するBPOの最小発育阻止濃度（MIC）は複数報告されており、その範囲は $\leq 0.78 \sim 800 \mu\text{g/mL}$ であった。これらの報告のうち、BPOのMICに対する脂質の影響を調べた報告では、脂質非存在下でのMICが $100 \sim 800 \mu\text{g/mL}$ であったのに対し、脂質存在下でのそれは $\leq 0.78 \sim 400 \mu\text{g/mL}$ と低下し、BPOの抗菌作用は脂質存在下で増強した（2.6.2.2.1.3 参照）。

尋常性ざ瘡の病態には、*P. acnes*のほかに*Staphylococcus epidermidis*（*S. epidermidis*）及び*Staphylococcus aureus*（*S. aureus*）も関与している。*S. epidermidis*に対するBPOのMICは $> 100 \mu\text{g/mL}$ であった。*S. aureus*に対するBPOのMICは複数報告されており、その範囲は $15 \sim 500 \mu\text{g/mL}$ であった。また、BPOは抗菌薬耐性の*Propionibacteria*、*S. epidermidis*及び*S. aureus*に対しても、感受性菌と同程度のMICを示した。

*P. acnes*に対するBPOの最小殺菌濃度（MBC）は、脂質非存在下では $200 \sim 800 \mu\text{g/mL}$ であったのに対し、脂質存在下では $1.56 \sim 800 \mu\text{g/mL}$ と低下し、BPOの殺菌作用は脂質存在下で増強した。また、BPOは、*P. acnes*では0.01%の濃度で、*S. epidermidis*では0.001%の濃度で生菌数を指数関数的に減少させた。

2.4.2.1.2.2 *In vivo*抗菌作用

動物において、BPOの抗菌作用を検討した報告はない。

2.4.2.1.2.3 抗菌作用機序（ラジカル生成）

BPOは化学工業では重合開始剤として使用されている強力な酸化剤であり、分解により酸化ベンゾイルラジカル及びフェニルラジカルを生成し、速やかに安息香酸へと変換される³⁴⁾。生成したラジカルは、直接、細菌の膜構造、DNA、代謝などを障害する³⁵⁾。これが、BPOの抗菌作用機序と考えられている³⁶⁾。

BPOからのラジカル生成をジメタクリル酸テトラエチレン・グリコールの重合を指標に調べた報告では、BPOからのラジカル生成が認められた。

以上の成績から、BPOがざ瘡の病態に関与している*P. acnes*、*S. epidermidis*及び*S. aureus*に対して抗菌作用を示し、その作用機序はBPOの分解により生成したラジカルによるものと考ええる。このようなBPOの抗菌作用が尋常性ざ瘡患者における炎症性皮疹の減少につながっていると考える。

2.4.2.1.3 皮脂分泌に対するBPOの作用

ヒト皮脂腺の動物モデルであるシリアンハムスターの臭腺において、皮脂生成に対するBPOの作用を検討した報告によると、BPO溶液及び10% BPO含有クリーム剤の反復塗布では、皮脂生成に対する作用は認められなかった。

2.4.2.1.4 毛漏斗部に対するBPOの作用

毛漏斗部の閉塞は、毛漏斗部における表皮角化細胞の増殖亢進及び分化（角化）異常、並びに角質細胞の接着性亢進によって起こると言われている⁷⁾。

毛漏斗部閉塞に対するBPOの作用は、オレイン酸誘発実験的ウサギ面皰モデルで検討された。この動物モデルでは、ヒト面皰の初期に類似した毛漏斗部の貯留角化と、角質細胞同士の結合に関与するデスモソームの増加が認められる。この動物モデルに5% BPO含有クリーム剤を4週間反復塗布した結果、塗布1週目より、毛漏斗部の角層肥厚が消失し、角層中デスモソームの増加も是正された。

以上の成績は、BPOが角質細胞間の結合を弛めて角層剥離を促し、毛漏斗部の閉塞を改善することを示唆している。このようなBPOの角層剥離作用が尋常性ざ瘡患者における非炎症性皮疹の減少につながっていると考える。

2.4.2.2 副次的薬理試験

該当資料なし。

2.4.2.3 安全性薬理試験

2.4.2.3.1 中枢神経系に及ぼす影響

マウスの自発運動量、痙攣、チオペンタールナトリウム誘発睡眠及び正常体温に対する作用、マウス及びラットの鎮痛作用、更にウサギの自発脳波に対する作用をいずれも経口投与で検討した。その結果、BPOは102 mg/kg以上でチオペンタールナトリウム誘発睡眠時間の延長、205 mg/kg以上で自発運動量の抑制傾向及び体温低下、410 mg/kg以上でストリキニーネ誘発痙攣の抑制及び酢酸ライジング法における鎮痛作用を示した。最大電撃痙攣、圧鎮痛及び自発脳波に対しては、いずれの用量においても明らかな作用を示さなかった。

なお、マウスにBPO 102 mg/kgを経口投与したときの安息香酸のC_{max}は4.26 µg/mLであった（「2.6.4.3.2.1 マウスにおける単回経口投与後の血漿中安息香酸及び馬尿酸濃度推移」参照）。この濃度は、尋常性ざ瘡患者の顔面全体に2.5% M605101 約0.5 gを塗布したときの安息香酸のC_{max}である0.01967 µg/mL（「2.7.2.2.2.1 尋常性ざ瘡患者における臨床薬理試験」参照）に比べて200倍以上高値であったことから、M605101の臨床使用において中枢神経系に影響を及ぼす可能性は低いと考えた。

2.4.2.3.2 呼吸器系及び心血管系に及ぼす影響

呼吸器系及び心血管系に及ぼす影響をイヌ及びウサギを用いて検討した。ウサギの摘出右心房、大動脈条片及び耳介血管を用いた検討では、BPOの1000 µg/mLまで明らかな作用は認められなかった。麻酔イヌにBPO懸濁液を静脈内投与した検討では、1 mg/kg以上で呼吸数増大、呼吸振幅減少及び最高血圧の低下、10 mg/kg以上で死亡例が認められたが、その他の作用は認められなかった。これらの1 mg/kg以上で認められた作用は懸濁液として静脈内投与したBPO粒子が毛細血管を閉塞したことに起因するものであり、BPOの薬理学的な作用ではないと結論付けられた。また、無麻酔・無拘束イヌを用いた経口投与では、1000 mg/kg投与（安息香酸の C_{max} ：63.6 µg/mL、臨床で認められた暴露量の3000倍以上）まで血圧、心拍数及び心電図持続時間に影響は認められなかった。

以上より、BPOは呼吸器系及び心血管系に影響を及ぼさないと考えた。

2.4.2.3.3 自律神経系、消化器系及び体性神経系に及ぼす影響

モルモット、ウサギ及びラットの摘出平滑筋に対する作用、マウスの神経筋接合部に対する作用、経口投与によるマウスの腸管輸送能に対する作用、点眼によるモルモットの角膜表面麻酔作用を検討した。その結果、BPOは100 µg/mL以上で摘出平滑筋に対する作用、1000 µg/mLで神経筋接合部に対する抑制作用、410 mg/kgで軽度の腸管輸送能促進作用を示した。一方、いずれの濃度においても角膜表面麻酔作用は認められなかった。

以上の自律神経系、消化器系及び体性神経系に及ぼす影響は、大量暴露（*in vitro*：100 µg/mL以上、*in vivo*：410 mg/kg）においてのみ認められた。M605101の臨床使用における安息香酸の C_{max} は0.01967 µg/mL（「2.7.2.2.2.1 尋常性ざ瘡患者における臨床薬理試験」参照）であったことから、臨床使用において危惧すべき副作用を生じる可能性は低いと考えた。

2.4.3 薬物動態試験

薬物動態試験の一覧を表2.6.5.1に示す。

2.4.3.1 分析法

放射標識化合物を含む試料については、液体シンチレーションカウンター（LSC）又は放射能検出器に直結した高速液体クロマトグラフィー（HPLC）により測定した。非放射標識化合物を含む試料については、皮膚中でBPOは安息香酸へと変換されることから、角層及び皮膚中ではBPO及び安息香酸について、それ以外の生体試料は安息香酸又はその代謝物である馬尿酸を指標に測定した。なお、生体試料中に食事由来の安息香酸及び馬尿酸が存在するため、代替マトリックスとして精製水を用いて検量線を作成した。評価資料における測定法はすべてバリデートされている。

2.4.3.2 吸収

2.5%及び5% [14 C]M605101の*in vitro* ヒト皮膚透過性を検討した結果、累積透過量及び皮膚中放射エネルギーを合わせた吸収率はいずれの濃度の製剤も塗布量の10%程度であった。

ラットの正常皮膚に2.5%及び5% [14 C]M605101を単回経皮投与した際の血漿中放射能濃度は、製剤濃度に依存して速やかに上昇した後、投与24時間後には C_{max} の10分の1程度まで低下した。

角層を除去した損傷皮膚に投与した際の血漿中放射能濃度は、正常皮膚と比較して約3倍高い値

を示した。この結果は本剤の経皮吸収過程においても角層がバリアーとしての役割を果たしていることを示唆した。

ラットに5% BPOゲルを1日2回35日間反復経皮投与した際の最終投与後24時間の血漿中安息香酸濃度はすべて定量下限 (0.2 µg/mL) 未満であった。同様に、ウサギに5% BPOゲル及びプラセボゲルを1日2回35日間反復経皮投与した際にも血漿中安息香酸濃度はプラセボ群と同程度であった。これら2試験の成績からBPO由来の安息香酸の体内への蓄積はないと考えた。

2.4.3.3 分布

2.5%及び5% BPOゲル又は2.5%、5%及び10% [^{14}C]BPO含有液剤並びに20% [^{14}C]BPO含有乳剤の *in vitro* ヒト皮膚透過性検討時の皮内分布を検討したところ、表皮及び真皮中にはBPO及び安息香酸が検出されたが、透過後はすべて安息香酸であった。

これとは別に、ラットの正常皮膚に10% [^{14}C]BPO含有ゲル剤を単回経皮投与した皮内分布試験において、皮膚深部に浸透するに従ってBPOは安息香酸に変換し、全身循環に移行するのは安息香酸であった。

ラットに[^{14}C]安息香酸ナトリウム水溶液を単回経口投与後6時間において、筋肉及び腸管（内容物含む）で高い組織中放射能濃度を示した。投与後48時間の残存量（合計）は全体で投与量の約0.26%と低く、[^{14}C]安息香酸が組織内に残留することはないと考えた。

*In vitro*での安息香酸の血漿中蛋白結合率はマウス24.6%、ラット44.1%及びウサギ73.4%であり、ヒトは83.7%と、それらに比べ高い値を示した。これとは別に、安息香酸のヒト血液中血漿濃度比 (R_{BC}) は0.58と、血球への移行は低いことが判明した。

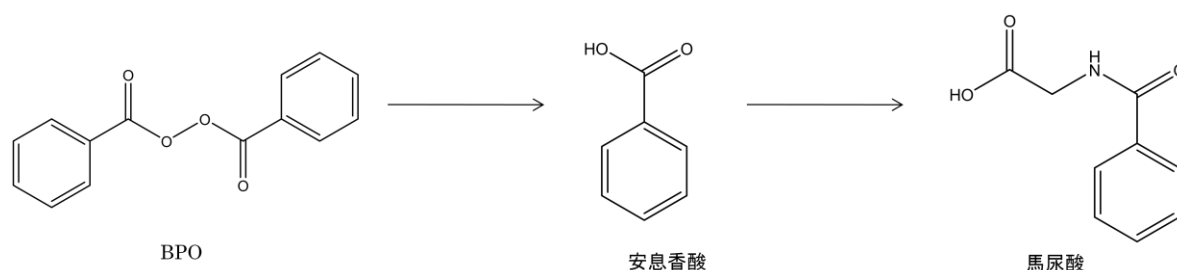
胎盤への移行性を調べるために、*ex vivo* ヒト胎盤での[^{14}C]安息香酸の通過性を検討した結果、胎盤通過はあることを確認した。

2.4.3.4 代謝

BPOの主要代謝経路を図 2.4.3-1 に示す。

2.5%及び5% BPOゲル又は2.5%、5%及び10% [^{14}C]BPO含有液剤並びに20% [^{14}C]BPO含有乳剤の *in vitro* ヒト皮膚透過性試験の際の皮膚中には未変化体であるBPO及び代謝物である安息香酸が検出された。また、血漿中BPOは数分後に安息香酸に変換されることを確認した。更に、ヒトに[^{14}C]安息香酸を単回経口投与した際の尿中代謝物は馬尿酸に限られていた。

図 2.4.3-1 BPOの主要代謝経路



2.4.3.5 排泄

主要な動物種及びヒトに[^{14}C]安息香酸を単回経口投与した際の投与後24時間での尿中排泄率は、

投与量のほぼ100%で、速やかな排泄を示唆した。

一方、経皮投与での排泄率に関してはサルに2.5%、5%及び10% [^{14}C]BPO含有液剤を単回経皮投与した際の報告があり、このときの尿中排泄率は、投与量に対して13～27%であった。排泄された以外の残り約80%の放射能は、経皮吸収されず、残存製剤として存在していると考えた。

2.4.3.6 薬物動態学的相互作用

該当なし

2.4.4 毒性試験

毒性試験の一覧表を2.6.7.1に示す。

2.4.4.1 急性毒性試験

■■■■社において、マウス及びラットを用いて、経皮及び経口投与による単回投与毒性試験が実施された。経皮投与では、ラットに250 mg/kgのBPO（5% BPOゲルとして5000 mg/kg）を健常及び損傷皮膚に24時間閉塞投与したが、死亡例は認められなかった。概略の致死量は、雌雄ともに250 mg/kgを上回る量であった。経口投与では、マウス及びラットに250 mg/kgのBPOを投与したが、いずれも死亡例は認められなかった。概略の致死量は、マウス及びラットの雌雄ともに250 mg/kgを上回る量であった。

非げっ歯類については、■■■■社で実施されたウサギを用いた35日間反復経皮投与毒性試験及びイヌを用いた経口投与による安全性薬理試験の結果から概略の致死量を算出した。ウサギでは、BPOを250 mg/kg（5% BPOゲルとして5000 mg/kg）まで経皮投与しているが、死亡例は認められなかった。イヌでは、BPOを1000 mg/kgまで経口投与しているが、死亡例は認められなかった。以上のことから、概略の致死量はウサギ（経皮）で250 mg/kgを上回る量、イヌ（経口）で1000 mg/kgを上回る量とみなされる。

2.4.4.2 反復投与毒性試験

■■■■社で実施されたラット及びウサギを用いた経皮投与による35日間反復投与毒性試験及びラットを用いた経口投与による反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験（公表論文）の成績に基づいて、BPOの毒性影響を評価した。

経皮投与では、ラット及びウサギの健常皮膚にBPOの25、75、250 mg/kg/day（5% BPOゲルとして500、1500及び5000 mg/kg/day）を35日間反復投与した。ラット及びウサギともに、BPO各群の投与部位皮膚に紅斑、浮腫及び落屑が、病理組織学的には表皮の肥厚、角化亢進、慢性皮膚炎などの刺激性が認められたが、投与部位皮膚の所見以外に変化は認められなかった。以上のことから、全身性の無毒性量はラット及びウサギの雌雄ともに250 mg/kg/dayを上回り、投与部位局所の無毒性量はラット及びウサギの雌雄ともに25 mg/kg/day未満と判断された。

経口投与では、ラットにBPOの250、500、1000 mg/kg/dayを雄に29日間、雌に41～51日間反復投与した。1000 mg/kg群は、投与期間終了後に14日間休薬し、回復性を検討した。BPO投与の影響として、1000 mg/kg群の雄において、精巣で精子細胞の変性（アポトーシス、細胞腫大、多核巨細胞）、精巣上体で成熟した精子数の減少及び精子の変性（未成熟な精子や形態異常の精子）が認められ、1000 mg/kg群の雌においては、子宮の内腔上皮の空胞化が認められた。これらの変化は休薬による回復性が認められた。以上のことから、全身性の無毒性量は、雌雄ともに500 mg/kg/day

と判断された。

一方、尋常性ざ瘡患者における臨床薬理試験（2.7.2.2.2.1 参照）では、M605101プラセボ、2.5% M605101及び5% M605101 約0.5 gを顔面全体に塗布したとき、安息香酸の C_{max} はそれぞれ0.01885、0.01967及び0.01966 $\mu\text{g/mL}$ であり、外用塗布によるBPOの全身移行性は低いと考えた。上述のラットの経口投与における生殖器毒性は1000 mg/kg/dayの大量投与でのみ認められたが、臨床投与経路が外用塗布であり、外用塗布によるBPOの全身移行性は低いことを考えると、生殖器毒性を発現する可能性は低いと考えた。

BPOの長期投与毒性については、安息香酸ナトリウムのイヌを用いた長期混餌投与毒性試験（公表論文）の成績から考察した。BPOは体内ではすべてが安息香酸に変換され、未変化体として存在しないことから、BPOの毒性は、安息香酸ナトリウムの毒性により評価可能と考えたことによる。上記試験では、203日間の投与期間に7.0 g/animal/dayまで漸増投与しても間代性痙攣発作を特徴とする安息香酸中毒は発現しなかった。休薬期間後の更なる反復投与で初めて安息香酸中毒が発現し、最小中毒量は860 mg/kg/dayと判断された。この投与量は、臨床推定最大量の0.5 mg/kg（体重50 kgのヒトに2.5% M605101 1 gを1日1回塗布、BPOがすべて安息香酸に変換され吸収されたと仮定）を大きく上回っていることから、臨床使用においてBPOは全身毒性を示さないと考えた。加えて、JECFA（FAO/WHO合同食品添加物専門家会議）にて、安息香酸の食品添加物としての1日許容摂取量は5 mg/kgと規定されているが、臨床推定最大量のBPOがすべて吸収されたととしても、安息香酸の1日許容摂取量の10%程度である。

以上より、M605101の臨床使用において、危惧すべき副作用を生じる可能性は低いと考えた。

2.4.4.3 遺伝毒性試験

細菌を用いた復帰突然変異試験、ほ乳類培養細胞を用いた染色体異常試験及びマウスを用いた小核試験（公表論文）の結果、いずれの試験においてもBPOは遺伝毒性を示さなかった。

なお、ほ乳類培養細胞を用いた染色体異常試験において、代謝活性化系の存在下で試験を実施していないが、*in vivo*のマウスを用いた小核試験の結果が陰性であったため、代謝条件下でBPOは染色体異常を誘発しないと判断した。

2.4.4.4 がん原性試験

■■■■社において、マウス及びラットを用いて、5% BPOゲルの経皮及び経口投与による2年間がん原性試験が実施された。その結果、BPOの発がん性はいずれの動物種においても陰性であった。また、CHPA（米国OTC薬協会）で実施されたマウス及びラットを用いた2年間経皮投与がん原性試験⁸⁾⁹⁾においても、BPOの発がん性は陰性であり、■■■■社の試験結果が再現されている。

以下に、■■■■社で実施された2年間がん原性試験の結果から、BPOの安全域を全身暴露と皮膚局所のそれぞれに対して考察した。臨床推定最大量である1 g（2.5% BPO製剤）を1日1回ヒトに塗布するとしたとき、体重を50 kgと仮定すると、その投与用量は0.5 mg/kgとなる。■■■■社の試験では、150 mg/kg/dayのBPOをSD系ラットに経口投与した結果、BPOは発がん性を示さなかった。これは、ヒトの臨床推定最大量と比べて300倍の量となる。また、ヒトの投与面積を400 cm^2 （おおよその顔の面積）と仮定すると、投与面積当たりの投与用量は0.06 mg/cm^2 となる。■■■■社の試験では、750 mg/kg/dayのBPOをCD-1系マウスに経皮投与（投与面積は5 cm^2 ）した結果、BPOは発がん性を示さなかった。CD-1系マウスの体重を0.040 kgと仮定すると、その投与用量は6 mg/cm^2 と試算され、ヒトの臨床推定最大量の100倍の量となる。すなわち、全身暴露では300倍、皮膚局

所では100倍の安全域があると試算された。

また、ヒト疫学調査の結果、BPOの使用と皮膚がんの増加に因果関係は認められておらず¹⁰⁾¹¹⁾、海外での長年に渡るBPO既存薬の臨床使用において発がん性を示唆する報告は確認されていない。

なお、BPOの発がん性に関する公的なレビューとして、IARC（国際がん研究機関）による発がん性評価の分類及びFDAによるOTC薬モノグラフがあるが、いずれもBPOのヒトにおける発がん性については否定している。すなわち、IARCによる発がん性評価の分類（1999年）では、「BPOの動物における発がん性は限られた実験条件下で認められているが、ヒトにおける発がん性について適切なエビデンスはない」とされ、Group3「発がん性物質と断定できない物質」に分類されている¹²⁾。また、FDAによるOTC薬モノグラフでは、2009年まで「データが不十分」とするカテゴリーIIIに分類されていたが、2010年3月4日付けの改訂で、「BPOを2.5%～10%含有する外用剤については、発がん性の可能性はない」とされ、BPOの分類はカテゴリーIII「データが不十分」からカテゴリーI「安全かつ有効」に変更されている¹³⁾。

以上、マウス及びラットを用いた2年間がん原性試験の結果が陰性であったこと、及びヒト疫学調査の結果、BPOの使用と皮膚がんの増加に因果関係は認められていないことから、M605101の臨床使用におけるヒトでの発がんリスクは極めて低いと考えた。

2.4.4.5 生殖発生毒性試験

BPOの「受胎能及び着床までの初期胚発生」及び「出生前及び出生後の発生並びに母体の機能」に関する影響については、公表論文を用いて評価した。なお、本試験はOECDテストガイドライン422のラットを用いた経口投与による反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験として実施されたものである。ラットにBPOの250、500、1000 mg/kg/dayを雄に29日間（交配前2週間から交配終了日まで）、雌には41～51日間（交配前2週間から妊娠期間を通して授乳3日目まで）反復経口投与した。1000 mg/kg群は、投与期間終了後に14日間休薬し、回復性を検討した。BPO投与の影響として、親動物では1000 mg/kg群の雄において、精巣で精子細胞の変性（アポトーシス、細胞腫大、多核巨細胞）、精巣上体で成熟した精子数の減少及び精子の変性（未成熟な精子や形態異常の精子）が認められ、1000 mg/kg群の雌においては、子宮の内腔上皮の空胞化が認められた。これらの変化は休薬による回復性が認められた。また、出生児では、1000 mg/kg群で出生児体重の減少（生後3日）及び軽度異常児発生率の増加が認められた。以上のことから、ラットにおけるBPOの親動物の一般毒性学的及び生殖能に対する無毒性量、並びに出生前及び出生後の発生に対する無毒性量はともに500 mg/kg/dayと判断された。

BPOの催奇形性については、安息香酸ナトリウムの公表論文の成績から考察した。ラットを用いた安息香酸ナトリウムの混餌投与による試験では、安息香酸ナトリウムとして700、1310 mg/kgに相当する用量において、催奇形性は認められなかった。また、マウス、ラット、ハムスター及びウサギを用いた安息香酸ナトリウムの強制経口投与による試験では、それぞれの最大投与量である175、175、300及び250 mg/kgの用量において、催奇形性は認められなかった。

以上より、BPOは高暴露した場合に生殖器毒性、出生児の発育阻害を示したが、本剤の臨床投与経路が外用塗布であり、外用塗布によるBPOの全身移行性は低いことを考えると、M605101の臨床使用において生殖能や発生に対して問題となる副作用を生じる可能性は低いと考えた。

2.4.4.6 局所刺激性試験

社で実施された5% BPOゲルのウサギにおける皮膚一次刺激性試験及び眼粘膜一次刺激

性試験の結果、皮膚一次刺激性は「ごく弱い刺激物」、眼粘膜一次刺激性は「刺激性なし」と評価された。

2.4.4.7 その他の毒性試験

2.4.4.7.1 皮膚感作性試験

BPOを用いた動物試験で、感作性の陽性結果が報告されており¹⁴⁾¹⁵⁾、BPOは皮膚感作能を有すると考えた。しかし、これらは検出感度が高い方法（Local lymph node assay：免疫増強剤であるアジュバントを用いた方法と同程度の検出感度を有する）あるいは高濃度（10%）BPOを用いて実施されたものである。

一方、臨床使用における実質的なリスクを評価するために、██████社において実施されたアジュバントを用いない方法（モルモットにおけるModified Buehler test）では、5% BPOゲルの皮膚感作性は陰性であった。

以上より、2.5% M605101の臨床使用における皮膚感作性のリスクは低いと考えた。

2.4.4.7.2 光毒性試験

██████社で実施された5% BPOゲルのウサギにおける光毒性試験の結果、光毒性は陰性と評価された。

2.4.4.7.3 不純物の安全性評価

M605101の不純物規格を2.3.P.5に示した。M605101の不純物のうち、安全性確認の必要な閾値である0.5%を越える不純物は安息香酸██████である。██████含量の上限は██%と設定しており、限度上限の██████が2.5% M605101に含まれるとした場合、██████として██%となる。これは、医薬品添加物としての使用前例である0.4%を下回るものである。その他、安全性確認の必要な閾値を越える不純物は認められていない。以上より、M605101の不純物規格について、安全性上の問題はないと判断した。

2.4.5 総括及び結論

BPOは化学工業では重合開始剤として使用されている強力な酸化剤である。一方、医薬品としては尋常性ざ瘡治療薬として、1960年代より欧米をはじめとする多くの国で販売されている。

(1) 薬理

＜効力を裏付ける試験＞

BPOは、尋常性ざ瘡の病態に関与している*P. acnes*、*S. epidermidis*及び*S. aureus*に対して抗菌作用を示した。また、BPOは*Propionibacteria*の抗菌薬耐性株に対して感受性株と同程度の抗菌作用を示した。以上の成績から、BPOは他の抗菌薬に対する感受性の違いにかかわらず抗菌作用を示し、このことが尋常性ざ瘡患者の炎症性皮疹の減少につながっていると考えられる。

BPOの抗菌作用機序は、既存抗菌薬のそれとは異なり、BPOの分解により生成したラジカルが直接、細菌の膜構造、DNA、代謝などを障害するためと考えられている³⁾⁵⁾⁶⁾。既存抗菌薬には複数の抗菌薬耐性菌が検出されていることから¹⁶⁾¹⁷⁾¹⁸⁾、長期使用による耐性化の懸念がある。これに対し、海外で長年使用されているBPOについては、この薬剤に対する耐性菌の情報はなく、むしろ「BPOに対する耐性菌はこれまでに発生していない」、あるいは「見つかったという報告はない」

と、耐性菌発生に否定的である¹⁹⁾²⁰⁾。また、The Global Alliance to Improve Outcomes in Acne（世界のざ瘡の専門家による研究組織）が2009年に発表した報告²¹⁾には、「BPOは耐性菌を発生させない」との記載もある。これらの報告は、BPOに対する耐性菌出現のリスクが低いことを示唆している。

抗菌作用に加えて、BPOは実験的ウサギ面皰モデルの毛漏斗部の角層肥厚を消失させ、角質細胞同士の結合に関与するデスモソームの増加も是正した。この成績は、BPOが角質細胞間の結合を弛めて角層剥離を促し、毛漏斗部の閉塞を改善することを示唆している。このようなBPOの角層剥離作用が尋常性ざ瘡患者における非炎症性皮疹の減少につながっていると考えられる。

<安全性薬理試験>

BPOの生理機能に対する影響として、大量暴露した場合に中枢神経系、自律神経系、消化器系及び体性神経系に対して作用を示したが、本剤の臨床投与経路が外用塗布であり、外用塗布によるBPOの全身移行性は低いことを考えると、M605101の臨床使用において危惧すべき副作用を生じる可能性は低いと考えた。

(2) 吸収・代謝・分布・排泄

2.5% M605101の*in vitro*ヒト皮膚透過性試験における累積透過量及び皮膚中薬物量を合わせた吸収率は塗布量の10%程度であった。

代謝の面では、BPOは皮膚（表皮及び真皮）中で安息香酸へと変換する。また、血漿中にBPOを添加しても数分で安息香酸へと変換する、更に、全身循環血中には未変化体は検出されず安息香酸又は馬尿酸として検出された。そのため、暴露量及び血漿中濃度推移を評価するための測定対象物質は安息香酸又はその代謝物である馬尿酸とした。

安息香酸の体内分布とその蓄積について、ラットに¹⁴C安息香酸ナトリウム水溶液を経口投与したとき、高値を示す組織はなく、蓄積も認められなかった。また、安息香酸はグリシン抱合体である馬尿酸に代謝され、ヒトにおいても投与後24時間までにすべて尿中排泄されることが報告されている。

以上より、2.5% M605101の経皮投与により、吸収されたBPOは速やかに安息香酸となり、更に馬尿酸に代謝され、尿に排泄されると考えた。

(3) 毒性

BPOの全身性に及ぼす影響として、経口投与により高暴露した場合に生殖器毒性、出生児の発育阻害が認められたが、本剤の臨床投与経路が外用塗布であり、外用塗布によるBPOの全身移行性は低いことを考えると、M605101の臨床使用において問題となる副作用を生じる可能性は低いと考えた。

投与部位皮膚の影響として、5% BPOゲルの皮膚一次刺激性が検討された結果、「ごく弱い刺激物」と評価された。5% BPOゲルの35日間反復投与においては、紅斑、浮腫及び落屑、病理組織学的には表皮の肥厚、角化亢進、慢性皮膚炎などの刺激性が認められ、BPO投与の影響が確認された。また、5% BPOゲルの皮膚感作性試験（Modified Buehler test）及び光毒性試験では、陰性結果が得られた。

BPOの発がん性に関して、マウス及びラットを用いて、5% BPOゲルの経皮及び経口投与による2年間がん原性試験が実施された結果、BPOの発がん性はいずれの動物種においても陰性であった。BPOの遺伝毒性に関しては、細菌を用いた復帰突然変異試験、ほ乳類培養細胞を用いた染色体異

常試験及びマウスを用いた小核試験のいずれにおいても陰性であった。また、ヒト疫学調査の結果、BPOの使用と皮膚がんの増加に因果関係は認められておらず、長年に渡るBPO既存薬の臨床使用において発がん性を示唆する報告は確認されていない。以上より、M605101の臨床使用におけるヒトでの発がんリスクは極めて低いと考えた。

以上、尋常性ざ瘡の外用剤治療を目的として、2.5%のBPOを含有するゲル剤（2.5% M605101）を開発した。上記の非臨床試験の結果より、2.5% M605101は尋常性ざ瘡の治療に有効かつ安全であると考ええる。

2.4.6 参考文献一覧

- 1) 山元修. 尋常性痤瘡. 標準皮膚科学 第10版. 橋本隆, 岩月啓氏, 照井正. 東京, 医学書院. 2013; 513-514.
- 2) 黒川一郎, 西嶋攝子. 尋常性痤瘡. 最新皮膚科学大系 第17巻 -付属器・口腔粘膜の疾患-. 玉置邦彦. 東京, 中川書店. 2002; 117-130.
- 3) Sagrafsky M, Yentzer BA, Feldman SR. Benzoyl peroxide: A review of its current use in the treatment of acne vulgaris. Expert Opin Pharmacother 2009; 10: 2555-2562.
- 4) Burkhart CG, Butcher C, Burkhart CN, Lehmann P. Effects of benzoyl peroxide on lipogenesis in sebaceous glands using an animal model. J Cutan Med Surg 2000; 4: 138-141.
- 5) 吉川敏一. III フリーラジカルと過酸化脂質. フリーラジカル. 大阪, メディカルレビュー社. 1988; 5-7.
- 6) Tanghetti EA, Popp KF. A current review of topical benzoyl peroxide: New perspectives on formulation and utilization. Dermatol Clin 2009; 27: 17-24.
- 7) 上出康二. 1-2-4 毛包閉塞と角化異常: 毛包はなぜつまる?. にきび最前線 第1版. 宮地良樹. 東京, メディカルレビュー社. 2006; 32-35.
- 8) Minnema DJ. Dermal oncogenicity study of benzoyl peroxide gels in mice. Consumer Healthcare Products Association (CHPA). 2001. Covance study No. 6711-100.
- 9) Minnema DJ. Dermal oncogenicity study of benzoyl peroxide gels in rats. Consumer Healthcare Products Association (CHPA). 2002. Covance study No. 6711-101.
- 10) Cartwright RA, Hughes BR, Cunliffe WJ. Malignant melanoma, benzoyl peroxide and acne: a pilot epidemiological case-control investigation. Br J Dermatol 1988; 118: 239-242.
- 11) Hogan DJ, To T, Wilson ER, Miller AB, Robson D, Holfeld K et al. A study of acne treatments as risk factors for skin cancer of the head and neck. Br J Dermatol 1991; 125: 343-348.
- 12) International agency for research on cancer. Re-evaluation of some organic chemicals, hydrazine and hydrogen peroxide. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans 1999; 71: 345-358.
- 13) Food and drug administration. Classification of benzoyl peroxide as safe and effective and revision of labeling to drug facts format; topical acne drug products for over-the-counter human use; final rule. Federal Register 2010; 75: 9767-9777.
- 14) Kimber I, Hilton J, Dearman RJ, Gerberick GF, Ryan CA, Basketter DA et al. Assessment of the skin sensitization potential of topical medicaments using the local lymph node assay: an interlaboratory evaluation. J Toxicol Environ Health A 1998; 53: 563-579.
- 15) Basketter DA, Gerberick GF. An interlaboratory evaluation of the Buehler test for the identification and classification of skin sensitizers. Contact Dermatitis 1996; 35: 146-151.
- 16) Patel M, Bowe WP, Heughebaert C, Shalita AR. The development of antimicrobial resistance due to the antibiotic treatment of acne vulgaris: A review. J Drugs Dermatol 2010; 9: 655-664.
- 17) Nishijima S, Kurokawa I, Katoh N, Watanabe K. The bacteriology of acne vulgaris and antimicrobial susceptibility of *Propionibacterium acnes* and *Staphylococcus epidermidis* isolated from acne lesions.

- J Dermatol 2000; 27: 318-323.
- 18) Nakase K, Nakaminami H, Noguchi N, Nishijima S, Sasatsu M. First report to high levels of clindamycin-resistant *Propionibacterium acnes* carrying *erm(X)* in Japanese patients with acne vulgaris. J Dermatol 2012; 39: 794-796.
 - 19) Leyden JJ, Del Rosso JQ, Webster GF. Clinical considerations in the treatment of acne vulgaris and other inflammatory skin disorders: Focus on antibiotic resistance. Cutis 2007; 79: 9-25.
 - 20) Weinberg JM. The utility of benzoyl peroxide in hydrophase base (Brevoxyl) in the treatment of acne vulgaris. J Drugs Dermatol 2006; 5: 344-349.
 - 21) Thiboutot D, Gollnick H. New insights into the management of acne: An update from the Global Alliance to Improve Outcomes in Acne Group. J Am Acad Dermatol 2009; 60: S1-S50.