トラクリア®小児用分散錠 32 mg
（ボセンタン水和物（Ro 47-0203））

CTD 第 2 部（モジュール 2）：CTD の概要（サマリー）

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.6 毒性試験の概要文

アクテリオンファーマシューティカルズジャパン株式会社

目次

目次 2
表一覧 2
略語の一覧 3
1. まとめ 4
2. 単回投与毒性試験 4
3. 反復投与毒性試験（トキシコキネティクス評価を含む） 4
4. 遺伝毒性試験 4
5. がん原性試験（トキシコキネティクス評価を含む） 4
6. 生殖発生毒性試験（用量設定試験及びトキシコキネティクス評価を含む） 4
6.1 幼若動物を用いた試験 4
6.1.1 幼若ラットにおける用量設定試験 4
6.1.2 幼若ラットを用いた毒性試験 5
6.1.3 安全域の計算 6
7. 局所刺激性試験 6
8. その他の毒性試験（実施している場合） 7
9. 考察及び結論 7

表一覧

表 1 幼若ラットにおけるボセンタンの平均血漿中濃度（用量設定試験） 5
表 2 幼若ラットにおけるボセンタンの全身曝露量（本試験） 6
表 3 安全域 6

略語の一覧

略号	略さない用語	日本語訳（内容）
AUC	Area under the plasma concentration vs time curve	血漿中濃度－時間曲線下面積
b.i.d.	*bis in diem*/twice daily	1 日 2 回
ET	Endothelin	エンドセリン
NOEL	No-observed-effect-level	無作用量
PAH	Pulmonary arterial hypertension	肺動脈性肺高血圧症

1. まとめ

ボセンタン（トラクリア®）はエンドセリン（ET）受容体（ET_A 及び ET_B）に対するデュアルアンタゴニストであり、肺動脈性肺高血圧症（PAH）の治療薬として、国内において 2005 年から製造販売されている薬剤である。

小児におけるボセンタンの作用を考察するため、ヒトの早産での新生児から成人期に相当する週齢の幼若ラットにボセンタンを投与し、毒性試験を実施したところ、無作用量（NOEL）は 15 mg/kg/日であると判断された。NOEL における薬物曝露量から安全域を算出したところ、生後 3 ヵ月～2 歳までの小児 PAH 患者では 8、2 歳～12 歳までの小児 PAH 患者では 7 であった（ボセンタンは全ての小児 PAH 患者に 2 mg/kg を 1 日 2 回（b.i.d.）投与した）（AC-052-373 試験、モジュール 5.3.3.2.3）。

ボセンタンは生後 4～20 日目の離乳前において、高用量群で幼若ラットの体重増加量を抑制したが、一般状態、発育、病理/組織学的所見、生殖能などその他の評価項目には影響を及ぼさず、成熟ラットを用いた毒性試験と比較して新たな標的臓器での毒性は認められなかった。

2. 単回投与毒性試験

本剤の申請のために実施した新たな試験はない。

3. 反復投与毒性試験（トキシコキネティクス評価を含む）

本剤の申請のために実施した新たな試験はない。

4. 遺伝毒性試験

本剤の申請のために実施した新たな試験はない。

5. がん原性試験（トキシコキネティクス評価を含む）

本剤の申請のために実施した新たな試験はない。

6. 生殖発生毒性試験（用量設定試験及びトキシコキネティクス評価を含む）

6.1 幼若動物を用いた試験

6.1.1 幼若ラットにおける用量設定試験

幼若ラットを用いた毒性試験（本試験）における至適投与用量を明らかにするため、Wistar 系幼若ラットを用いた用量設定試験を実施した（モジュール 4.2.3.5.4.1）。雌雄の新生／幼若 Wistar 系ラット（雌雄各 8 例/群）にボセンタン 0（溶媒）、60、300、1500 mg/kg/日を生後 4 日目から 25 日間反復経口投与した。母動物（F0 世代）には投与せず、離乳時（出生後 21 日目）まで出生児

を哺育させた。各腹の出生児数は雄 4 例、雌 4 例とし、雌雄各 1 例をそれぞれの投与群に割り付けた（同腹子内デザイン）。

雌雄各 6 例/群の出生児について、一般状態観察、体重測定及び行動観察を実施した。雌雄各 2 例/群の出生児について、21 日目に血漿中濃度を測定した。4 日目の薬物濃度測定のため選択した出生児から血液試料を採取した。死亡例は認められなかった。対照群と比較した投与期間終了時の平均体重減少率は、60、300 及び 1500 mg/kg/日を投与した雄でそれぞれ 13%、29%及び 43%、雌でそれぞれ 7%、14%及び 40%であった。感覚機能への影響は認められなかった。全ての用量において自発運動の低下が認められたが、体重減少に起因すると考えられた。

幼若ラットにおけるボセンタンの全身曝露量を表 1（用量設定試験）及び表 2（本試験、6.1.2 項）に示した。

表 1 幼若ラットにおけるボセンタンの平均血漿中濃度（用量設定試験）

採血ポイント	ボセンタン用量（mg/kg/日）	ボセンタン濃度（ng/mL）
4 日目	60	18600
	300	40000
	1500	120000
28 日目	60	24100
	300	41300
	1500	53200

以上の結果から、幼若ラットを用いた毒性試験（本試験）の用量として 15、45 及び 135 mg/kg/日の用量が適切と判断した。

6.1.2 幼若ラットを用いた毒性試験

幼若ラットにおけるボセンタンの作用を明らかにするため、生後 4 日目から 1 日 1 回ボセンタン 0（溶媒）、15、45 及び 135 mg/kg/日を反復経口投与した（モジュール 4.2.3.5.4.2）。本試験は雌雄各 20 例/群を用い、雌雄各 9 例/群をトキシコキネティクス用とした。各腹の出生児数は雄 4 例、雌 4 例とし、雌雄各 1 例をそれぞれの群に割り付けた（同腹子内デザイン）。離乳（生後 21 日目）後は、用量群別、雌雄別に飼育した。母動物（F0 世代）にはボセンタンを投与せず、離乳時まで出生児を哺育させた。

ボセンタンを投与した全例について一般状態観察、体重測定及び摂餌量を記録した。ボセンタンを 66 日間投与した動物において、病理、長骨長、臓器重量、肉眼及び顕微鏡検査の評価、並びにトキシコキネティクス評価を実施した。発育、行動、発情期間、交尾行動、生殖、精子機能の評価には 81 日以上ボセンタンを投与した動物を用いて検討した。

死亡例は認められなかった。ボセンタン 45 mg/kg/日以上を投与した群において、生後 21 日目（離乳）に体重増加量の抑制が認められた。69 日目には 135 mg/kg/日投与群の雌において摂餌量

及び体重増加量の抑制が認められた。発育、学習、記憶、病理、組織学的所見及び生殖能に影響はなかった。45 mg/kg/日以上を投与した雌において、大腿骨長が対照群と比較して短かったが、この所見は体重増加量の抑制によるものと考えられた。45 mg/kg/日以上を投与した群において、心重量の増加が認められたが組織学的所見との関連性はなく、ボセンタンの薬理作用に関連すると考えられた。135 mg/kg/日投与群において精巣及び精巣上体の重量が減少し、精子数の減少と関連が認められたが、精子形態への影響は認められなかった。

本試験における NOEL は 15 mg/kg/日と判断した。

表 2　幼若ラットにおけるボセンタンの全身曝露量（本試験）

採血ポイント	ボセンタン用量（mg/kg/日）	ボセンタン曝露量 AUC_{0-24}（ng·h/mL）	
		雄	雌
4 日目*	15	36200	30600
	45	57200	103000
	135	147000	189000
20 日目	15	59700	168000
	45	185000	270000
	135	282000	191000
69 日目	15	11800	22500
	45	20300	53700
	135	49900	78100

* AUC 値は 1 匹の 3 点の濃度測定に基づく。

6.1.3 安全域の計算

安全域の計算は、NOEL（15 mg/kg/日）を投与した生後 20～69 日目の幼若ラットの曝露量（最小値、最大値）と小児 PAH 患者に 2 mg/kg を b.i.d.投与した際の平均曝露量から計算した（表 3）。2 歳未満と 2 歳以上において曝露量に若干の相違が認められた（モジュール 5.3.3.2.3）。

表 3　安全域

小児年齢	2 mg/kg b.i.d.投与時の AUC_{0-24} [a]（ng·h/mL）	NOEL（15 mg/kg/日）投与時の AUC_{0-24} に基づく安全域 [b]
＜2 歳	7879	1.5～21.3 倍
≥2 歳	8820	1.3～19.0 倍

a：AC-052-373 試験（モジュール 5.3.3.2.3）、b：20 日目及び 69 日目の雌雄の AUC_{0-24}（最小値、最大値）から算出（モジュール 4.2.3.5.4.2）。

7. 局所刺激性試験

本剤の申請のために実施した新たな試験はない。

8. その他の毒性試験（実施している場合）

添加剤　*香料　の構成成分である　*添加物Ⅰ　は新添加剤に該当することから、当該毒性情報について CTD1.13.4.1.2 新添加剤に関する提出資料新添加物に関する概要に記載した。その他、本剤の申請のために実施した新たな試験はない。

9. 考察及び結論

ボセンタンの高用量群において幼若ラットの体重増加量の抑制が認められたが、一般状態、発育、病理/組織学的所見、生殖能などその他の評価項目には影響を及ぼさなかった。成熟ラットを用いた毒性試験と比較して新たな標的臓器での毒性は認められず、成熟ラットにおける毒性プロファイルと相違はなかった。

幼若ラットを用いた毒性試験の結果は、小児におけるボセンタンの安全性を示唆するものであった。

*新薬承認情報提供時に置き換えた

トラクリア®小児用分散錠 32 mg
（ボセンタン水和物（Ro 47-0203））

CTD 第 2 部（モジュール 2）：CTD の概要（サマリー）

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.7 毒性試験概要表

アクテリオンファーマシューティカルズジャパン株式会社

目次

目次.....2
略語の一覧.....3
1. 毒性試験：一覧表.....4
15　幼若動物を用いた毒性試験.....5

略語の一覧

略号	略さない用語	日本語訳（内容）
AUC	Area under the plasma concentration vs time curve	血漿中濃度－時間曲線下面積
BLQ	Below the limit of quantification	定量限界未満
C_{max}	Maximum observed plasma concentration	最大血漿中濃度
F	Female	雌
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
M	Male	雄
n.c.	Not calculable	計算不能
N/A	Not applicable	該当しない
NOAEL	No-observed-adverse-effect level	無毒性量
p	Present	あり
pp	Post partum	出生後
TK	Toxicokinetics	トキシコキネティクス
w/v	Weight/volume	重量／容積

1. 毒性試験：一覧表

被験物質：ボセンタン

試験の種類	動物種/系統	投与方法	投与期間	用量（mg/kg [a]）	GLP 遵守の有無	試験実施施設	報告書番号	CTD Location（module）
生殖発生毒性試験	Wistar 系幼若ラット	経口投与	pp 4 日目～pp 28 日目	60, 300, 1500	非遵守	[redacted] CH	C88621 T-10.181	4.2.3.5.4.1
	Wistar 系幼若ラット	経口投与	pp 4 日目～pp 84 日目	0, 15, 45, 135	遵守	[redacted] CH	C88610 T-10.407	4.2.3.5.4.2

a：下線は無作用量、N/A：該当しない、pp：出生後。

15　幼若動物を用いた毒性試験

2.6.7.15 A　幼若動物を用いた毒性試験（用量設定試験）

報告書番号 T-10.181
被験物質 : ボセンタン

動物種/系統	投与方法（溶媒/製剤）	投与期間	用量（mg/kg）	雌雄別動物数/群	NOAEL（mg/kg）	特筆すべき所見	報告書番号	CTD Location（module）
ラット/ Wistar 系	経口投与［0.5%(w/v)メチルセルロースを含む水性懸濁液］	pp 4 日目～ pp 28 日目	0, 60, 300, 1500	6 例/性/群（主試験） 2M/2F(TK) 同腹子内デザイン	定義されていない	体重増加量の抑制（最大−40%）	T-10.181	4.2.3.5.4.1

F：雌、M：雄、NOAEL：無毒性量、pp：出生後、TK：トキシコキネティクス、w/v：重量／容積。

2.6.7.15 B　幼若動物を用いた毒性試験（本試験）

報告書番号：T-10.407

報告書名 - ボセンタン：新生／幼若 Han Wistar 系ラットにおける作用の検討　被験物質：ボセンタン

動物種/系統：ラット/Wistar 系	**投与期間：**	**報告書番号：**T-10.407
開始時日齢：4 日	**サブセット I、III：** pp 4 日目～pp 69 日目 **サブセット II：** pp 4 日目～pp 84 日目以上	**試験実施施設の報告書番号：**C88610
初回投与日：20[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日	**投与方法：**反復経口投与	**CTD Location (module)：**4.2.3.5.4.2
試験系：同腹子内デザイン、3 つのサブセット	**溶媒/製剤：**0.5%(w/v)メチルセルロースを含む水性懸濁液	**GLP 遵守の有無：**遵守
無作用量：15 mg/kg/日		

収集したデータ：

全サブセット：死亡、臨床徴候、摂餌量（生後 21 日目以降）、体重

サブセット I：pp 70 日目に臨床検査、長骨長、臓器重量、組織病理所見

サブセット II：発育、行動、生殖系（発情期間、交尾行動、生殖データ、精子機能、精子細胞数）

サブセット III：pp 4、20、69 日目にトキシコキネティクス評価

pp：出生後。

2.6.7.15 B　幼若動物を用いた毒性試験（本試験）（つづき）

報告書番号：T-10.407
被験物質 : ボセンタン

1 日用量（mg/kg）	**0（対照群）**		**15**		**45**		**135**	
動物数	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
サブセット I	20	20	20	20	20	20	20	20
サブセット II	20	20	20	20	20	20	20	20
サブセット III	9	9	9	9	9	9	9	9
トキシコキネティクス：								
pp 4 日目								
$AUC_{0\text{-}24}$ (ng･h/mL)	n.c.	33.1	36200	30600	57200	103000	147000	189000
C_{max} (ng/mL)	7.98	8.17	10100	7640	23500	36100	34900	45200
pp 20 日目								
$AUC_{0\text{-}24}$ (ng･h/mL)	230	606	59700	16800	185000	270000	282000	191000
C_{max} (ng/mL)	26.4	71.1	8760	39500	28500	30200	36900	24800
pp 69 日目								
$AUC_{0\text{-}24}$ (ng･h/mL)	BLQ	BLQ	11800	22500	20300	53700	49900	78100
C_{max} (ng/mL)	BLQ	BLQ	3260	4550	6280	15500	8330	20500

BLQ：定量限界未満、n.c.：計算不能、pp：出生後。

2.6.7.15 B　幼若動物を用いた毒性試験（本試験）（つづき）

報告書番号 : T-10.407
被験物質 : ボセンタン

1 日用量（mg/kg）	**0（対照群）**		**15**		**45**		**135**	
動物数	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
サブセット I	20	20	20	20	20	20	20	20
サブセット II	20	20	20	20	20	20	20	20
サブセット III	9	9	9	9	9	9	9	9
特筆すべき所見 :								
死亡又は瀕死状態を屠殺	-	-	-	-	-	-	-	-
体重（% [a]）								
サブセット I（21 日目まで）	56	56	-	-	−10	−16	−23	−25
サブセット I（69 日目まで）	352	236	-	-	-	-	-	−11
サブセット II（21 日目まで）	54	41	-	-	−15	−15	−20	−23
サブセット II（69 日目まで）	342	224	-	-	-	-	-	-
摂餌量（% [b]）								
サブセット I（69 日目まで）	22.3	17	-	-	-	-	-	−11
サブセット II（69 日目まで）	22.8	17.4	-	-	-	-	-	-

- : 特筆すべき所見なし。
a - 投与期間終了時。対照群はグループの平均値（g）を表示。投与群は対照群との相違（%）を表示。統計学的有意差は実測値［相違（%）ではなく］に基づく。
b - 投与期間終了時。対照群は対象投与期間の平均値を表示。投与群は対照群との相違（%）を表示。

2.6.7.15 B　幼若動物を用いた毒性試験（本試験）（つづき）

報告書番号 : T-10.407

被験物質：ボセンタン

1 日用量（mg/kg）	**0（対照群）**		**15**		**45**		**135**	
動物数	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
サブセット I	20	20	20	20	20	20	20	20
サブセット II	20	20	20	20	20	20	20	20
サブセット III	9	9	9	9	9	9	9	9
状態観察	-	-	-	-	-	-	-	-
発育指標								
精巣下降（日数）	22.7	N/A	-	-	-	-	-	-
耳介の開展	3.0	2.9	-	-	-	-	-	-
切歯萌出	8.6	8.5	-	-	-	-	-	-
外皮発達開始	8.8	9.0	-	-	-	-	-	-
眼瞼開裂	14.8	14.7	-	-	-	-	-	-
膣開口	N/A	33.1	-	-	-	-	-	-
亀頭－包皮の分離	27.3	N/A	-	-	-	-	-	-
行動								
プライエル反射	p	p	p	p	p	p	p	p
自発運動（ビームカウント）	-	-	-	-	-	-	-	-
24 日目	171	216	-	-	-	-	-	-
69 日目	342	402	-	-	-	-	-	-
学習	-	-	-	-	-	-	-	-
記憶（秒）	3.34	3.42	-	-	-	-	-	-

- : 特筆すべき所見なし、N/A : 該当しない、p : あり。

2.6.7.15 B　幼若動物を用いた毒性試験（本試験）（つづき）

報告書番号：T-10.407
被験物質 : ボセンタン

一般毒性データ

1 日用量（mg/kg）	**0（対照群）**		**15**		**45**		**135**	
各観察日の動物数	雄：10	雌：10	雄：10	雌：10	雄：10	雌：10	雄：10	雌：10
血液学的検査	-	-	-	-	-	-	-	-
生化学検査								
21 日目	-	-	-	-	-	-	-	-
70 日目								
リン（mmol/L）	2.1	1.59	-	-	-	+15		+16
臓器重量（%）								
21 日目								
心臓 [c]	0.51	0.54	-	-	-	+30	+47	+50
精巣上体 [d]	0.045	N/A	-	N/A	−13	N/A	−31	N/A
精巣 [d]	0.25	N/A	-	N/A	-	N/A	−24	N/A
70 日目								
心臓 [c]	0.97	0.35	+13	-	+11	-	+13	+20
精巣上体 [d]	0.95	N/A	-	N/A	-	N/A	−12	N/A
精巣 [d]	3.56	N/A	-	N/A	-	N/A	−14	N/A
長骨長（%）								
21 日目	1.89	1.92	-	-	-	−5	-	−7
70 日目	2.94	2.98	+9	-	+8	−9	+6	−8

- : 特筆すべき所見なし、N/A：該当しない。
c - 体重に対する臓器重量比の対照群との相違を+/-で表示。数値は相対臓器重量の相違（%）を表す。統計学的有意差は実測値［相違（%）ではなく］に基づく。
d - 絶対臓器重量の相違を+/-で表示。数値は絶対臓器重量の相違（%）を表す。

2.6.7.15 B　幼若動物を用いた毒性試験（本試験）（つづき）

報告書番号：T-10.407

被験物質 : ボセンタン

1 日用量（mg/kg）	**0（対照群）**		**15**		**45**		**135**	
各観察日の動物数	雄：10	雌：10	雄：10	雌：10	雄：10	雌：10	雄：10	雌：10
顕微鏡検査								
70 日目	-	-	-	-	-	-	-	-
精子数 [e]	719.33	N/A	-	N/A	-	N/A	−14	N/A

- : 特筆すべき所見なし、N/A : 該当しない。

e - 対照群は左右の平均値を示す。投与群は対照群の平均精子数との相違（%）を示す。