# 2.6.6　毒性試験の概要文

# 目次

略号一覧 ..... 5
1 まとめ ..... 7
1.1 アダパレン ..... 7
1.2 BPO（文献データの要約） ..... 8
1.3 本剤 ..... 12
2 単回投与毒性試験 ..... 16
2.1 本剤－単回投与毒性試験 ..... 16
2.2 アダパレン－単回投与毒性試験： ..... 16
2.3 BPO－単回投与毒性試験（文献データの要約） ..... 16
2.3.1 マウスにおける単回投与毒性試験 ..... 16
2.3.1.1 単回経皮投与毒性試験 ..... 16
2.3.1.2 単回経口投与毒性試験 ..... 16
2.3.1.3 単回腹腔内投与毒性試験 ..... 17
2.3.2 ラットにおける単回投与毒性試験 ..... 17
2.3.2.1 単回経皮投与毒性試験 ..... 17
2.3.2.2 単回経口投与毒性試験 ..... 17
2.3.2.3 単回非経口投与毒性試験 ..... 18
2.3.3 ウサギにおける単回投与毒性試験 ..... 18
2.3.3.1 安息香酸の単回経皮投与毒性試験 ..... 18
2.3.3.2 単回経口投与毒性試験 ..... 18
3 反復投与毒性試験 ..... 18
3.1 本剤－反復投与毒性試験 ..... 18
3.1.1 ラットにおける 4 週間反復経皮投与毒性試験（本剤） ..... 19
3.1.2 イヌにおける 4 週間反復経皮投与毒性試験（本剤） ..... 19
3.1.3 ミニブタにおける 4 週間反復経皮投与毒性試験（本剤） ..... 20
3.1.4 ミニブタにおける 13 週間反復経皮投与毒性試験（本剤） ..... 21
3.2 アダパレン－反復投与毒性試験 ..... 22
3.3 BPO－反復投与毒性試験（文献データの要約） ..... 22
3.3.1 マウスにおける反復投与毒性試験 ..... 22
3.3.1.1 BPO の反復経皮投与毒性試験 ..... 22
3.3.1.2 BPO の反復経口投与毒性試験 ..... 24
3.3.1.3 BPO の反復皮下投与毒性試験 ..... 24
3.3.2 ラットにおける反復投与毒性試験 ..... 24
3.3.2.1 反復経口投与毒性試験 ..... 24
3.3.2.2 BPO の反復皮下投与毒性試験 ..... 26
3.3.3 非げっ歯類における反復投与毒性試験 ..... 27
3.3.3.1 安息香酸のウサギ反復経皮投与毒性試験 ..... 27
3.3.3.2 ネコ及びイヌにおける安息香酸の混餌投与毒性試験 ..... 27

4 遺伝毒性試験 ..... 28
4.1 本剤－遺伝毒性試験 ..... 28
4.2 アダパレン－遺伝毒性試験 ..... 28
4.3 BPO－遺伝毒性試験（文献データの要約） ..... 28
4.3.1 BPO の *in vitro* 遺伝毒性 ..... 29
4.3.1.1 *In vitro* 非哺乳類細胞系 ..... 29
4.3.1.2 *In vitro* 哺乳類細胞系 ..... 29
4.3.2 安息香酸及び安息香酸塩類の *in vitro* 遺伝毒性 ..... 30
4.3.2.1 *In vitro* 非哺乳類細胞系 ..... 30
4.3.2.2 *In vitro* 哺乳類細胞系 ..... 30
4.3.3 BPO の *in vivo* 遺伝毒性 ..... 31
4.3.4 安息香酸及び安息香酸塩類の *in vivo* 遺伝毒性 ..... 31
5 がん原性試験 ..... 31
5.1 本剤－がん原性試験 ..... 31
5.2 アダパレン－がん原性試験 ..... 32
5.3 BPO－がん原性試験（文献データの要約） ..... 32
5.3.1 BPO の経皮投与がん原性試験 ..... 33
5.3.1.1 マウスにおける経皮投与 ..... 33
5.3.1.2 ラットにおける経皮投与 ..... 34
5.3.2 BPO の経皮投与光がん原性試験 ..... 35
5.3.2.1 ヘアレスマウスにおける BPO 及びクロトン油の光がん原性試験 ..... 35
5.3.2.2 ヘアレスマウスにおける光がん原性試験 ..... 36
5.3.3 BPO のイニシエーション作用／プロモーション作用の検討 ..... 37
5.3.3.1 発がんイニシエーション作用 ..... 37
5.3.3.2 発がんプロモーション作用 ..... 37
6 生殖発生毒性試験 ..... 38
6.1 本剤－生殖発生毒性試験 ..... 38
6.2 アダパレン－生殖発生毒性試験 ..... 38
6.3 BPO－生殖発生毒性試験（文献データの要約） ..... 38
6.3.1 ラットにおける受胎能及び初期胚発生に関する試験 ..... 38
6.3.1.1 BPO の経口投与生殖発生毒性試験 ..... 38
6.3.1.2 安息香酸の経口投与生殖発生毒性試験 ..... 40
6.3.2 ラットにおける胚・胎児発生に関する試験 ..... 40
6.3.2.1 BPO の経口投与生殖発生毒性試験 ..... 40
6.3.2.2 安息香酸の経口投与生殖発生毒性試験 ..... 41
6.3.3 出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験 ..... 41
6.3.3.1 BPO の経口投与生殖発生毒性試験 ..... 41
6.3.3.2 安息香酸の経口投与生殖発生毒性試験 ..... 42
7 新生児を用いた試験 ..... 42

7.1 本剤－新生児を用いた試験 ..... 42
7.2 アダパレン－新生児を用いた試験 ..... 42
7.3 BPO－新生児を用いた試験 ..... 42
8 局所忍容性試験 ..... 42
8.1 本剤－局所忍容性試験 ..... 42
8.1.1 単回投与によるウサギ皮膚刺激性試験（本剤） ..... 43
8.1.2 単回投与によるウサギ眼刺激性試験（本剤） ..... 43
8.1.3 モルモット皮膚感作性試験（本剤） ..... 43
8.1.4 モルモット光毒性及び光感作性試験（本剤） ..... 43
8.2 アダパレン－局所忍容性試験 ..... 43
8.3 BPO－局所忍容性試験（文献データの要約） ..... 44
8.3.1 皮膚一次刺激性試験（BPO） ..... 44
8.3.1.1 ウサギ ..... 44
8.3.1.2 モルモット ..... 44
8.3.2 反復投与による皮膚刺激性試験（BPO） ..... 45
8.3.3 眼一次刺激性（BPO） ..... 46
8.3.4 皮膚感作性（BPO） ..... 47
8.3.5 皮膚光毒性及び光アレルギー性（BPO） ..... 47
9 その他の毒性試験 ..... 48
9.1 不純物の毒性試験 ..... 48
9.2 新添加物の安全性試験 ..... 48
10 考察及び結論 ..... 48
10.1 本剤 ..... 48
10.2 BPO ..... 49
11 参考文献一覧 ..... 53

## 表目次

表 1 BPO 又は安息香酸を用いて実施された毒性試験 ..... 10
表 2 本剤について実施した毒性試験プログラム ..... 13
表 3 本剤の成分及び組成 ..... 14
表 4 本剤を用いて実施した非臨床試験 ..... 15
表 5 ラットに 28 日間皮膚塗布したときのアダパレンの血漿中 AUC ..... 19
表 6 イヌに 28 日間皮膚塗布したときのアダパレンの血漿中 AUC ..... 20
表 7 ヒトとミニブタにおける本剤皮膚塗布量の比較 ..... 21
表 8 トキシコキネティクスパラメーター：ミニブタにおける 13 週間反復経皮投与毒性試験 ..... 22
表 9 BPO 及び安息香酸で得られた無毒性量のまとめ ..... 50

# 略号一覧

| 略称・略号 | 省略していない表現又は定義 | |
|---|---|---|
| ADI | Acceptable Daily Intake | 許容 1 日摂取量 |
| ADME | Absorption, Distribution, Metabolism, Excretion | 吸収・分布・代謝・排泄 |
| $AUC_{0-t}$ | Area under the plasma concentration-time curve from zero time to sampling time after administration | 時間 0 から投与後採血時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積 |
| BPO | Benzoyl Peroxide | 過酸化ベンゾイル |
| CHL 細胞 | Chinese Hamster Lung cells | チャイニーズハムスター肺由来細胞 |
| CHO 細胞 | Chinese Hamster Ovary cells | チャイニーズハムスター卵巣由来細胞 |
| CHPA | Consumer Health Producers Association | 米国大衆薬協会 |
| $C_{max}$ | Maximum plasma concentration | 最高血漿中濃度 |
| CNS | Central Nervous System | 中枢神経系 |
| DMBA | Dimethylbenzanthracene | ジメチルベンズアントラセン |
| DNA | DesoxyriboNucleic Acid | デオキシリボ核酸 |
| *E. coli* | *Escherichia coli* | 大腸菌 |
| FAO | The Food and Agriculture Organization of the United Nations | 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の基準 |
| GRASE | Generally Recognized As Safe and Effective | 一般的に安全かつ有効と認められる |
| HPRT | Hypoxanthine-guanine phosphoribosyltransferase | ヒポキサンチングアニンホスホリボシル転移酵素 |
| HPVC | High Production Volume Chemicals | 高生産量化学物質 |
| IARC | International Agency for Research on Cancer | 国際がん研究機関 |
| ICH | International Conference on Harmonization | 日米 EU 医薬品規制調和国際会議 |
| $ID_{50}$ | Irritant Dose 50: concentration causing an erythematous reaction in 50% of the animals exposed | Irritant Dose 50（50%刺激量）：50%の曝露動物に紅斑反応を誘発する濃度 |
| IT50 | Irritant Time 50: number of days necessary to produce irritant reactions in 50% of the animals | Irritant Time 50（50%刺激期間）：50%の動物に刺激反応を誘発するのに要する日数 |
| JECFA | Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives | FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議 |

## 略号一覧（続き）

| 略称・略号 | 省略していない表現又は定義 | |
|---|---|---|
| $LD_{50}$ | Lethal Dose 50 | 50%致死量 |
| LLNA | Local Lymph Node Assay | 局所リンパ節試験 |
| LOQ | Limit of Quantification | 定量下限（値） |
| MLA | Mouse Lymphoma Assay | マウスリンフォーマ試験 |
| MTD | Maximum Tolerated Dose | 最大耐量 |
| NDMA | Nonprescription Drug Manufacturers Association | （米）大衆薬工業協会 |
| OECD | Organisation for Economic Cooperation and Development | 経済協力開発機構 |
| OPPTS | The Office of Prevention, Pesticides and Toxic Substances | 米国環境保護庁（EPA）農薬・有害物質汚染防止局 |
| RBU | Robertson-Berger Units | |
| ROS | Reactive Oxygen Species | 活性酸素種 |
| *S. typhimurium* | *Salmonella typhimurium* | ネズミチフス菌 |
| SCCPNP | Scientific Committee on Cosmetic Products and Non-Food Products of the European Union | EU の化粧品及び非食品製品に関する科学委員会 |
| SCE | Sister Chromatids Exchange | 姉妹染色分体交換 |
| SIDS | Screening Information of Data Set program managed by the OECD to collect the information on the high production volume chemicals | 高生産量化学品に関する情報収集を目的として OECD により運用されているスクリーニング用情報データセット |
| SSB | Single Strand Breaks | 一本鎖切断 |
| tk | Thymidine Kinase | チミジンキナーゼ |
| $T_{max}$ | time to reach maximum plasma concentration | 最高血漿中濃度到達時間 |
| TPA | 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate | 12-O-テトラデカノイルホルボール-13-アセテート |
| US | United States | 米国 |
| UV | Ultraviolet | 紫外線 |
| UVR | Ultraviolet radiations | 紫外線照射 |
| WHO | World Health Organization | 世界保健機関 |

# 1　まとめ

アダパレン 0.1%／過酸化ベンゾイル 2.5%配合ゲル（以下、本剤）〕は、有効成分としてアダパレン及び過酸化ベンゾイル（以下、BPO）を含む配合剤である。アダパレンと BPO の配合の目的は、忍容性及び安全性プロファイルを許容範囲に保ちつつ、中等症から重症の尋常性ざ瘡における有効性を向上させることである。本剤は既に、海外 60 カ国（米国、EU、カナダ、オーストラリアなど）で承認されている（2016 年 2 月 16 日現在）。

アダパレンの毒性試験については、単剤の承認申請時に評価済みである（本 CTD [1.13.1.3.1]：ディフェリン®ゲル 0.1%の CTD 2.6.6 項参照）。

BPO は、海外では 20 年以上にわたり、20%までの濃度の数種類の製剤〔単剤又は抗菌薬（エリスロマイシン又はクリンダマイシン）との配合剤〕が、一般用（OTC）医薬品又は処方せん医薬品として幅広く使用されている。したがって、BPO の非臨床的並びに臨床的な安全性プロファイルは十分に確立していると考えられる。また、BPO は 2010 年 3 月 4 日、米国食品医薬品局（FDA）により GRASE (Generally Recognized As Safe and Effective) active ingredient（一般的に安全かつ有効と認められる有効成分）に分類された（Federal Register 2010 [文献 4.3.29]）。さらに、日本では、BPO の単剤〔BPO ゲル（2.5%）〕がざ瘡治療薬として開発され（藤村ら 2014 [文献 4.3.30]、川島ら 2014a [文献 4.3.45]、川島ら 2014b [文献 4.3.46]）、尋常性ざ瘡の適応症で 2015 年 4 月より販売されている（ベピオ®ゲル 2.5%、マルホ株式会社）。また、クリンダマイシン 1%と BPO 3%の配合剤（デュアック®配合ゲル、グラクソ・スミスクライン株式会社）も、尋常性ざ瘡の適応症で 2015 年 3 月に承認された。以上の状況を踏まえ、BPO の毒性試験は実施せず、この申請の補足情報として、BPO の毒性に関する文献の要約を示すこととした。

2 つの有効成分の毒性学的特性は十分に確認されており、それぞれ異なる毒性プロファイルを有するが、両成分とも皮膚刺激性を示す。

以下に、アダパレンに関して評価済みの既承認情報及び BPO に関する広範な文献データに基づく概要を示し、さらに、本剤を用いて実施した毒性試験について要約する。

## 1.1　アダパレン

アダパレンはレチノイド様薬理作用と抗炎症作用を有するナフトエ酸誘導体である。

アダパレンの安全性プロファイルは十分に検討されている。アダパレン 0.1% w/w 及び 0.3% w/w 製剤は、尋常性ざ瘡の局所治療薬として、既に多くの国で承認・販売されている。4 種類の 0.1%外用製剤（液剤、ゲル、クリーム、及びローション）が販売されているほか（ただし、世界各国で 4 種類すべてが販売されているわけではない）、1 種類の 0.3%外用ゲルが 15 カ国以上で販売されている。日本では、アダパレンゲル 0.1%（販売名：ディフェリン®ゲル 0.1%）が軽度から中等度の尋常性ざ瘡の治療薬として 2008 年から販売されている。

アダパレンについては、アダパレン原体（経口及び静脈内投与による試験）と 0.3% w/w までの濃度でアダパレンを含有する外用製剤を用いた下記の非臨床試験を実施している。

- げっ歯類及びイヌにおける経口又は経皮投与による単回投与毒性試験
- げっ歯類、ウサギ、及びイヌにおける最長 6 カ月の反復経口投与又は反復経皮投与、若しくはその両方による亜慢性及び慢性毒性試験（トキシコキネティクスの評価を含む）
- 生殖機能に対する影響、胚・胎児毒性及び催奇形性、並びに出生前及び出生後の発生に対する影響を評価する一連の試験（多くは経口投与により実施したが、一部の試験は経皮投与でも実施）
- 一連の遺伝毒性試験
- ラットにおける混餌投与による 2 年間のがん原性試験 1 件及びマウスにおける経皮投与による 2 年間のがん原性試験 1 件
- 局所安全性及び光毒性を評価する標準的な試験
- 包括的な吸収・分布・代謝・排泄（ADME）試験プログラム
- 日米 EU 医薬品規制調和国際会議（ICH）ガイドラインに準拠した安全性薬理試験（ICH M3 及び S7A）

これら非臨床試験から得られた総合的結論として、アダパレンはレチノイド様の活性を有しており、レチノイド類の化合物についてよく把握されている下記のような副作用以外の毒性を有しないということができる。

- 経皮投与（皮膚塗布）時の軽微から中等度の皮膚刺激性
- 大量全身曝露時のビタミン A 過剰症に類する影響
- 大量全身曝露時の催奇形性

なお、アダパレンは遺伝毒性を示さず、ヒトに対するがん原性は認められていない。

## 1.2　BPO（文献データの要約）

環境及びヒトに対する BPO の毒性が、高生産量化学物質（HPVC）に関する情報収集を目的として経済協力開発機構により運用されているスクリーニング用情報データセット（OECD SIDS）に基づいて評価された。この評価は、OECD との合意により韓国環境部が担当した。SIDS 評価当時、韓国国内での BPO 生産量は年間約 1357 トンであった。BPO の大半は、発泡性ポリスチレン又はその他の樹脂の製造工程で重合開始剤として使用されており、総生産量の 0.1%未満が小麦

粉などの食品の漂白剤として使用されている。消費者への曝露は、皮膚への化学製品（20%までの BPO を含有するざ瘡治療用外用剤）の塗布によっても発生する。

BPO の OECD SIDS 文書は、2002 年 8 月に発行された。動物で実施されたすべての毒性試験が詳細に報告され、初期評価プロファイル及び追加作業に関する勧告が提示されると共に、各試験の科学的信頼性が検討された（OECD SIDS for Benzoyl Peroxide 2002 [文献 4.3.61]）。また、BPO の非臨床及び臨床的安全性プロファイルは、FDA によっても評価され、BPO は 2010 年 3 月 4 日、FDA により GRASE active ingredient（一般的に安全かつ有効と認められる有効成分）に分類された（Federal Register 2010 [文献 4.3.29]）。海外では長年にわたり、BPO 濃度 10%までの一般用（OTC）医薬品のほか、BPO 濃度 20%までの処方せん医薬品〔単剤又は抗菌薬（エリスロマイシン、クリンダマイシンなど）との配合剤〕が幅広く使用されている。

OECD SIDS 文書には公表文献データが包括的にまとめられている。そこで、BPO の安全性プロファイルについては、この文書のデータ情報を優先的に参照することにより評価・確認することとした。以下の項に提示する単回投与毒性試験、反復投与毒性試験、及び生殖毒性試験は、同文書から引用した。同文書で 1 種類の毒性試験項目について複数の試験が記録されており、一連の公表文献に報告されている結果が質的に同様な場合には、科学的信頼性及び科学的情報の観点から、本 CTD に提示するのに最適と判断した試験を選択した。BPO の刺激性、感作性、遺伝毒性、がん原性、及び光がん原性を要約する際には、OECD SIDS 文書に報告された試験のみならず、その他の関連情報源に報告された試験も用いた。

BPO の全身毒性は、BPO とその主要代謝物（安息香酸）への全身曝露を最大とするため、主として経口投与により検討された。本 CTD「[2.6.4] 薬物動態試験の概要文」に示すように、経皮投与された BPO は、皮膚内で安息香酸にすべて変換された後、体循環に移行する。したがって、安息香酸の試験結果を BPO に当てはめて検討することも可能と考えられ、BPO の経皮投与毒性は、安息香酸の非経口投与及び経皮投与による毒性データからも評価する必要がある。安息香酸の経口投与後と非経口投与後の薬物動態には若干の差異があるものの（馬尿酸として排泄されるのは経口投与後のみ）、安息香酸の全般的な毒性プロファイルに関連する情報を含むと判断される場合には、経口投与データも提示することとした。BPO に関しては、オランダが安息香酸塩類に関する SIDS 文書を OECD に提出した（2001 年 11 月）。同文書には、安息香酸に関して得られているすべての毒性データが詳細に報告された。安息香酸とそのナトリウム塩及びカリウム塩は、主に保存剤として食品、化粧品、及び医薬品に幅広く使用されており、消費者への曝露は経口経路又は経皮経路により起こる。FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議（JECFA）は、安息香酸及び安息香酸塩（このグループには、ベンジルアルコール、酢酸ベンジル、ベンズアルデヒドが含まれる）に共通の許容 1 日摂取量（ADI）を安息香酸換算で 5 mg/kg 体重と規定した（OECD SIDS for Benzoates 2001 [文献 4.3.60]）。

**GLP 適用：**大多数の試験は実施時期が古かったため、概して GLP 基準に準拠していなかった。ただし、生殖発生毒性試験、がん原性試験、一部の遺伝毒性試験、光がん原性試験などの主要な試験は GLP に準拠して実施された。

**BPO 製剤：**毒性試験には様々な BPO 製剤が使用された。BPO の経皮投与には、原体、若しくは様々な濃度（多くは、最高 10%）のゲル、ローション、又は懸濁液が使用された。経口投与には、混餌投与のほか、コーン油又はメチルセルロースへの懸濁液が使用された。

**安息香酸製剤：**安息香酸の経口投与毒性試験には、コーン油又はメチルセルロースへの懸濁液、若しくは混餌投与が使用された。

公表文献から入手し得た毒性試験の一覧を表 1 に示す。

**表 1　BPO 又は安息香酸を用いて実施された毒性試験**

| 試験の種類及び試験期間 | 投与経路 | 動物種又は細胞 | 被験物質 |
|---|---|---|---|
| **単回投与毒性試験** | | | |
| | 経口、腹腔内 | マウス、ラット | BPO |
| | 経口、経皮 | マウス、ラット、ウサギ | 安息香酸 |
| **反復投与毒性試験** | | | |
| 80 週間 | 経口、皮下、経皮 | マウス | BPO |
| 29 日（雄）<br>5～6 週間（雌） | 経口 | ラット | BPO |
| 120 週間 | 経口、皮下 | ラット | BPO |
| 4 世代 | 経口 | ラット | 安息香酸 |
| 3 週間 | 経皮 | ウサギ | 安息香酸 |
| **遺伝毒性試験** | | | |
| *In vitro* | | | |
| 非哺乳類細胞系 | *In vitro* | ネズミチフス菌（*Salmonella typhimurium*：*S. typhimurium*）<br>大腸菌（*Escherichia coli*：*E. coli*） | BPO |
| | | ネズミチフス菌（*S. typhimurium*）<br>枯草菌（*Bacillus subtilis*） | 安息香酸 |
| 哺乳類細胞系 | *In vitro* | チャイニーズハムスター卵巣由来細胞（CHO 細胞）<br>チャイニーズハムスター肺由来細胞（CHL 細胞）<br>ハムスターV79 細胞<br>ヒトリンパ球<br>マウス表皮角化細胞<br>ヒト気管支上皮細胞<br>ラット肝細胞<br>T-51-B 細胞 | BPO |
| | | CHL 細胞<br>ヒトリンパ球 | 安息香酸 |

（次頁へ続く）

**表 1　BPO 又は安息香酸を用いて実施された毒性試験（続き）**

| 試験の種類及び試験期間 | 投与経路 | 動物種 | 被験物質 |
|---|---|---|---|
| **遺伝毒性試験（続き）** | | | |
| *In vivo* | 腹腔内 | マウス | BPO |
| | 経口 | ラット | 安息香酸 |
| **がん原性試験** | | | |
| がん原性 | 経皮 | マウス | BPO |
| | 経皮 | ラット | BPO |
| 光がん原性 | 経皮 | マウス | BPO |
| 腫瘍イニシエーション及びプロモーション作用 | 経皮 | マウス | BPO |
| **生殖発生毒性試験** | | | |
| 受胎能及び初期胚の発生 | 経口 | ラット | BPO |
| | 経口 | ラット | 安息香酸 |
| 胚・胎児発生 | 経口 | ラット | BPO |
| | 経口 | ラット | 安息香酸 |
| 出生前及び出生後の発生 | 経口 | ラット | BPO |
| | 経口 | ラット | 安息香酸 |
| **局所忍容性試験** | | | |
| 皮膚一次刺激性 | 経皮（皮膚塗布） | ウサギ、モルモット | BPO |
| 皮膚刺激性（反復投与） | 経皮（皮膚塗布） | ウサギ | BPO |
| 眼一次刺激性 | 結膜嚢（点眼） | ウサギ | BPO |
| 皮膚感作性 | 経皮（皮膚塗布） | マウス、モルモット | BPO |
| 光毒性、光アレルギー性 | 経皮（皮膚塗布） | モルモット | BPO |

**毒性試験で認められた主な所見を以下に示す：**

マウス、ラット、又はウサギに BPO 及び安息香酸を経皮投与、経口投与、又は非経口投与したときの急性毒性は極めて低い。

マウス及びラットに BPO を食餌中濃度 28.26、282.6、及び 2826 ppm（ヒトにおける BPO の分解産物としての推定平均 1 日摂取量の 10、100、及び 1000 倍に相当する濃度）で 80 週間（マウス）又は 120 週間（ラット）反復混餌投与したとき、薬剤投与に関連して認められた所見は、最高用量群のラットにおける体重減少及び精巣萎縮のみであった。高用量（1000 mg/kg/day）の BPO を 29 日間経口投与したラットでも、精巣及び精巣上体の萎縮が認められ、この所見は病理組織学的変化により裏付けられた。安息香酸の試験では、このような所見は認められなかった。

遺伝毒性に関しては、非哺乳類細胞系及び哺乳類細胞系を用いた *in vitro* 試験、又は *in vivo* 試験で陽性結果が認められることがあった。しかし、陽性結果が認められたのは高用量のみであり、用量依存性は見られなかった。また、同じ種類の試験で一貫して陽性結果が得られたわけではなかった。*In vivo* 試験では、単回投与後より反復投与後で陽性結果の頻度が高かったわけではなかった。結論として、BPO の遺伝毒性及びがん原性に関する Kirkland（2000 [文献 4.3.50]）の総説に基づき、BPO は染色体異常及び突然変異を引き起こさないが、デオキシリボ核酸（DNA）

損傷の誘発能を有すると判定された。DNA 損傷の誘発能は、おそらくフリーラジカル又は活性酸素を介した機序によると考えられる。

イニシエーション／プロモーション試験では、BPO にイニシエーション作用がないことが示されているが、文献データ間に矛盾がみられてはいるものの、BPO は、マウス及びハムスターにおいて化学物質によるイニシエーション処置〔例：ジメチルベンズアントラセン（DMBA）処置など〕の後にはプロモーション作用を示すと考えられた。

近年実施されたマウス及びラットへの高用量 BPO の連日経皮投与によるがん原性試験（GLP 準拠）2 件では、腫瘍誘発作用は認められなかった。BPO の皮下投与又は経口投与で行われた古い試験でも、がん原性がないことが確認されている。安息香酸もがん原性は認められていない。

最近、BPO のカーボマーゲル剤又はローション剤は、紫外線（UV）の皮膚がん原性を増強しないことが示され、光がん原性を有さないと判断された。

生殖機能に対する BPO の影響は、ラットへの経口投与による反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験において最近検討された。最高用量（1000 mg/kg/day）群では、精巣及び精巣上体に対する有害作用が認められたが、雄の受胎能、雌の受胎能、及び出産率に対する影響は見られなかった。1000 mg/kg/day 群では、生後 3 日における新生児体重がわずかな低値を示した。1000 mg/kg/day までの用量で催奇形性はみられなかった。過去に実施された安息香酸の経口投与試験では、ラットの生殖機能に対する影響は認められていない。

BPO は皮膚刺激性及び眼刺激性を有すると判断された。刺激性は、BPO 濃度及び製剤処方に高度に依存し、動物及びヒトで明らかに認められた感作性についても、同様であった。

しかしながら、BPO の光毒性及び光アレルギー性は認められていない。

以上のように、BPO の毒性は十分に特徴付けられている。

## 1.3　本剤

前項（1.1 項及び 1.2 項）に要約したように、有効成分であるアダパレン及び BPO は、皮膚刺激性以外はそれぞれ異なる毒性プロファイルを有する。

本剤について実施した非臨床毒性試験プログラム（表 2）の主な目的は、アダパレンと BPO を配合した市販予定製剤が、それぞれの有効成分を種々濃度で含有する市販単剤において既に認められているもの以外の新たな安全性上の懸念を生じないことを示すことであった。本剤の非臨床開発計画（特に反復投与毒性試験に用いる動物種及び試験期間）は、両有効成分（アダパレン及び BPO）の各単剤での非臨床毒性評価が既に確立されており、かつ国内外での豊富な臨床使用実績があることを勘案し、ICH M3 (R2)ガイドラインの勧告を踏まえて策定した。

本剤を用いて実施した試験の一覧を表 2 に示す。

**表 2　本剤について実施した毒性試験プログラム**

| 試験の種類及び試験期間 | 投与経路 | 動物種 |
|---|---|---|
| **反復投与毒性試験** | | |
| 4 週間 | 経皮 | ラット<br>イヌ<br>ミニブタ |
| 13 週間 | 経皮 | ミニブタ |
| **局所忍容性試験** | | |
| 皮膚一次刺激性 | 経皮 | ウサギ |
| 眼一次刺激性 | 点眼 | ウサギ |
| 皮膚感作性（Buehler 法） | 経皮 | モルモット |
| 皮膚光毒性及び光アレルギー性 | 経皮 | モルモット |

2 つの有効成分間の相互作用の可能性を検討するため、ラット（RDS.03.SRE.8502 試験 [評価資料 4.2.3.2.1]）及びイヌ（RDS.03.SRE.12307 試験 [評価資料 4.2.3.2.2]）にアダパレン 0.1%及び BPO 2.5%を含有する本剤を 4 週間経皮投与したときの全身作用及び局所作用を評価し、アダパレン 0.1%単剤の作用と比較した。新たな有害所見は認められなかった。

さらに、ミニブタを用いて、本剤の 13 週間の反復経皮投与毒性試験を実施した。

- 予備試験（RDS.03.SRE.12435 試験 [参考資料 4.2.3.2.3] 及び RDS.03.SRE.12446 試験 [参考資料 4.2.3.2.4]）

- 主要な 13 週間試験（RDS.03.SRE.12466 試験 [評価資料 4.2.3.2.5]）

本剤の 13 週間反復経皮投与毒性試験（RDS.03.SRE.12466 試験 [評価資料 4.2.3.2.5]）では、本剤投与群で認められた所見は、両有効成分の安全性プロファイルから予想された所見である、皮膚刺激反応（紅斑及び病理組織学的所見）のみであった。アダパレンの全身曝露量は定量下限を下回ったか極めて低値であった。無投与対照群及びゲル基剤投与群では、局所反応はみられなかった。このように、ミニブタを用いたこのブリッジング試験では、新たな有害作用は認められず、この結果から、本剤の安全性プロファイルが 2 つの有効成分の市販単剤の安全性プロファイルと同様であることが確認された。ミニブタは、皮膚がヒトの皮膚に形態学的に類似していることから、経皮投与の実験動物モデルとして、ヒトへの外挿に特に適していると考えられている（Swindle et al. 2012 [文献 4.3.71]）。以上のことから、本剤の 2 つの有効成分間に毒性学的相互作用は生じないと判断した。

ウサギ皮膚刺激性試験では、軽度の刺激性が認められた（RDS.03.SRE.12305 試験 [評価資料 4.2.3.6.1]）。本剤はウサギにおいて極めて軽微な眼刺激性を示したに過ぎなかったものの

（RDS.03.SRE.12741 試験 [評価資料 4.2.3.6.2]）、皮膚感作性試験（Buehler 法）では強度の感作性物質に分類された（RDS.03.SRE.8503 試験 [評価資料 4.2.3.6.3]）。モルモットの皮膚光毒性及び光感作性試験（RDS.03.SRE.12306 試験 [評価資料 4.2.3.6.4]）では、光毒性、光アレルギー性のいずれも認められなかった。

本剤の成分及び組成を表 3 に示す。

**表 3　本剤の成分及び組成**

| 成分名 | 機能 | 組成<br>%（w/w） |
|---|---|---|
| **有効成分** | | |
| アダパレン | 有効成分 | 0.10 |
| BPO | 有効成分、抗菌剤 | 2.50<br>（[redacted]） |
| **添加剤** | | |
| [redacted][a] | 増粘（ゲル化）剤 | [redacted] |
| ジオクチルソジウムスルホサクシネート | 界面活性剤 | 0.05 |
| エデト酸ナトリウム水和物 | 安定剤（キレート剤） | 0.10 |
| グリセリン | 湿潤剤 | 4.00 |
| ポロクサマー124[b] | 分散剤 | 0.20 |
| プロピレングリコール | 湿潤剤 | 4.00 |
| 精製水 | 溶媒 | 全量 100 |

[a] [redacted] は新添加物である（[redacted] の安全性評価については本 CTD「2.4 非臨床試験の概括評価」の[4.7.2] 新添加物の安全性評価を参照）

[b] 薬添規名：ポリオキシエチレン（20）ポリオキシプロピレン（20）グリコール

上記製剤は市販予定製剤であり、ミニブタ 4 週間及び 13 週間反復経皮投与毒性試験（RDS.03.SRE.12435 試験 [参考資料 4.2.3.2.3]、RDS.03.SRE.12446 試験 [参考資料 4.2.3.2.4]、及び RDS.03.SRE.12466 試験 [評価資料 4.2.3.2.5]）、並びに眼一次刺激性試験（RDS.03.SRE.12741 試験 [評価資料 4.2.3.6.2]）で使用した。ラット 4 週間反復経皮投与毒性試験（RDS.03.SRE.8502 試験 [評価資料 4.2.3.2.1]）、イヌ 4 週間反復経皮投与毒性試験（RDS.03.SRE.12307 試験 [評価資料 4.2.3.2.2]）、ウサギ皮膚一次刺激性試験（RDS.03.SRE.12305 試験 [評価資料 4.2.3.6.1]）、モルモット皮膚感作性試験（RDS.03.SRE.8503 試験 [評価資料 4.2.3.6.3]）、及びモルモット光毒性及び光アレルギー性試験（RDS.03.SRE.12306 試験 [評価資料 4.2.3.6.4]）では、[redacted] を行わず [redacted]（[redacted]）を用いて [redacted] した予備製剤（製剤番号 555.580）を使用した（概要表 [2.6.7.4.C]）。市販予定製剤と予備製剤の間のわずかな差は、本剤の安全性評価に影響を及ぼさないと判断される。

本剤を用いて実施した非臨床試験の全一覧を表 4 に示す。

**表 4　本剤を用いて実施した非臨床試験**

| 試験の種類 | 被験製剤[c] | 試験報告書番号<br>[CTD 第 4 部資料番号] |
|---|---|---|
| **毒性試験** | | |
| **反復投与毒性試験[a]** | | |
| Sprague-Dawley ラットを用いた 4 週間反復経皮投与毒性試験及びトキシコキネティクス試験 | 予備製剤 | RDS.03.SRE.8502<br>評価資料 [4.2.3.2.1] |
| ビーグル犬を用いた 4 週間反復経皮投与毒性試験及びトキシコキネティクス試験 | 予備製剤 | RDS.03.SRE.12307<br>評価資料 [4.2.3.2.2] |
| ミニブタを用いた 4 週間反復経皮投与毒性試験（予備試験） | 市販予定製剤 | RDS.03.SRE.12435<br>参考資料 [4.2.3.2.3] |
| ミニブタを用いた 13 週間反復経皮投与毒性試験（予備試験）及びトキシコキネティクス試験[b] | 市販予定製剤 | RDS.03.SRE.12446<br>参考資料 [4.2.3.2.4] |
| ミニブタを用いた 13 週間反復経皮投与毒性試験及びトキシコキネティクス試験 | 市販予定製剤 | RDS.03.SRE.12466<br>評価資料 [4.2.3.2.5] |
| **局所忍容性試験** | | |
| ウサギを用いた皮膚一次刺激性試験 | 予備製剤 | RDS.03.SRE.12305<br>評価資料 [4.2.3.6.1] |
| ウサギを用いた眼一次刺激性試験 | 市販予定製剤 | RDS.03.SRE.12741<br>評価資料 [4.2.3.6.2] |
| モルモットを用いた皮膚感作性試験（Buehler 法） | 予備製剤 | RDS.03.SRE.8503<br>評価資料 [4.2.3.6.3] |
| モルモットを用いた経皮投与による光毒性及び光アレルギー性試験 | 予備製剤 | RDS.03.SRE.12306<br>評価資料 [4.2.3.6.4] |

[a] トキシコキネティクスを評価した反復投与毒性試験では、アダパレンのみの血漿中濃度を分析した。

[b] RDS.03.SRE.12446 試験は、過剰量の薬物塗布とそれに関連する実験条件（石けんによるこすり洗い）に起因する重度の局所反応が発現したため、35 日目に終了した。

[c] 予備製剤と市販予定製剤については、上記の表 3 とその説明を参照。

# 2　単回投与毒性試験

## 2.1　本剤－単回投与毒性試験

本剤の単回投与毒性試験は実施しなかった。

両有効成分の単剤での単回投与毒性試験が報告されており、両成分ともに急性毒性が極めて低いことが示されている。反復投与毒性試験において毒性学的相互作用が認められなかったことから、本剤が誤って経口摂取されても急性症状を引き起こす可能性は低いと判断するに足る十分な非臨床データが既に存在すると考える。

## 2.2　アダパレン－単回投与毒性試験：

アダパレンの単回投与毒性試験については、単剤の承認申請時に評価済みである（本 CTD [1.13.1.3.1]：ディフェリン®ゲル 0.1%の CTD 2.6.6 項参照）。

## 2.3　BPO－単回投与毒性試験（文献データの要約）

マウス、ラット、及びウサギに BPO 及び安息香酸を単回投与したときの急性毒性が評価された。

### 2.3.1　マウスにおける単回投与毒性試験

#### 2.3.1.1　単回経皮投与毒性試験

BPO 及び安息香酸のマウス単回経皮投与毒性試験のデータは入手していない。

#### 2.3.1.2　単回経口投与毒性試験

##### 2.3.1.2.1　BPO の単回経口投与毒性試験

OECD テストガイドライン No. 401 に準拠して、ICR マウス（雌雄各 5 匹/群）に、0.5%メチルセルロース溶液に懸濁した BPO が 0 mg/kg 及び 2000 mg/kg の用量（10 mL/kg）で経口投与された。動物は投与後 14 日間にわたり観察された。本試験は 2001 年に GLP に準拠して実施された。BPO は Sigma 社により供給された。本試験に使用されたバッチの純度は 79.9%であった。

**結果**：投与後に死亡例はなかった。2000 mg/kg 群で認められた一般状態の変化は一過性の立毛のみであり、投与後 24 時間以内に消失した。剖検では、異常所見は認められなかった。

結論として、実施された試験条件下では、マウスにおける 50%致死量（$LD_{50}$）は 2000 mg/kg 超と判定された（OECD SIDS for Benzoyl Peroxide 2002 [文献 4.3.61]、概要表 [2.6.7.5]）。

#### 2.3.1.2.2 安息香酸の単回経口投与毒性試験

安息香酸の単回経口投与毒性試験は、実験方法に関する情報を入手できなかったが、1979 年に OPPTS 870.1100 ガイドラインに準拠して実施された。実施された試験条件下では、マウスにおける $LD_{50}$ は 2250 mg/kg であった（OECD SIDS for Benzoates 2001 [文献 4.3.60]、概要表 [2.6.7.5]）。

### 2.3.1.3 単回腹腔内投与毒性試験

CBA/R マウスに、再結晶化した BPO が 5、10、15、20、25、30、40、及び 50 µmol/匹の用量で腹腔内投与された。本試験は 1957 年に実施されたため、GLP 非準拠であった。

**結果**：投与後 14 日以内に全動物が死亡した。$LD_{50}$ は 20 µmol/匹（213 mg/kg に相当）と判断された（OECD SIDS for Benzoyl Peroxide 2002 [文献 4.3.61]、概要表 [2.6.7.5]）。

## 2.3.2 ラットにおける単回投与毒性試験

### 2.3.2.1 単回経皮投与毒性試験

BPO 及び安息香酸のラット単回経皮投与毒性試験のデータは入手していない。

### 2.3.2.2 単回経口投与毒性試験

#### 2.3.2.2.1 BPO の単回経口投与毒性試験

雄アルビノ Spartan ラット（5 匹/群）に、コーン油に懸濁した BPO が 5000 mg/kg の用量（20 mL/kg）で経口投与された。動物は投与後 14 日間にわたり観察された。投与前及び投与 14 日後に体重が測定された。本試験は 1973 年に実施されたため、GLP 非準拠であった。

本試験に使用された BPO の純度は 78%であった。

**結果**：投与後に死亡例はなかった。5000 mg/kg 群では一般状態並びに体重に対して薬剤投与に関連した影響は見られなかった。

結論として、実施された試験条件下では、ラットにおける $LD_{50}$ は 5000 mg/kg 超と判定された（OECD SIDS for Benzoyl Peroxide 2002 [文献 4.3.61]、概要表 [2.6.7.5]）。

#### 2.3.2.2.2 安息香酸の単回経口投与毒性試験

欧州指令 84/449/EEC, B.1 に準拠して、Spartan ラット（雌雄各 5 匹/群）に、コーン油に懸濁した安息香酸が 500 mg/kg、1250 mg/kg、1984 mg/kg、3150 mg/kg、及び 5000 mg/kg の用量（10 mL/kg）で経口投与された。動物は投与後 14 日間にわたり観察された。本試験は 1974 年に実施されたため、GLP 非準拠であった。工業用グレードの安息香酸が使用された。

**結果**：3150 mg/kg 群及び 5000 mg/kg 群で死亡例が認められ、Thompson の方法に基づき算出された $LD_{50}$ は 2565 mg/kg（2292～2870 mg/kg）であった。全生存動物の体重増加量は、14 日間の観察期間を通して正常であった（OECD SIDS for Benzoates 2001 [文献 4.3.60]、概要表 [2.6.7.5]）。

#### 2.3.2.3　単回非経口投与毒性試験

BPO 及び安息香酸のラット単回全身（非経口）投与毒性試験のデータは入手していない。

### 2.3.3　ウサギにおける単回投与毒性試験

#### 2.3.3.1　安息香酸の単回経皮投与毒性試験

ウサギ 4 匹の剃毛した背部皮膚に安息香酸 2000 mg/kg が単回塗布された。4 匹中 2 匹では、塗布前に被験部位が擦過された。被験部位は、閉塞性被覆材で 24 時間保護された。本試験は 1973 年に EPA OTS 798.1100 ガイドラインに準拠して実施された（GLP 非準拠）。工業用グレードの安息香酸が使用された。実施された試験条件下では、ウサギにおける $LD_{50}$ は 2000 mg/kg 超であった（OECD SIDS for Benzoates 2001 [文献 4.3.60]、概要表 [2.6.7.5]）。

#### 2.3.3.2　単回経口投与毒性試験

BPO 及び安息香酸のウサギ単回経口投与毒性試験のデータは入手していない。

以上の結論として、マウス、ラット、又はウサギに BPO 及び安息香酸を経皮投与、経口投与、又は非経口投与したときの急性毒性は極めて低い。

## 3　反復投与毒性試験

### 3.1　本剤－反復投与毒性試験

本剤を用いて実施した反復投与毒性試験を以下に示す。

- 本剤の局所作用及び全身作用をアダパレン 0.1%単剤と比較したラット及びイヌにおける 4 週間反復経皮投与毒性試験（それぞれ RDS.03.SRE.8502 試験 [評価資料 4.2.3.2.1] 及び RDS.03.SRE.12307 試験 [評価資料 4.2.3.2.2]）

- ミニブタ 13 週間反復経皮投与毒性試験（RDS.03.SRE.12466 試験 [評価資料 4.2.3.2.5]）と、先行実施した予備試験（RDS.03.SRE.12435 試験 [参考資料 4.2.3.2.3] 及び RDS.03.SRE.12446 試験 [参考資料 4.2.3.2.4]）

### 3.1.1　ラットにおける 4 週間反復経皮投与毒性試験（本剤）

**RDS.03.SRE.8502 試験（評価資料 [4.2.3.2.1]、概要表 [2.6.7.7.A]）**

RDS.03.SRE.8502 試験では、Sprague-Dawle 系ラット（雌雄各 10 匹/群）の体表面積の 10～15%に相当する部位（刈毛した正常皮膚）に、本剤、アダパレン 0.1%ゲル又はゲル基剤（2 mL/kg）を 4 週間連日塗布した。追加の群（雌雄各 6 匹/群）を設け、投与初日及び最終日にアダパレンのトキシコキネティクスを評価した。被験物質の経口摂取が試験結果に交絡しないよう、動物にカラーを装着させた。試験初日及び最終日に採血を行い、血漿中アダパレン濃度を測定した。体重、摂餌量、血液学的検査値、血液生化学的検査値、尿検査値、及び眼科検査項目に、薬剤投与に関連する群間差は見られなかった。薬剤投与に関連して認められた影響は、塗布部位の局所皮膚刺激反応のみであった。これらの影響は、投与開始後 2 週間以内に発現し持続した。4 週間の投与期間終了時の病理組織学的検査では、皮膚塗布部位にびまん性の軽微～中等度の表皮肥厚（棘細胞増生）と、びまん性の軽微～軽度の過角化が認められた。発現率は、本剤投与群でアダパレン単独投与群よりやや高かった。アダパレン及び BPO はともに局所刺激性を有することから、これらの影響は予期されたものであった。

表 5 に、本試験終了時に測定した平均血漿中 $AUC_{0\text{-}24h}$ 値を要約する。

**表 5　ラットに 28 日間皮膚塗布したときのアダパレンの血漿中 AUC**

| | アダパレンの平均血漿中 $AUC_{0\text{-}24h}$（ng•h/mL） | |
|---|---|---|
| | 本剤投与群 | アダパレン 0.1%ゲル投与群 |
| 雄 | 776 | 518 |
| 雌 | 811 | 662 |

出典：RDS.03.SRE.8502 試験

試験結果は、BPO を併用投与しても、アダパレンの薬物動態学的特性に影響を及ぼさないという仮説とおおむね一致した。

### 3.1.2　イヌにおける 4 週間反復経皮投与毒性試験（本剤）

**RDS.03.SRE.12307 試験（評価資料 [4.2.3.2.2]、概要表 [2.6.7.7.B]）**

RDS.03.SRE.12307 試験では、ビーグル犬（雌雄各 3 匹/群）の体表面積の 10%に相当する部位（刈毛した正常皮膚）に、本剤、アダパレン 0.1%ゲル、又はゲル基剤（2 mL/kg）を 4 週間連日塗布した。各回の塗布後には、塗布部位を 6 時間閉塞被覆剤で保護した。被験物質の経口摂取が試験結果に交絡しないよう、動物にカラーを装着させた。トキシコキネティクス検討のため、試験初日及び最終日に採血を行い、投与開始時及び終了時の血漿中アダパレン濃度を測定した。

体重、摂餌量、血液学的検査値、血液生化学的検査値、眼科検査項目、及び心血管系検査項目に群間差は認められなかった。

薬剤投与に関連した影響は、塗布部位の局所刺激反応のみであった。これらの所見に伴う病理組織学的所見として、上皮過形成及び真皮における単核球の血管周囲性浸潤が認められた。上記の所見は、本剤投与群でアダパレン単独投与群よりやや顕著であった。すなわち、本剤投与群では紅斑及び落屑が認められ、アダパレン単独投与群では軽度で頻度が低い紅斑が認められた。2 つの有効成分はともに皮膚塗布により局所刺激性を示すことから、これらの影響は予期されたものであった。

表 6 に、本試験終了時に測定した血漿中 $AUC_{0\text{-}24h}$ 値を要約する。

**表 6　イヌに 28 日間皮膚塗布したときのアダパレンの血漿中 AUC**

| | 平均 $AUC_{0\text{-}24h}$ ± 標準偏差（ng•h/mL） | |
|---|---|---|
| | **本剤投与群** | **アダパレン 0.1%ゲル投与群** |
| 雄 | 376 ± 234 | 157 ± 86 |
| 雌 | 456 ± 75 | 532 ± 90 |

出典：RDS.03.SRE.12307 試験

### 3.1.3　ミニブタにおける 4 週間反復経皮投与毒性試験（本剤）

**RDS.03.SRE.12435 試験（参考資料 [4.2.3.2.3]、概要表 [2.6.7.6.A]）**

ミニブタ 13 週間反復経皮投与毒性試験の実施可能性を検討するため、予備試験として 4 週間反復経皮投与毒性試験〔RDS.03.SRE.12435 試験（参考資料 [4.2.3.2.3]、概要表 [2.6.7.6.A]）〕を実施した。Göttingen 系ミニブタ（雌雄各 2 匹）の背部に本剤を 4 週間塗布した。皮膚塗布部位の有害皮膚反応とともに、痂皮形成、表皮過形成、表皮／表皮下浮腫、炎症性細胞といった病理組織学的変化が観察された。

本剤の忍容性は良好であり、同一の実験条件による 13 週間試験を引き続き実施しても問題ないと判断した。しかし、13 週間試験〔RDS.03.SRE.12446 試験（参考資料 [4.2.3.2.4]、概要表 [2.6.7.6.A]）〕では、重度の局所刺激性反応の発生により、投与開始 16 日後に倫理的配慮から実薬群の全動物の投与を中止した。本試験は試験 35 日目に終了した。この決定の後、本剤のミニブタ 13 週間反復経皮毒性試験に適した試験デザインとなるように実験条件を修正するため、RDS.03.SRE.12466 試験で過剰な局所反応が観察された理由を解明するための検討を実施した〔文書 KPE/BG/05104（参考資料 [4.2.3.2.6]）を参照〕。

アダパレン 0.1%及び BPO 2.5%を含有する本剤が刺激性を示すことは予期されたことであったが、この RDS.03.SRE.12446 試験（参考資料 [4.2.3.2.4]、概要表 [2.6.7.6.A]）で認められた重度の局所

反応は、過剰量の薬剤塗布とそれに関連する実験条件（皮膚表面の残存薬剤を除去するために行った石けんの使用とこすり洗い）に起因すると考えられた。主要なミニブタ 13 週間反復経皮投与毒性試験の実験条件は、これらの検討結果に基づき設定した。

### 3.1.4　ミニブタにおける 13 週間反復経皮投与毒性試験（本剤）

**RDS.03.SRE.12466 試験（評価資料 [4.2.3.2.5]、概要表 [2.6.7.7.C]）**

Göttingen 系ミニブタ（雌雄各 4 匹）の両側腹部（体表面積の約 10%に相当する刈毛した正常皮膚）に、本剤を 13 週間連日塗布した。

6 時間曝露した後、塗布部位を微温湯で洗浄し、乾燥させた。3 つの実薬投与群（0.125、0.25、及び 0.75 g/kg/day 群）のほかに、基剤対照群及び無処置対照群を設けた。最高用量群に塗布した製剤量は、最大使用条件下で実施した臨床薬物動態試験におけるヒトへの塗布量の約 9 倍であった（表 7 参照）。

**表 7　ヒトとミニブタにおける本剤皮膚塗布量の比較**

| | | 用量 | |
|---|---|---|---|
| **臨床試験** | | | |
| | | **g/day** | **mg/cm²** |
| 本剤の最大使用条件下での臨床薬物動態試験[a] | | 顔面、胸部、及び背部（1000 cm²）に 2 g/day 塗布 | 2 |
| **ミニブタ 13 週間毒性試験** [b] | | | |
| | | **g/kg/day** | **mg/cm²** |
| RDS.03.SRE.12466 試験 | 無処置対照群 | 0 | 0 |
| | 基剤対照群 | 0.75 | 18 |
| | 本剤投与群 | 0.125 | 3 |
| | 本剤投与群 | 0.25 | 6 |
| | 本剤投与群 | 0.75 | 18 |

[a] 出典：RD.06.SRE.18097 試験（本 CTD「[2.7.2] 臨床薬理の概要」参照）

[b] 体重に基づき算出：体重 6～17 kg；体表面積の 10%への塗布

In-life 期間中に死亡例は認められなかった。全用量群の塗布部位に認められた局所反応（非常に軽度～高度の紅斑）を除き、薬剤投与に関連する一般状態の変化は認められなかった。これらの所見の頻度及び発生率はおおむね用量増加に伴って上昇し、投与 2 週目から投与期間終了時にかけて出現した。無処置対照群及び基剤対照群では、局所反応は認められなかった。

体重、摂餌量、及び全身的一般状態には薬剤投与に関連する影響は認められなかった。剖検時に、本剤の投与に関連すると考えられる肉眼所見は認められなかった。塗布部位から採取した皮膚標

本には、軽微～軽度の表皮肥厚（棘細胞増生）、軽微～中等度の緊密 compact な過角化といった薬剤投与に関連する作用が認められた。

無処置対照群及び基剤対照群（第 1 群及び第 2 群）におけるアダパレンの血漿中濃度は、いずれも定量下限（LOQ = 0.25 ng/mL）未満であった。

本剤投与群では、初回投与後（0 日目）のアダパレンの血漿中濃度は全て定量下限（LOQ = 0.25 ng/mL）未満であった。最終投与後（13 週目）の血漿中濃度はほとんどが定量下限未満であり、0.25 g/kg/day 群の雌 2 匹、並びに 0.75 g/kg/day 群の雄 1 匹及び雌 2 匹のみで低い全身曝露が検出された。これらの、数は少ないが定量可能であったデータに基づく薬物動態パラメーターを表 8 に示す。

**表 8　トキシコキネティクスパラメーター：ミニブタにおける 13 週間反復経皮投与毒性試験**

| ゲル塗布量（g/kg/day） | 動物番号 | 性別 | $C_{max}$（ng/mL） | $T_{max}$ | $AUC_{0\text{-}24h}$（ng•h/mL） |
|---|---|---|---|---|---|
| 0.25 | 29F | 雌 | 0.43 | 1 | 8.26 |
| | 32F | | 0.56 | 1 | 8.55 |
| 0.75 | 34M | 雄 | 0.84 | 24 | 12.29 |
| | 38F | 雌 | 1.74 | 24 | 31.32 |
| | 39F | | 0.62 | 1 | 13.07 |

出典：RDS.03.SRE.12466 試験

## 3.2　アダパレン－反復投与毒性試験

アダパレンの反復投与毒性試験については、単剤の承認申請時に評価済みである（本 CTD [1.13.1.3.1]：ディフェリン®ゲル 0.1%の CTD 2.6.6 項参照）。

## 3.3　BPO－反復投与毒性試験（文献データの要約）

### 3.3.1　マウスにおける反復投与毒性試験

#### 3.3.1.1　BPO の反復経皮投与毒性試験

アルビノマウス及びアルビノラットを用いた反復投与毒性試験が実施された（Sharratt et al. 1964 [文献 4.3.66]、概要表 [2.6.7.7.D], [2.6.7.7.E], [2.6.7.7.F], [2.6.7.7.G], [2.6.7.7.I]）。

**経口投与**（マウス：概要表 [2.6.7.7.E]、ラット：概要表 [2.6.7.7.G]）：

マウス及びラットがそれぞれ 4 群（FC 群、F3 群、F2 群、及び F1 群）に割り付けられた（いずれも雌雄各 25 匹/群）。これらの群は、BPO を濃度 0、28.26、282.6、及び 2826 ppm で含有する全粒小麦粉飼料〔市販の粉末 Novadelox®（組成：BPO 18%、炭酸マグネシウム 4%、硫酸カルシウム 78%）を濃度 0.0157、 0.157、又は 1.57%で含有する飼料〕を用いて飼育された。

マウス、ラットいずれについても、その他に 3 群（BC 群、B1 群、及び B2 群）が設けられた。うち 2 群（BC 群及び B1 群）は雌雄各 100 匹/群、1 群（B2）は雌雄各 25 匹/群とし、それぞれ BPO 濃度 0、28.26、及び 2.826 ppm の小麦粉から製したパン粉が給餌された。

**皮下投与**（マウス：概要表 [2.6.7.7.F]、ラット：概要表 [2.6.7.7.I]）：

雌雄各 25 匹/群のマウス及びラット（SIC 群及び SI 群）に、BPO 0 mg/匹及び 50 mg/匹（マウス）又は 120 mg/匹（ラット）が皮下投与された。デンプン溶液への BPO の 20%懸濁液が用時調製され、これらの群に投与された。

**経皮投与**（マウス：概要表 [2.6.7.7.D]）：

マウスの雌雄各 25 匹からなる群（T 群）が設けられ、BPO が背部皮膚に週 6 日塗布された。小麦粉ペーストへの BPO の 50%懸濁剤が用時調製され、1 匹あたり約 50 mg（BPO として約 25 mg）塗布された〔対照群（TC 群）には小麦粉ペーストのみ塗布〕。

いずれの種類の投与も、80 週間（マウス）又は 120 週間（ラット）の 1 日 1 回投与であった。一般状態が 1 日 2 回観察された。ラットの体重のみ、最初の 18 週間は週 1 回、その後は月 1 回測定された。全動物が剖検に供された。本試験は 1964 年に実施されたため、GLP 非準拠であった。

本項には、経皮投与による T 群及び TC 群のマウスの結果のみを示す [概要表 2.6.7.7.D]。

**結果**：

BPO 投与群（T 群）と対応する対照群（TC 群）の間で、死亡率の差は見られなかった。

対照群及び BPO 投与群の塗布部位には、数日後に脱毛部分が出現した。3～4 週間後には、毛が再び正常に成長していた。

各器官の肉眼検査及び病理組織学的検査では、薬剤投与に関連する病理学的所見は認められなかった。

以上の結論として、実施された試験条件下では、マウスに皮膚塗布したときの無毒性量は約 50 mg/匹（BPO として約 25 mg/匹）に相当すると判断された。

#### 3.3.1.2 BPO の反復経口投与毒性試験

本試験の実験デザインは 3.3.1.1 項に記載した（Sharratt et al. 1964 [文献 4.3.66]）。本項には、混餌投与によるマウスの FC 群、F3 群、F2 群、及び F1 群、並びに BC 群、B1 群、及び B2 群の結果のみを示す [概要表 2.6.7.7.E]。

**結果**：BPO 投与群と対応する対照群の間で、死亡率の差は見られなかった。各器官の肉眼検査及び病理組織学的検査では、薬剤投与に関連する病理学的所見は認められなかった。

以上の結論として、実施された試験条件下では、マウスにおける BPO の無毒性量は 2826 ppm に相当すると判断された。ただし、摂餌量の実測値が報告されなかったため、厳密な投与量は算出できなかった。

#### 3.3.1.3 BPO の反復皮下投与毒性試験

本試験の実験デザインは 3.3.1.1 項に記載した（Sharratt et al. 1964 [文献 4.3.66]）。本項には、皮下投与によるマウスの SCI 群及び SI 群の結果のみを示す[概要表 2.6.7.7.F]。

**結果**：BPO 投与群と対応する対照群の間で、死亡率の差は見られなかった。

15%のマウスでは、投与開始後 4 日以内に BPO 投与部位のわずかな腫脹が認められた。この腫脹は最大サイズ（直径 5 mm 径）に達した後、4 又は 5 日目に破裂し膿及び白色固形の内容物が排出された。皮膚は 14 日間で完全に治癒した。

各器官の肉眼検査及び病理組織学的検査では、薬剤投与に関連する病理学的所見は認められなかった。

以上の結論として、実施された試験条件下では、マウスに皮下投与したときの BPO の無毒性量は 50 mg/匹に相当すると判断された。

### 3.3.2 ラットにおける反復投与毒性試験

#### 3.3.2.1 反復経口投与毒性試験

##### 3.3.2.1.1 BPO の反復経口投与毒性試験（1）

本試験の実験デザインは 3.3.1.1 項に記載した（Sharratt et al. 1964 [文献 4.3.66]）。本項には、経口投与によるラットの FC 群、F3 群、F2 群、及び F1 群、並びに BC 群、B1 群、及び B2 群の結果のみを示す [概要表 2.6.7.7.G]。

**結果**：BPO 投与群と対応する対照群の間で、死亡率の差は見られなかった。薬剤投与に関連する一般状態の変化は認められなかった。

F1 群の雄又は雌、若しくはその両方で、16 カ月目まで統計学的に有意な体重減少が認められた。統計学的に有意な体重減少は、F2 群及び F3 群の雌でも最初の 1 カ月間、B1 群の雄でも 16 カ月目に認められた。B2 群の雄では、統計学的に有意な体重増加がおおむね投与期間を通して認められた。

検査 96 匹中 F1 群の 2 匹、及び検査 245 匹中 B1 群 + B2 群の 4 匹では、胃潰瘍の発生率が対応する対照群（0 匹）と比較して統計学的に有意に高かった。精巣萎縮の発生率は、F1 群（27 匹 vs. 対照群 4 匹）、B1 群（19 匹 vs. 対照群 11 匹）及び B2 群（23 匹 vs. 対照群 11 匹）で、対応する対照群と比較して統計学的に有意に高かった。

以上の結論として、実施された試験条件下では、ラットにおける BPO の無毒性量は 2.826 ppm に相当すると判断された。著者らは、この濃度が BPO のヒトにおける通常の推定 1 日摂取量にほぼ相当すると推定した。しかし、摂餌量の実測値が報告されなかったため、厳密な投与量は算出できなかった。

### 3.3.2.1.2　BPO の反復経口投与毒性試験（2）

反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験（GLP 準拠）が OECD テストガイドライン No.422 に従って実施された（Song et al. 2003 [文献 4.3.67]、概要表 [2.6.7.7.H]）。SD 系ラット（雌雄各 10 匹/群）に、コーン油に懸濁した BPO が 0 mg/kg/day、250 mg/kg/day、500 mg/kg/day、及び 1000 mg/kg/day の用量（5 mL/kg）で経口投与された。陰性対照群には、同じ実験条件で溶媒が投与された。生殖機能に対する影響を評価するため、陽性対照群 1 群（雌雄各 5 匹）にシクロフォスファミド 4.5 mg/kg/day が経口投与された。陽性対照群の結果は本項には示さない。陰性対照群及び最高用量群に雌雄各 5 匹が追加された。これらの休薬試験群は 14 日間の休薬期間後に屠殺された。BPO は Sigma 社により供給され、本試験に使用したバッチの純度は 71.8%であった。

雄の投与期間は、交配前 14 日間及び交配期間の 14 日間を含む 29 日間であった。雌の投与期間は、交配の 2 週間前から授乳 3 日目までであった。妊娠は腟栓により確認され、交尾が確認された日を妊娠 0 日目とされた。全動物とも連日観察された。体重は週 1 回記録された。哺育期間中の雌の体重は、授乳 1 日目及び 3 日目に測定された。最終投与後数日以内に、各群の雌雄各 5 匹について血液学的検査及び血液生化学的検査が実施された。回復試験群を除き、最終投与 24 時間後に屠殺された。投与終了時及び休薬期間終了時には、全動物の肉眼的観察を実施した。各投与群の雌雄各 5 匹及び回復試験群の全動物から主な器官が採取され、重量測定及び病理組織学的検査に供された。

**結果**：試験期間中の死亡例はなく、薬剤投与に関連する一般状態の変化は認められなかった。高用量回復試験群の雌で、29 日目に毒性学的意義のないわずかな体重増加（対照群と比較して 7%増加）が認められたことを除き、薬剤投与に関連する著しい体重変化は認められなかった。投与 1 週目及び 4 週目に、高用量群の雄で平均摂餌量の著しい増加が認められた。血液学的検査項目には、薬剤投与に関連する変化は認められなかった。

低用量群の雌でアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ活性の著しい低下及び高用量回復試験群の雌でアラニンアミノトランスフェラーゼ活性の低下が認められた。これらの変化には、毒性学的意義はないと判断された。

高用量群の雄で、左側精巣の絶対重量（$p < 0.05$）及び相対重量の統計学的に有意な減少が認められた。同じ群の右側精巣、及び低用量群並びに中用量群の両側精巣でも同様の傾向が認められたが、統計学的有意差は見られなかった。左右の精巣上体重量にも、わずかな用量依存的減少が認められた。回復期間終了時には、精巣上体重量は回復していたが、精巣重量の回復は不完全と思われた（回復期間終了時における陰性対照群の精巣重量が文献に記載されておらず、結論を得るにはデータが不足している）。高用量群の雌でのみ、腎臓の絶対重量（$p < 0.05$）及び相対重量の統計学的に有意な増加が認められたが、回復期間終了時には回復していた。

高用量群の病理組織学的検査では、軽微～高度な精子細胞の変性が 10 匹中 6 匹、軽微～高度な精巣上体変性が 10 匹中 4 匹に認められた。精母細胞の減少が 10 匹中 1 匹で認められた。雌では、腎臓重量増加に関連する特異的かつ意味のある病理学的所見は認められなかった。子宮に子宮内腔上皮の過形成及び空胞化（いずれも軽微）といった若干の変化が認められたが、毒性学的意義はなかった。

著者らは以上の結論として、実施された試験条件下では、ラットに経口投与したときの BPO の無毒性量は、雄で 500 mg/kg/day、雌で 1000 mg/kg/day に相当すると判断した。ただし、この文献に報告されたデータは厳密な無毒性量を決定するには不十分であると考える。

#### 3.3.2.1.3　安息香酸の反復経口投与毒性試験

4 世代試験では、雌雄各 20 匹/群のラットに安息香酸 0 mg/kg/day、375 mg/kg/day、又は 750 mg/kg/day が継続的に混餌投与された（OECD SIDS for Benzoates 2001 [文献 4.3.60]、概要表 [2.6.7.6.B]）。本試験は 1960 年代に実施されたため、GLP 基準及び反復投与毒性試験に関する現行のガイドラインに非準拠であった。これらの理由とともに、詳細な試験デザイン、血液学的検査及び血液生化学的検査に関する記載がなかったことから、本試験は主要でない試験とみなした。ただし、SIDS 評価報告書では、本試験は科学的に頑健と判断されている。

**結果**：全 4 世代において、体重、体重増加量、飼料効率、及び器官重量に薬剤投与に関連する変化は認められなかった。

実施された試験条件下では、ラットに経口投与したときの安息香酸の無毒性量は、750 mg/kg/day と判断された。

### 3.3.2.2　BPO の反復皮下投与毒性試験

本試験の実験デザインは 3.3.1.1 項に記載した（Sharratt et al. 1964 [文献 4.3.66]）。本項には、皮下投与によるラットの SIC 群及び SI 群の結果のみを示す [概要表 2.6.7.7.I]。

**結果**：5%のラットでは、投与開始後 4 日以内に BPO 投与部位のわずかな腫脹が認められた。この腫脹は最大サイズ（直径 10 mm）に達した後、4 又は 5 日目に破裂し膿及び白色固形の内容物が排出された。皮膚は 14 日間で完全に治癒した。

各器官の肉眼検査及び病理組織学的検査では、薬剤投与に関連する病理学的所見は認められなかった。

以上の結論として、実施された試験条件下では、ラットに皮下投与したときの BPO の無毒性量は 120 mg/匹に相当すると判断された。

### 3.3.3　非げっ歯類における反復投与毒性試験

#### 3.3.3.1　安息香酸のウサギ反復経皮投与毒性試験

ニュージーランド白色種ウサギ（雌雄各 4 匹/群）に、安息香酸 0 mg/kg/day、100 mg/kg/day、500 mg/kg/day、及び 2500 mg/kg/day（溶媒は報告されず）が週 5 日で 21 日間経皮投与（皮膚塗布）された（OECD SIDS for Benzoates 2001 [文献 4.3.60]、概要表 [2.6.7.6.B]）。半数の動物では擦過皮膚、残り半数の動物では正常皮膚が試験に供された。皮膚刺激反応の徴候、並びに一般行動及び外観の変化について、動物が連日観察された。体重は週 1 回記録された。投与期間終了時に、血液学的検査及び血液生化学的検査が実施された。肝臓、腎臓、甲状腺／副甲状腺、心臓、肺、卵巣、精巣、副腎、胃腸管、及び神経器官の肉眼検査及び病理組織学的検査が実施された。本試験は 1981 年に実施され、GLP 準拠状況が報告された。しかし、実験デザインの詳細が報告されなかったため、この未公表試験は主要でない試験とみなした。

**結果**：生存率、行動、体重、器官重量、及び臨床検査値には、薬剤投与に関連する影響は認められなかった。最高用量群の 8 匹中 1 匹で、非常に軽度の皮膚刺激反応が認められた。

実施された試験条件下では、ウサギに経皮投与したときの安息香酸の無毒性量は 2500 mg/kg/day に相当すると判断された。

#### 3.3.3.2　ネコ及びイヌにおける安息香酸の混餌投与毒性試験

ネコ及びイヌに対する安息香酸の混餌投与が報告されている。これらの試験結果は、データの信頼性が不確かであるため（部分的な報告）、開示目的で提示する。

ネコでは、200 mg/kg/day までの用量が 15～23 日間混餌投与されたとき、明らかな毒性作用は引き起こされなかった。300～420 mg/kg/day が 3～4 日間投与されたところ、4 匹中 2 匹が死亡し、肝障害及び腎障害の徴候が認められた（OECD SIDS for Benzoates 2001 [文献 4.3.60]、概要表 [2.6.7.6.B]）。

イヌでは、1000 mg/kg が 250 日間混餌投与されたとき、成長、食欲、及び全身健康状態への影響は認められなかったが、これより高用量（具体的用量は非公表）では、協調運動障害、けいれん、及び死亡が発生した（Baldrick 2001 [文献 4.3.7]、概要表 [2.6.7.6.B]）。

# 4　遺伝毒性試験

## 4.1　本剤－遺伝毒性試験

2 つの有効成分の単独投与による遺伝毒性は詳細に評価されている。実施された遺伝毒性試験の概要を以下に示す。

本剤の遺伝毒性試験は実施しなかったが、予定される臨床使用状況において本剤に遺伝毒性リスクがないことは、これまでに得られている各有効成分単剤の非臨床データにより十分に裏付けられているものと考える。

## 4.2　アダパレン－遺伝毒性試験

アダパレンの遺伝毒性試験については、単剤の承認申請時に評価済みである（本 CTD [1.13.1.3.1]：ディフェリン®ゲル 0.1%の CTD 2.6.6 項参照）。

## 4.3　BPO－遺伝毒性試験（文献データの要約）

BPO は強力な酸化剤である。この特性は、化学合成（重合開始剤）及び小麦粉の漂白に利用されている。医薬品として、BPO は酸素を緩徐に放出することから、特に嫌気性菌及び微好気性菌に対して抗菌作用を発揮する（Harvey 1985 [文献 4.3.36]）。これらの酸化作用に加え、活性酸素種（ROS）とフリーラジカルがタンパク質又は DNA と相互作用する可能性があることから、BPO の変異原性は慎重に検討する必要がある。多くの文献が存在するものの、BPO の遺伝毒性は広範囲には検討されていない。Kirkland（2000 [文献 4.3.50]）の総説を本概要の裏付けとして使用した。

また、BPO は皮膚内で安息香酸に代謝され、血漿中から安息香酸が検出される（本 CTD「[2.6.4] 薬物動態試験の概要文」参照）。そのため、安息香酸の変異原性も検討した。安息香酸の遺伝毒性は、OECD SIDS for Benzoates（2001 [文献 4.3.60]）に要約されており、安息香酸ナトリウムに関するデータも報告されている（概要表 [2.6.7.8.B]、[2.6.7.9.B]）。安息香酸ナトリウムは直ちに安息香酸へと解離するため、そのデータは安息香酸の遺伝毒性プロファイルを示すものと判断される。

BPO の[redacted]に関しては、医薬品[redacted]相談〔受付番号：[redacted]、対面助言実施日：[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日（CTD [1.13.2.1]）〕の際に医薬品医療機器総合機構（PMDA）に提出した医薬品対面助言申込書の添付資料 2「[redacted]」（ガルデルマ株式会社 [redacted]a [文献 4.3.1]）を参照されたい。この文書には、BPO の[redacted]を[redacted]提示している。したがって以下には、BPO に関する

重要なデータ、及び [redacted] 年の対面助言以降に入手したデータ、並びに安息香酸及び安息香酸塩類に関するデータのみを要約して提示する。

### 4.3.1 BPO の *in vitro* 遺伝毒性

以下に引用する文献は、Kirkland（2000 [文献 4.3.50]）の総説、OECD SIDS for Benzoates（2001 [文献 4.3.60]）、又は OECD SIDS for Benzoyl Peroxide（2002 [文献 4.3.61]）から抽出した（概要表 [2.6.7.8.A]）。

#### 4.3.1.1 *In vitro* 非哺乳類細胞系

BPO の突然変異誘発性については、ネズミチフス菌（*S. typhimurium*）を用いた複数の試験（Ames 試験）が報告されている（概要表 [2.6.7.8.A]）。古い試験の大半では、陰性結果が得られた〔Yamaguchi and Yamashita 1980 [文献 4.3.76]、De Flora et al. 1984a [文献 4.3.20]、De Flora et al. 1984b [文献 4.3.21]、Zeiger et al. 1988 [文献 4.3.80]、Dillon et al. 1998 [文献 4.3.23]、OECD SIDS for Benzoyl Peroxide（2002 [文献 4.3.61]）。これに対し、Matula et al.（1987 [文献 4.3.55]）の報告では、代謝活性化系非存在下で、ネズミチフス菌（*S. typhimurium*）TA 97 株に BPO の変異原性が認められた。この試験では、BPO はアセトン及びリン酸緩衝液に溶解されるかリポソームと混合された。著者らは、過去の試験で変異原性が認められなかった理由について、酸素ラジカルのスカベンジャーであるジメチルスルホキシド（DMSO）を溶媒としたことにより説明できると考えた。

BPO は、大腸菌（*E. coli*）において DNA 損傷を引き起こし（De Flora et al. 1984a [文献 4.3.20]）、DNA SOS 修復を誘導すること（Matula et al. 1987 [文献 4.3.55]）が示された（概要表 [2.6.7.8.A]）。

#### 4.3.1.2 *In vitro* 哺乳類細胞系

**染色体損傷：**

Kirkland（2000 [文献 4.3.50]）の総説には、明確な結果は報告されていない（概要表 [2.6.7.8.A]）。CHL 細胞を用いて実施した試験では、染色体異常は見られなかった（Ishidate et al. 1984 [文献 4.3.41]）。一方、CHO 細胞（Jaerventaus et al. 1984 [文献 4.3.44]）又はハムスターV79 細胞（Swierenga et al. 1987 [文献 4.3.70]）を用いた試験では、姉妹染色分体交換（SCE）の弱い増加が認められた（概要表 [2.6.7.8.A]）。

**DNA 鎖切断及び DNA 付加体：**

BPO は、ヒトリンパ球（Birnboim 1986 [文献 4.3.12]）、マウス表皮角化細胞（Hartley et al. 1985 [文献 4.3.35]）、及びヒト気管支上皮細胞（Gabrielson et al. 1990 [文献 4.3.31]）で DNA 一本鎖切断（SSB）を誘発した。SSB は、極めて高い毒性濃度、毒性を示さない濃度のいずれにおいても認められた。これに対し、マウス表皮角化細胞の初代培養（Kensler et al. 1988 [文献 4.3.47]）及

び子ウシ胸腺（Swauger et al. 1991 [文献 4.3.69]）では、タンパク質付加体が回収されたものの、DNA 付加体は検出されなかった。

BPO は、ラット肝細胞において、わずかながら様々な程度の不定期 DNA 合成も誘発した（Swierenga et al. 1987 [文献 4.3.70]）。また、T-51-B 細胞の HPRT 遺伝子座で散発的かつ用量非依存的に変異を増加させた（Swierenga et al. 1987 [文献 4.3.70]）。

### 4.3.2　安息香酸及び安息香酸塩類の *in vitro* 遺伝毒性

安息香酸及び安息香酸塩類の遺伝毒性は、OECD SIDS for Benzoates（2001 [文献 4.3.60]）で評価された。安息香酸及び安息香酸ナトリウムでの結果が示された試験を以下に引用する。ナトリウム塩は直ちに安息香酸へと解離するため、安息香酸ナトリウムの試験結果も安息香酸のデータを表すものと考えられる。

#### 4.3.2.1　*In vitro* 非哺乳類細胞系

代謝活性化系の存在下及び非存在下での Ames 試験の結果は陰性であった（OECD SIDS for Benzoates 2001 [文献 4.3.60]）。枯草菌（*Bacillus subtilis*）を用いた組換え試験では、陽性結果が示されている（OECD SIDS for Benzoates 2001 [文献 4.3.60]）。大腸菌（*E. coli*）WP2 株で実施した復帰突然変異試験では変異原性は認められなかった（Prival et al. 1991 [文献 4.3.62]）。（以上、概要表 [2.6.7.8.B]）

#### 4.3.2.2　*In vitro* 哺乳類細胞系

安息香酸とそのナトリウム塩及びカリウム塩は CHL 細胞（Ishidate et al. 1984 [文献 4.3.41]）及びヒトリンパ球（Yilmaz et al. 2009 [文献 4.3.78]、Zengin et al. 2011 [文献 4.3.81]）で染色体異常を誘発した。過去の試験では、安息香酸はヒトリンパ球で SCE を誘発しなかった（OECD SIDS for Benzoates 2001 [文献 4.3.60]）。しかし最近、安息香酸（Yilmaz et al. 2009 [文献 4.3.78]）及び安息香酸塩類（Zengin et al. 2011 [文献 4.3.81]）で陽性結果が報告されたが、これらの試験では、DNA 複製の抑制も認められた。これらの試験系では、代謝活性化は使用されなかった（概要表 [2.6.7.8.B]）。

安息香酸のナトリウム塩及びカリウム塩がヒトリンパ球に小核を誘発することも確認されたが（Zengin et al. 2011 [文献 4.3.81]）、これらの試験では、DNA 複製の抑制も認められた。

安息香酸は、ヒトリンパ球を用いたコメット・アッセイにおいて、検討された最高濃度（5 mM）のみで DNA 損傷を誘発し（Demir et al. 2010 [文献 4.3.22]）、これより高濃度ではアポトーシスの誘導が観察された。

### 4.3.3　BPO の *in vivo* 遺伝毒性

Kirkland（2000 [文献 4.3.50]）の総説（概要表 [2.6.7.9.A]）に提示された *in vivo* 試験は、1 件〔マウス優性致死突然変異試験（Epstein et al. 1972 [文献 4.3.27]）〕のみであった。試験結果は陰性であったが、供試動物数が少なかったこと、また、胚細胞は体細胞ほど感受性が高くないと認識されていることから、この試験結果は慎重に扱う必要がある。

OECD SIDS on benzoyl peroxide（2002 [文献 4.3.61]）には、2001 年に NIER が実施した小核試験（GLP 準拠）が報告されている。この試験では、ICR マウスに BPO が腹腔内投与された。高用量（100 mg/kg 及び 200 mg/kg）で毒性の徴候が誘発されたが、小核の誘発は認められなかった（概要表 [2.6.7.9.A]）。

別の動物種及び投与経路を用いた BPO のその他の *in vivo* 遺伝毒性試験は報告されていない。

### 4.3.4　安息香酸及び安息香酸塩類の *in vivo* 遺伝毒性

FDA により実施された安息香酸ナトリウムのラットを用いた *in vivo* 遺伝毒性試験 3 件（1974）が、OECD SIDS for Benzoates（2001 [文献 4.3.60]、概要表 [2.6.7.9.B]）に記載されている。

- 1 件目の試験は宿主経由試験（Host Mediated Assay）であった。ICR 系雄ラットに安息香酸ナトリウム 50 mg/kg、500 mg/kg、又は 5000 mg/kg が単回又は反復強制経口投与された。ネズミチフス菌（*S. typhimurium*）及び出芽酵母（*Saccharomyces cerevisiae*）が試験菌として使用された。500 mg/kg 単回投与後にネズミチフス菌（*S. typhimurium*）の TA1530 株で変異の増加が認められた以外は、用量及び投与方法（単回投与及び反復投与）にかかわらず、変異の増加は認められなかった。

- 2 件目の試験は、Sprague-Dawley 系雄ラットを用いた細胞遺伝学的試験（骨髄）であった（50 mg/kg、500 mg/kg、又は 5000 mg/kg の強制経口投与）。

- 3 件目の試験は、非近交系の雄ラットを用いた優性致死突然変異試験であった（50 mg/kg、500 mg/kg、又は 5000 mg/kg の単回又は反復強制経口投与）。

2～3 件目の試験の結果はいずれも陰性であった。

## 5　がん原性試験

### 5.1　本剤－がん原性試験

本剤のがん原性試験は実施しなかったが、予定される臨床使用状況において本剤にがん原性リスクがないことは、これまでに得られている各有効成分単剤の非臨床データにより十分に裏付けられているものと考える。

なお、以下の理由により、本剤を用いたがん原性試験を実施する必要はないと判断した。

- マウスでは、最大耐量を超える用量のアダパレンを経皮投与しても、がん原性は認められなかった（本 CTD [1.13.1.3.1]：ディフェリン®ゲル 0.1%の CTD 2.6.6 項）。
- Sprague-Dawley 系ラットでは、アダパレン経口投与により副腎褐色細胞腫が認められたが、ヒトには関連しない所見と判断された（本 CTD [1.13.1.3.1]：ディフェリン®ゲル 0.1%の CTD 2.6.6 項）。
- ラット及びマウスを用いた BPO の 2 年間経皮投与がん原性試験では、腫瘍は検出されていない（5.3.1.1 項及び 5.3.1.2 項）。
- 試験では、BPO のプロモーター作用が示されたが、この作用はおそらく ROS 生成によるものと考えられ、ROS に対しては防御機構が存在する（10.2 項）。
- これらのデータが FDA により評価され、BPO は FDA により 2010 年 3 月 4 日、GRASE active ingredient（一般的に安全かつ有効と認められる有効成分）に分類された（Federal Register 2010 [文献 4.3.29]）。

## 5.2　アダパレンーがん原性試験

アダパレンのがん原性試験については、単剤の承認申請時に評価済みである（本 CTD [1.13.1.3.1]：ディフェリン®ゲル 0.1%の CTD 2.6.6 項参照）。

## 5.3　BPOーがん原性試験（文献データの要約）

BPO の経皮投与（尋常性ざ瘡治療薬としての予定投与経路）によるがん原性試験は、マウス及びラットを用いて実施された。BPO の光がん原性も、2 件のマウス試験で検討された。BPO のイニシエーション作用及びプロモーション作用も、各種試験法により広範に検討されており、本概要文に要約して提示する。

BPO のがん原性は、皮下投与又は経口投与でも検討されている。ただし、BPO は経皮投与後、皮膚内で速やかかつ完全に安息香酸へと代謝され、体循環中から BPO が回収されないことが明らかにされているため、これらの試験結果は本文書には提示しない。安息香酸のがん原性データは得られていない。しかし、安息香酸ナトリウムをマウスに飲水投与及びラットに混餌投与したときのがん原性が、2 件の試験で検討されている。安息香酸ナトリウムは安息香酸へと解離することが知られているため、Baldrick（2001 [文献 4.3.7]）により報告されたこれらの試験データは興味深い。安息香酸ナトリウムは、これらの試験でがん原性を示さなかった。

BPO の[redacted]については、医薬品[redacted]相談〔受付番号：[redacted]、対面助言実施日：平成[redacted]年[redacted]月[redacted]日（本 CTD [1.13.2.1]）〕の際に PMDA に提出した医薬品対面助言申込書の添付資料 2「[redacted]」（ガルデルマ株式会社[redacted]a [文献 4.3.1]）に詳述しているので提出する。

### 5.3.1　BPO の経皮投与がん原性試験

公表されている 2 件のマウス試験では、予定の臨床投与経路による BPO のがん原性が検討されている。このうちの 1 件は最近の試験であり、現行のガイドラインに従い、GLP に準拠して実施された。もう 1 件は古い試験であったため、現行のがん原性試験デザインの基準に合致しておらず、GLP 非準拠であった。

#### 5.3.1.1　マウスにおける経皮投与

##### 5.3.1.1.1　CHPA により実施されたマウス経皮投与がん原性試験（CHPA 2001 [文献 4.3.16]）

本試験は GLP 準拠であった。雌雄 B6C3F1/CrlBR マウスに、BPO カーボポール®（カーボマー）ゲルを 104 週間経皮投与（皮膚塗布）した（概要表 [2.6.7.10.A]）。開始時の動物の週齢は 6 週齢であった。毎日（週 7 日）、剃毛したマウスの背部皮膚にゲル 0.1 mL を投与した。雌雄各 60 匹を、溶媒対照群、陰性対照群（無処置）、及び 3 用量群（低用量群、中用量群、及び高用量群）の各試験群に割り付けた。別に、雌雄各 50 匹を追加の回復群として組み入れ、この動物には最高用量を 52 週間投与した後、試験終了まで溶媒を投与した。雌雄各 20 匹は病原体感染チェック用のセンチネル（sentinel、見張り）群に使用した。回復群及びセンチネル群を除き、雌雄各 10 匹/群を 52 週目に屠殺した。生存動物は 104 週目に屠殺した。

投与量は 13 週間予備試験の結果に基づいて選択した。投与量は 1、5、又は 25 mg/マウス/day とした。それらはカーボポール®（カーボマー）ゲル中 1%、5%、及び 25%の BPO 濃度での適用に相当した。高用量群で強い皮膚反応（潰瘍形成）がみられたため、投与を中断する必要があり、投与再開時には用量を減少させた。最終的に、高用量群の動物には、25 mg/マウス/day を 58 週間、15 mg/マウス/day（BPO 濃度 15%）を 59 週～84 週及び 87 週～92 週の間、そして 57 週～58 週、85 週～86 週、及び 93 週から解剖前日までは溶媒を投与した。剖検及び病理組織学的検査では、中用量で最大耐量に相当する反応が生じており、高用量は最大耐量を超えていたことが示された。

**結果**：臨床所見については、投与部位以外は、対照群と投与群間に明らかな又は著明な薬剤投与関連の差はみられなかった。皮膚刺激反応及び皮膚潰瘍が中用量群及び高用量群、さらには回復群で観察され、発生時期の平均は用量に伴い短縮した。各群間に生存率の差はみられなかった。体重、体重増加量、及び摂餌量に、薬剤投与関連の一貫した変化は認められなかった。薬剤投与関連の腫瘍性病変のエビデンスは、投与 52 週後に屠殺したマウスでは観察されなかった。中間（53 週）及び最終（105～106 週）屠殺時には、非腫瘍性病変は BPO 投与動物の皮膚でのみ観察され、過角化、表皮肥厚（棘細胞増生）、表皮下の慢性炎症、及び皮脂腺肥大の発生率は用量依存的であった。これらの病変は、回復群でも、試験の最後の 10 週は溶媒を投与された高用量群でも記録されていないため、急速に消失している。本試験で観察された腫瘍スペクトルは、老齢の B6C3F1 マウスに典型的なものであった。

全般的に、良性腫瘍又は悪性腫瘍の発生率について群間に統計学的有意差はなかった。しかしながら、次の 2 件については統計学的有意差が認められた。

1. 悪性リンパ腫及び白血病の発生率は高用量群の雄で低かった。

2. 血管肉腫の発生率は低用量群の雌で最も高かったが、このような作用は中用量群及び高用量群では記録されなかった。

本試験では BPO 及び安息香酸のトキシコキネティクス測定は実施しなかった。従って、BPO 及びその主代謝物（安息香酸）の全身曝露については不明であった。

結論として、マウスの皮膚に 2 年間投与したカーボポール®（カーボマー）ゲル中の BPO は、皮膚及び他の組織や器官のいずれに対してもがん原性を示さなかった。

#### 5.3.1.1.2　マウス経皮投与がん原性試験（Sharratt et al. 1964 [文献 4.3.66]）

本試験は、現行のガイドライン及び GLP に非準拠で実施された（Sharratt et al. 1964 [文献 4.3.66]、概要表 [2.6.7.10.B]）。本試験の主な目的は、BPO 経口投与後のがん原性を検討することであったが、1 群では BPO が塗布された。小麦粉ペーストに BPO を濃度 50%となるよう用時懸濁し、アルビノマウス（雌雄各 25 匹）の背側頸部皮膚に 1 日 1 滴、80 週間塗布された。1 滴の重量は約 50 mg/匹であり、BPO の用量は約 25 mg/匹、すなわち 1250 mg/kg/day に相当した。対照群には、小麦粉ペーストが塗布された。

**結果**：対照群及び BPO 投与群の塗布部位には、数日後に脱毛部分が出現した。しかし、3～4 週間後には、毛が再び正常に成長していた。

生存率は BPO 投与群と対照群で同程度であった。腫瘍性病変の発生率は極めて低く、悪性腫瘍及び良性腫瘍の発生率は、BPO 投与群と対照群で等しかった。

### 5.3.1.2　ラットにおける経皮投与

#### 5.3.1.2.1　CHPA により実施されたラット経皮投与がん原性試験（CHPA 2002 [文献 4.3.17]）

本試験は GLP 準拠であった。雌雄 CDF®(F344)CrlBR ラットに、BPO カーボポール®（カーボマー）ゲルを 104 週間経皮投与（皮膚塗布）した（概要表 [2.6.7.10.C]）。開始時の動物の週齢は 6 週齢であった。毎日（週 7 日）、剃毛したラットの背部皮膚にゲル 0.3 mL/ラットを投与した。雌雄各 60 匹を、溶媒対照群、陰性対照群（無処置）、及び 3 用量群（低用量群、中用量群、及び高用量群）の各試験群に割り付けた。別に、雌雄各 50 匹を追加の回復群として組み入れ、この動物には最高用量を 52 週間投与した後、試験終了まで溶媒を投与した。雌雄各 20 匹は病原体感染チェック用のセンチネル（sentinel、見張り）群に使用した。回復群及びセンチネル群を除き、雌雄各 10 匹/群を 52 週目に屠殺した。生存動物は 104 週目に屠殺した。

投与量は 13 週間予備試験の結果に基づいて選択した。投与量は 5 mg/ラット/day、15 mg/ラット/day、又は 45 mg/ラット/day とした。それらはカーボポールゲル中 1.67%、5.0%、及び 15%の BPO 濃度での適用に相当した。

**結果**：蟯虫がみられたことを除き、センチネル群では、反復実施した血清学的検査において感染のエビデンスはみられなかった。

生存時一般状態観察では、群間に薬剤投与関連の差はみられなかった。皮膚の腫瘤と、まれにみられた軽度な紅斑は、薬剤投与との関連がないことが明らかであった。

生存に及ぼす薬剤投与関連の影響は認められなかった。

高用量群の雌における体重は、軽度（−6%）ではあるが有意に低かったものの、体重及び体重増加量に薬剤投与関連の差はないと考えられた。摂餌量についても同様であった。

中間屠殺（52 週）についての平均最終体重、器官絶対重量、器官重量／体重比、及び器官重量／脳重量比の値は全投与量群で同様であった。

投与 52 週又は 104 週で屠殺したラットにおける腫瘍性病変について薬剤投与関連の影響のエビデンスはなく、腫瘍性病変の種類や発生率は老齢 F-344 ラットに典型的なものであった。

中間屠殺（52 週）時に、非腫瘍性病変が皮膚でのみ観察され、その中では過角化、表皮肥厚（棘細胞増生）、慢性表皮下炎症、及び皮脂腺肥大の発生率が薬剤投与及び用量に関連していた。これらの変化は 52 週から 104 週の間で軽度に進行したのみであった。回復群では、皮膚病変の回復は完全ではなく、52 週間の休薬期間終了時に皮膚の過角化が残存していた。

本試験では BPO 及び安息香酸のトキシコキネティクス測定は実施しなかった。従って、BPO 及びその主代謝物（安息香酸）の全身曝露については不明であった。

結論として、カーボポール®（カーボマー）ゲル中の BPO は、15%までの濃度（45 mg/ラット/day）で 2 年間（104 週間）ラットの皮膚に投与しても、皮膚及び他の臓器・組織にがん原性作用を示さなかった。

### 5.3.2　BPO の経皮投与光がん原性試験

光がん原性が検討された目的は、BPO を UV 照射との組み合わせで塗布したとき、UV 誘発発がん性を間接的に増強することにより、皮膚腫瘍を誘発する可能性を評価することであった。

#### 5.3.2.1　ヘアレスマウスにおける BPO 及びクロトン油の光がん原性試験

Uscd（Hr）アルビノ・ヘアレスマウスを用いた光がん原性試験が実施された（Epstein et al. 1988 [文献 4.3.26]、概要表 [2.6.7.10.D]）。マウスの後背部の半分の領域に中波長紫外線（UVB）

270 mJ/cm$^2$が週 3 回、8 週間照射された。UVB 最終照射の 4 週間後、マウスを 4 群に分け、前背部（非照射部位）及び後背部（照射部位）に以下のものが投与された。

1. 第 1 群：0.1%クロトン油（溶媒：アセトン）0.1 mL

2. 第 2 群：アセトン（0.1 mL）

3. 第 3 群：BPO ローションの基剤（0.1 mL）

4. 第 4 群：5% BPO ローション（0.1 mL）

投与は週 3 回、62 週間にわたり行われた。

本試験は GLP 非準拠であった。

**結果**：生存率は高く、群間差は認められなかった。非照射部位における皮膚腫瘍の発生率は極めて低かった。照射部位における腫瘍発生率は、クロトン油投与群で著しく高かった（38%）。その他の 3 群（アセトン群、BPO ローション基剤群、及び 5% BPO ローション群）では、腫瘍発生率の著しい上昇は認められず、腫瘍を有するマウスの割合はそれぞれ 5%、4.5%、及び 8%であった。

以上の結論として、5% BPO ローションはクロトン油と異なり、UVB 照射による腫瘍発生率を上昇させなかった。

### 5.3.2.2　ヘアレスマウスにおける光がん原性試験

上記試験より新しい試験として、SKH1（hr/hr）アルビノ・ヘアレスマウス（雌雄各 39 匹/群）を用いた GLP 準拠の光がん原性試験が、試験依頼者と FDA の間で合意された試験計画に従って実施された（NDMA 1999 [文献 4.3.59]、概要表 [2.6.7.10.E]）。2 群には UV 照射のみを行い（UV 照射量：低照射量 600 Robertson-Berger Units（RBU）及び高照射量 1200 RBU）、この試験における反応の内部較正用とした。対照群には基剤（カーボポールゲル）のみが投与され、3 つの BPO 投与群には 1 mg/mL、15 mg/mL、又は 50 mg/mL の BPO を含有するカーボポール®（カーボマー）ゲル剤が投与された。投与量は予備試験に基づき設定された。月、水、及び金曜日には疑似太陽光 UV（600 RBU）の照射前、火及び木曜日には照射後にカーボポールゲルが背部と腹側部に 40 週間投与され、その後 12 週間の観察期間が設けられた。UV 照射量の 600 RBU は、腫瘍形成を誘発させる量として設定された。評価項目は、UV 照射単独群と比較した腫瘍出現時期とマウスあたりの腫瘍数とした。統計解析は未補正多重対比較を用いて行った。

**結果**：BPO 含有カーボポール®（カーボマー）ゲルは、基剤 + 低照射量 UV 及び低照射量 UV 単独と比較したとき、いずれの投与量でも、UV 照射誘発皮膚腫瘍形成を増加させなかった。これらの製剤を用いた予備試験では、最高濃度 50 mg/mL においても、BPO の光毒性、光防御作用のいずれも認められなかった。

結論として、実施された試験条件下では、カーボポール®（カーボマー）ゲル中 BPO は光発がん性を示さなかった。

### 5.3.3　BPO のイニシエーション作用／プロモーション作用の検討

1960 年代以降、各種実験手順による BPO の発がんイニシエーション作用及び発がんプロモーション作用の検討が多くの文献に公表されているが、発がんプロモーション作用に関する文献の方が多く存在する。BPO は元来、発がんイニシエーション／プロモーションの研究分野で研究ツールとして使用されてきた。その理由はおそらく、本概要文の遺伝毒性に関する項に示すように、フリーラジカル又は ROS を介した機序により DNA 損傷の誘発能を有することにあると考えられる。近年、Kirkland（2000 [文献 4.3.50]）はこれらの一連のデータを批判的に評価した。その主な結論を以下に報告する。

医薬品[redacted]相談〔（受付番号：[redacted]、対面助言実施日：[redacted]年[redacted]月[redacted]日（CTD [1.13.2.1]）〕の際に PMDA に提出した医薬品対面助言申込書の添付資料 2「[redacted]」（ガルデルマ株式会社[redacted]a [文献 4.3.1]）も参照されたい。この文書には、BPO の[redacted]を[redacted]示している。

#### 5.3.3.1　発がんイニシエーション作用

3 件の公表文献では、クロトン油、12-O-テトラデカノイルホルボール-13-アセテート（TPA）などの化合物を発がんプロモーターとして用いて、BPO 経皮投与のイニシエーション活性が検討された。これらの試験では、BPO が発がんイニシエーション活性を有さないことが示唆されている。

#### 5.3.3.2　発がんプロモーション作用

BPO の発がんプロモーション活性が報告された 14 件の公表文献が、Kirkland（2000 [文献 4.3.50]）により評価された。実験モデルの多くは経皮投与マウスであり、評価項目は皮膚腫瘍発生であった。DMBA、N-メチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン、ベンゾ[a]ピレンなどが発がんイニシエーターとして使用された。

Iversen（1988 [文献 4.3.42]）は、DMBA 又は UV によるイニシエーション後のマウスにおける BPO（Panoxyl® 5%）の皮膚発がんプロモーション作用を同じ試験の中で評価した。5% BPO の経皮投与により、DMBA 投与による腫瘍形成はわずかに増強されたが、UV 照射による腫瘍形成は増強されなかった。

1 件の文献では、最近作製されたトランスジェニック Tg:AC マウスモデルも使用された。

上記の試験では、結果に若干の不一致が見られ、使用したマウス系統により反応が大きく異なったものの、これらの実験モデルでは、化学物質によるイニシエーション処置後に BPO のプロモーション活性が認められた。

# 6 生殖発生毒性試験

## 6.1 本剤－生殖発生毒性試験

本剤の生殖発生毒性試験は実施しなかった。2 つの有効成分の間に相互作用が認められなかったことから、各有効成分について利用可能な非臨床データにより、生殖発生毒性に対する潜在的な危険性は十分に評価されていると考える。

本剤の生殖発生毒性はアダパレンの催奇形性に関連するものと考えられることより、安全域は催奇形性に基づき算出している（本 CTD「[2.4] 非臨床試験の概括評価」参照）。

本剤の経皮投与後に生殖機能に悪影響が生じるリスクは極めて低く、その特性は十分に検討されており、以下のように要約される。

- BPO 及び安息香酸は、500 mg/kg/day までの用量で生殖機能に対する明らかな影響及び催奇形性のいずれも認められていない。
- 本剤をヒトに塗布したときのアダパレンの定量可能であった血漿中濃度は、アダパレン単剤を投与した場合と比べて上昇しなかった（本 CTD「[2.7.2] 臨床薬理の概要」参照）。
- 長期安定性試験では、保存後に毒性の増大をもたらしうるような製剤成分間の相互作用は認められていない。

## 6.2 アダパレン－生殖発生毒性試験

アダパレンの生殖発生毒性試験については、単剤の承認申請時に評価済みである（本 CTD [1.13.1.3.1]：ディフェリン®ゲル 0.1%の CTD 2.6.6 項参照）。

## 6.3 BPO－生殖発生毒性試験（文献データの要約）

### 6.3.1 ラットにおける受胎能及び初期胚発生に関する試験

#### 6.3.1.1 BPO の経口投与生殖発生毒性試験

反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験が OECD テストガイドライン No.422 に準拠して実施された（Song et al. 2003 [文献 4.3.67]、概要表 [2.6.7.12.A]）。試験デザインと方法は、「3.3.2.1.2 BPO の反復経口投与毒性試験（2）」にも報告した。SD 系ラット（雌雄各 10 匹/群）に、コーン油に懸濁した BPO が 0 mg/kg/day、250 mg/kg/day、500 mg/kg/day、及び 1000 mg/kg/day の用量（5 mL/kg）で経口投与された。陰性対照群には、同じ実験条件で溶媒が投与された。陽性対照群 1 群（雌雄各 5 匹）にシクロフォスファミド 4.5 mg/kg/day が経口投与された。陰性対照群及び最高用量群に雌雄各 5 匹が追加された。これらの休薬試験群は 14 日間の休薬期間後に屠殺された。BPO は Sigma 社により供給され、本試験に使用したバッチの純度は 71.8%であった。

雄の投与期間は、の交配前 14 日間及び交配期間の 14 日間を含む 29 日間であった。雌の投与期間は、交配の 2 週間前から授乳 3 日目までであった。妊娠は腟栓により確認され、交尾が確認された日を妊娠 0 日目とされた。全動物とも連日観察された。体重は週 1 回記録された。哺育期間中の雌の体重は、授乳 1 日目及び 3 日目に測定された。回復試験群を除き、最終投与 24 時間後に屠殺された。投与終了時及び休薬期間終了時の剖検では、全動物の肉眼的観察を実施した。雄では、精子濃度、精子運動性、及び精子形態を評価した。雌では、着床部位数及び黄体数を記録した。交尾率、受胎率、及び妊娠率を算出し、着床前及び着床後胚損失率（%）を求めた。生後 24 時間以内に新生児の異常を検査した。成長及び発達を生後 3 日まで追跡した。中枢神経系（CNS）に対する BPO の影響は、一般状態観察及び神経組織の病理組織学的検査によってのみ評価した。

本試験は 2001 年に GLP に準拠して実施された。

**結果**：本項には、BPO が受胎能に影響を及ぼす可能性についてのみ記載する。

雄受胎能：雄では、体重増加量に薬剤投与に関連する変化は認められなかった。高用量群では、投与 1 週目及び 4 週目に摂餌量の著しい増加が認められた。

高用量群の雄で、左側精巣の絶対重量及び相対重量の統計学的に有意な減少が認められた。同じ群の右側精巣、及び低用量群と中用量群の両側精巣でも同様の傾向が認められたが、統計学的な有意性は見られなかった。精巣上体重量にも、わずかな用量依存的減少が認められた。陽性対照群でも、同様の影響が認められた。回復期間終了時には、精巣上体重量は回復していたが、精巣重量の回復は不完全と思われた（結論を得るにはデータが不足している）。病理組織学的検査では、高用量群において軽微～高度な精巣変性が 10 匹中 6 匹、軽微～高度な精巣上体変性が 10 匹中 4 匹に認められた。高度な精子数減少が認められたほか、精巣上体管腔内に変形した未成熟精子が充満していた。精子検査では、いくつかの形態学的変化（アポトーシス、細胞の膨化、多核巨細胞など）が認められた。

しかし、交尾及び受胎能に関する指標については、いずれの BPO 投与群にも対照群と比較して変化は認められなかった。対照群及び BPO 投与群のすべての雌が妊娠した。

雌受胎能：体重及び摂餌量には、薬剤投与に関連する影響は認められなかった。

高用量群の雌で受胎率（90%）が対照群（100%）と比較してわずかに低下したことを除き、交配期間、交配率、及び妊娠率に、薬剤投与に関連する変化は認められなかった。この変化には、毒性学的意義はないと判断された。黄体数及び着床部位数は、対照群と BPO 投与群の間で同程度であった。

結論として、実施された試験条件下では、ラットに経口投与したときの BPO の無毒性量を、雄の受胎能に関しては 500 mg/kg/day（精巣に対する悪影響を考慮）、雌の受胎能に関しては 1000 mg/kg/day と考えられる。

#### 6.3.1.2　安息香酸の経口投与生殖発生毒性試験

OECD SIDS for Benzoates（2001 [文献 4.3.60]、概要表 [2.6.7.11]）に報告されている 4 世代試験では、雌雄各 20 匹/群のラットに、安息香酸が 0%、0.5%、又は 1%濃度で継続的に混餌投与された。これらの混餌濃度は安息香酸の用量としてそれぞれ 0 mg/kg/day、375 mg/kg/day、又は 750 mg/kg/day に相当した。第 1 世代及び第 2 世代は生涯投与され、第 3 世代は 16 週間、第 4 世代は交配時まで投与された。本試験は 1960 年代に実施されたため、GLP 基準及び生殖発生毒性試験に関する現行のガイドラインに非準拠であった。これらの理由とともに、詳細な実験デザイン、血液学的検査及び血液生化学的検査に関する記載がなかったことから、本試験は主要でない試験とみなした。ただし、SIDS 評価報告書では、本試験は科学的に頑健と判断されている。

**結果**：4 世代いずれにおいても、成長及び器官重量、並びに受胎能に対する薬剤投与の影響は認められなかった。

実施された試験条件下では、ラットに経口投与したときの安息香酸の無毒性量は、750 mg/kg/day と考えられる。

### 6.3.2　ラットにおける胚・胎児発生に関する試験

#### 6.3.2.1　BPO の経口投与生殖発生毒性試験

SD 系ラット（雌雄各 10 匹/群）に、コーン油に懸濁した BPO が 0 mg/kg/day、250 mg/kg/day、500 mg/kg/day、及び 1000 mg/kg/day の用量（5 mL/kg）で経口投与された（Song et al. 2003 [文献 4.3.67]、概要表 [2.6.7.12.A]及び概要表 [2.6.7.13]）。試験デザイン及び方法の詳細は上記の 6.3.1.1 項を参照。

**結果**：本項には、胚・胎児発生に BPO が影響を及ぼす可能性についてのみ記載する。

母体への影響：妊娠期間中の体重に、陰性対照群と比較して BPO 投与による影響は認められなかった。

摂餌量には薬剤投与に関連する影響は認められなかった。

着床前及び着床後胚損失数は、対照群と BPO 投与群の間で同程度であった。

胚・胎児発生への影響：出生児数、性比、及び生存率には薬剤投与による影響は認められなかった。

新生児の観察では、250 mg/kg/day 群の 1 匹に二分脊椎が認められた。また、BPO の 0 mg/kg/day 群、250 mg/kg/day 群、500 mg/kg/day 群、及び 1000 mg/kg/day 群では、軽微な異常である成長遅延がそれぞれ 20、20、18、及び 60 匹に認められた。一方、陽性対照群では成長遅延が 8 匹認められた。いずれの群にも催奇形性は認められなかった。

結論として、実施された試験条件下では、ラットに経口投与したときの胚・胎児発生に関する BPO の無毒性量は 500 mg/kg/day と考えられる。

### 6.3.2.2　安息香酸の経口投与生殖発生毒性試験

Wistar 系妊娠ラットに対し、安息香酸のカルボキシメチルセルロースへの懸濁液 0 又は 510 mg/kg が妊娠 9 日目に単回投与された（Kimmel et al. 1971 [文献 4.3.49]、概要表 [2.6.7.11]）。妊娠 20 日目に屠殺し、着床部位及び胚吸収部位について子宮内容が観察された。生存胎児が摘出され、肉眼的奇形の有無を検査後、体重が測定され、病理組織学的検査用の標本が作製された。骨格検査も実施された。本試験は 1970 年代に実施されたため、GLP 基準及び生殖発生毒性試験に関する現行のガイドラインに非準拠であった。これらの理由とともに、詳細な実験デザインに関する記載がなかったことから、本試験は主要でない試験とみなした。

**結果**：安息香酸を投与した結果、死亡胚胎児及び着床後胚吸収は認められず、異常が見られた生存胎児の割合は 3%であった。これらの結果は対照群と同程度であった。

実施された試験条件下では、ラットに経口投与したときの安息香酸の無毒性量は、母体毒性及び胚・胎児発生に関して 510 mg/kg/day と考えられる。

## 6.3.3　出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験

### 6.3.3.1　BPO の経口投与生殖発生毒性試験

SD 系ラット（雌雄各 10 匹/群）に、コーン油に懸濁した BPO が 0 mg/kg/day、250 mg/kg/day、500 mg/kg/day、及び 1000 mg/kg/day の用量（5 mL/kg）で経口投与された（Song 2003 [文献 4.3.67]、概要表 [2.6.7.12.A] 及び [2.6.7.14]）。試験デザイン及び方法の詳細は上記の 6.3.1.1 項を参照。

**結果**：本項には、出生前及び出生後の発生に BPO が影響を及ぼす可能性についてのみ報告する。

母体への影響：高用量回復群の雌では、29 日目以後の体重増加が陰性対照群と比較して有意に高値であった。

摂餌量には薬剤投与に関連する影響は認められなかった。子宮重量に薬剤投与に関連する変化は見られなかった。

子宮の病理組織学的検査では、高用量群で子宮内腔上皮の過形成及び空胞化（いずれも軽微）が各 1 匹に認められた。

出産率、出生率、及び妊娠期間には、薬剤投与に関連する変化は認められなかった。

出生前及び新生児の出生後（生後 3 日まで）の発生への影響：生後 3 日の生存率は、BPO 投与群と陰性投与群の間で同程度であった。

高用量群では、生後 3 日における雌雄出生児の平均体重が、陰性対照群と比較して有意（$p < 0.01$）に低値であった（雄：8.12 g vs. 8.93 g、雌：7.49 g vs. 8.60 g）。

以上の結論として、実施された試験条件下では、ラットに経口投与したときの BPO の無毒性量は、出生前及び新生児の出生後の発生に関して 500 mg/kg/day、母体の機能に関して 1000 mg/kg/day と考えられる。

#### 6.3.3.2　安息香酸の経口投与生殖発生毒性試験

4 世代試験では、雌雄各 20 匹/群に、安息香酸が 0%、0.5%、又は 1%濃度で継続的に混餌投与された。これらの混餌濃度は安息香酸の用量としてそれぞれ 0 mg/kg/day、375 mg/kg/day、又は 750 mg/kg/day に相当した。第 1 世代及び第 2 世代は生涯投与され、第 3 世代は 16 週間、第 4 世代は交配時まで投与された（OECD SIDS for Benzoates 2001 [文献 4.3.60]、概要表 [2.6.7.11]）。本試験は 1960 年代に実施されたため、GLP 基準及び生殖発生毒性試験に関する現行のガイドラインに非準拠であった。これらの理由とともに、詳細な実験デザインに関する記載がなかったことから、本試験は主要でない試験とみなした。

**結果**：母体、並びに出生児の成長及び発生には、安息香酸投与の影響は認められなかった。

実施された試験条件下では、ラットに経口投与したときの安息香酸の無毒性量は、母体の機能、並びに出生前及び出生後の発生に関して 750 mg/kg/day と判断された。

## 7　新生児を用いた試験

### 7.1　本剤－新生児を用いた試験

目標適応が 12 歳以上の青少年であることを踏まえ、幼若動物を用いた本剤の試験は実施しなかった。

### 7.2　アダパレン－新生児を用いた試験

該当資料なし。

### 7.3　BPO－新生児を用いた試験

該当資料なし。

## 8　局所忍容性試験

### 8.1　本剤－局所忍容性試験

本剤とそのゲル基剤の局所忍容性試験として、ウサギへの単回投与による皮膚刺激性及び眼刺激性、及びモルモットの感作性、光毒性及び光感作性を評価した。

### 8.1.1　単回投与によるウサギ皮膚刺激性試験（本剤）

**RDS.03.SRE.12305 試験（評価資料 [4.2.3.6.1]、概要表 [2.6.7.16.A]）**

単回投与によるウサギ皮膚刺激性試験では、本剤の皮膚一次刺激性指数は 1.5 であり、「軽度の皮膚刺激性物質」に分類された。

### 8.1.2　単回投与によるウサギ眼刺激性試験（本剤）

**RDS.03.SRE.12741** 試験**（評価資料 [4.2.3.6.2]、概要表 [2.6.7.16.A]）**

日本白色種雌ウサギを用いて、本剤及びその基剤の眼刺激性を評価した。1 群 6 匹とし、うち 3 匹は非洗眼条件、3 匹は洗眼条件（被験物質の点眼 30 秒後に注射用水 100 mL で洗眼）で試験を実施した。本剤又は基剤 0.1 mL を左眼に滴下した。角膜、虹彩、及び結膜の刺激反応を経時的に観察した。

非洗眼動物では、基剤、本剤のいずれも眼刺激性は「極く軽度の刺激性あり」に分類された。洗眼動物では、基剤は「極く軽度の刺激性あり」に分類された一方、本剤は「実際上刺激性なし」に分類され、本剤の極く軽度の刺激性が洗眼により低下することが確認された。

### 8.1.3　モルモット皮膚感作性試験（本剤）

**RDS.03.SRE.8503** 試験**（評価資料 [4.2.3.6.3]、概要表 [2.6.7.16.A]）**

この Buehler 法（変法）による試験（感作処置を 9 回実施）では、基剤は皮膚感作性を示さなかったが、本剤は強い感作性物質に分類された。この結果は公表文献で確認されている BPO のプロファイルと一致する。

### 8.1.4　モルモット光毒性及び光感作性試験（本剤）

**RDS.03.SRE.12306** 試験**（評価資料 [4.2.3.6.4]、概要表 [2.6.7.16.A]）**

Dunkin-Hartley 系モルモットを用いて光毒性及び光感作性試験を実施した。本試験では、本剤は光毒性及び光感作性を示さなかった。

## 8.2　アダパレン－局所忍容性試験

アダパレンの局所忍容性試験については、単剤の承認申請時に評価済みである（本 CTD [1.13.1.3.1]：ディフェリン®ゲル 0.1%の CTD 2.6.6 項参照）。

## 8.3　BPO－局所忍容性試験（文献データの要約）

予定の臨床投与経路が経皮投与であるため、BPO の局所刺激性及び感作性の評価は重要である。公表文献から入手した皮膚刺激性、眼刺激性、感作性、及び光感作性試験のデータを、以下の項及び概要表 [2.6.7.16.B] に提示する。

### 8.3.1　皮膚一次刺激性試験（BPO）

#### 8.3.1.1　ウサギ

単回経皮投与によるウサギ試験が 2 件報告されている。

**OECD SIDS for Benzoyl Peroxide 2002（[文献 4.3.61]、概要表 [2.6.7.16.B]）：**

雌雄各 3 匹の背部の擦過皮膚及び正常皮膚に、顆粒状 BPO（純度 78%）500 mg が塗布され、塗布部位がガーゼ包帯で 4 時間保護された。その後、塗布部位が洗浄され、4、24、及び 72 時間の各時点の皮膚刺激性が、Draize スケールにより肉眼検査された。GLP 準拠状況に関する記載はなかった。

**結果**：塗布部位の皮膚には、刺激反応の徴候は認められなかった。

**Haustein et al. 1985（[文献 4.3.37]、概要表 [2.6.7.16.B]）：**

雑種ウサギ 10 匹の剃毛した背部皮膚に、黄色軟パラフィンを基剤として調製した種々濃度（0.1%、1%、5%、10%、15%、又は 30%）の BPO が単回、24 時間閉塞塗布された。各動物には、陰性対照として黄色軟パラフィン、陽性対照としてラウリル硫酸の 10%溶液も塗布された。GLP 準拠状況に関する記載はなかった。

**結果**：0.1%濃度群では、10 匹中 10 匹に皮膚反応が認められず、1%濃度群では 10 匹中 1 匹のみに皮膚刺激反応の徴候が認められた。5%濃度群では 10 匹中 8 匹、10%以上の濃度群では全動物に皮膚刺激反応が認められた。本試験における最高非刺激濃度は 1%と判断された。

#### 8.3.1.2　モルモット

単回経皮投与によるモルモット試験が 2 件報告されている。

**Andermann and Andermann 1980（[文献 4.3.5]、概要表 [2.6.7.16.B]）：**

BPO 塗布の 24 時間前に、Dunkin-Hartley 系雄モルモット 3 匹の背部（20 $cm^2$）が剃毛された。不要な毛を除毛クリームで除去後、剃毛部が微温湯で洗浄された。10% BPO ローション（5～20 mL/kg）の原液、若しくは 25%、50%、75%希釈液が 24 時間閉塞塗布された。紅斑、浮腫、皮膚の外観、皮膚の柔軟性、及び皮下脂肪厚を評価項目として、皮膚反応が評価された。すべての

評価項目は 0～3 の範囲で段階評価された。塗布部位の検体が採取され、組織学的評価に供された。GLP 準拠状況に関する記載はなかった。

**結果**：雄 3 匹を用いたこの予備試験では、10% BPO ローションの 25%、50%、及び 75%希釈液（溶媒：蒸留水）、並びに原液の塗布により刺激反応は認められなかった。したがって、下記の光毒性及び光アレルギー性試験（8.3.5 項参照）には、BPO の 10%ローションの原液を使用した。

**OECD SIDS for Benzoyl Peroxide 2002（[文献 4.3.61]、概要表 [2.6.7.16.B]）：**

BPO の原体（0.25～1.0 g/kg）又は 10%溶液（5～20 mL/kg、溶媒：プロピレングリコール）を脱毛皮膚に 24 時間適用したとき（パッチテスト）、軽度の紅斑が誘発された。本試験は 1964 年に実施されたため、GLP 非準拠であった。

### 8.3.2　反復投与による皮膚刺激性試験（BPO）

反復経皮投与による BPO の累積刺激性試験 3 件が報告されている。

**Haustein et al. 1985（[文献 4.3.37]、概要表 [2.6.7.16.B]）：**

雑種ウサギ 10 匹に、黄色軟パラフィンを基剤として調製した種々濃度（0.1%、1%、又は 5%）の BPO が最長 10 日間、連日塗布された。この軟膏は、剃毛した背部皮膚に 24 時間閉塞塗布された。陰性対照として黄色軟パラフィン、陽性対照としてラウリル硫酸の 10%溶液が塗布された。50%の動物に刺激反応を誘発するのに要する日数が評価され、$IT_{50}$ と定義された。

**結果**：連日塗布したウサギでは $IT_{50}$ が濃度依存性を示し、0.1%、1%、及び 5% BPO でそれぞれ 8.35、4.34、及び 2.31 日であった。

**Sahut et al. 1985（[文献 4.3.65]、概要表 [2.6.7.16.B]）：**

下記の 2 種類のゲル基剤及び 1 種類のローション基剤を用いて、BPO 濃度 10%の各製剤が調製された。

ゲル A：ポリオキシエチレンラウリルエーテル、エタノール、コロイド状マグネシウム-ケイ酸アルミニウム、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、クエン酸、精製水

ゲル B：ポリオキシエチレンラウリルエーテル、アセトン、カルボキシポリメチレン、精製水

ローション：アセチルアルコール、プロピレングリコール、ラウリル硫酸、ヒドロキシエチルセルロース、精製水

ニュージーランド白色種ウサギ（雌雄各 6 匹/群）の剃毛した背部皮膚（10 × 15 cm）に、ゲル A 剤、ゲル B 剤、又はローション剤が 5 g/匹、33 日間連日塗布された。塗布部位を舐めないよう、

頸部にゴム製ディスク（直径 25 cm）が装着された。前回の塗布で吸収されなかった製剤が塗布部位に残留していた場合には微温湯で洗浄された。5～33 日目における刺激反応が、第三者評価者 6 名による塗布部位の写真判定により、0～4 のグレード（0 = 紅斑なし、1 = 軽度紅斑、2 = 明確な紅斑、3 = 高度紅斑、4 = 赤紫色で瘢痕形成を伴う）で定期的に評価された。刺激反応の平均グレードが算出された。

**結果**：3 種類いずれの製剤の塗布によっても明確な刺激反応が出現した。最大刺激反応及び刺激反応が発現するまでの時間は製剤により異なっていた。ゲル A 群では、紅斑が増強し続けたが、ローション群では 26 日目を過ぎてから、ゲル B 群では 19 日目以降に紅斑の増強が緩徐になった。刺激反応の平均グレードの最大値は、ゲル A 群では 2.2（33 日目）、ゲル B 群では 1.9（19 日目）、ローション群では 1.7（26 日目）であった。

以上の結論として、BPO は皮膚刺激性を示した。ウサギ及びモルモットで得られた試験結果からは、刺激性は濃度、製剤処方、及び投与期間と関連することが示された。

**Wester et al. 1991（[文献 4.3.74]、概要表 [2.6.7.16.B]）**

本試験では、水中油型エマルジョンに BPO（濃度 2.5%及び 5%）を分散させた外用剤と封入させた外用剤の皮膚刺激性が比較された。2 群のニュージーランド白色種ウサギの刈毛した背部皮膚に、各製剤 0.025 mL が 21 日間塗布された。刺激反応が連日記録され、0（皮膚反応なし）～5（壊死）のスケールでグレード評価された。

**結果**：21 日間の累積刺激スコアは、基剤群で 1～3 であったのが、BPO 濃度 2.5%及び 5%の分散剤ではそれぞれ 280 及び 520 まで上昇し、BPO 濃度 2.5%及び 5%の封入剤ではそれぞれ 160 及び 150 であった。

結論として、BPO を水中油型エマルジョンに封入させた製剤は、分散させた製剤より皮膚刺激性が低かった。

### 8.3.3　眼一次刺激性（BPO）

OECD SIDS for Benzoyl Peroxide（2002 [文献 4.3.61]、概要表 [2.6.7.16.B]）に、ニュージーランド白色種ウサギを用いて実施した 2 件の試験が報告されているが、結果は一致していない。

OECD TG 405 及び GLP に準拠して実施された最近（2002 年）の試験では、顆粒状 BPO（純度 70%）100 mg を結膜嚢に点眼したとき、点眼直後に洗眼（30 秒間）した条件（3 匹）、非洗眼条件（1 匹）のいずれにおいても眼腐食作用を示さなかった。非洗眼動物では、角膜、虹彩、及び結膜に軽度の刺激反応がみられたが、洗眼動物では、結膜のみに刺激症状が認められた。

1973 年に実施されたもう 1 件の試験では、5 匹の結膜嚢に BPO 111.4 mg が 5 分間適用され、別の 3 匹の結膜嚢には BPO 120.7 mg が 24 時間適用された。5 分間適用後に BPO を洗浄除去した群

では、軽微かつ一過性の眼刺激性が認められた。これに対し、24 時間適用後に BPO を洗浄除去した群では、強い刺激性が認められた。GLP 準拠状況に関する記載はなかった。

両試験ともに供試動物数が少なく、信頼性は不十分であるものの、BPO は眼刺激を誘発する可能性が示唆された。

### 8.3.4　皮膚感作性（BPO）

BPO の皮膚感作性試験は数件実施されており、一貫した結果が得られている。

**局所リンパ節試験（Local Lymph Node Assay；LLNA）：**（Kimber et al. 1998 [文献 4.3.48]、概要表 [2.6.7.16.B]）

雌 CBA マウス（5 匹/用量）の両耳介背部に、種々濃度（0.5、1.0、2.5、5.0、及び 10%）の BPO のアセトン溶液が 3 日間連日皮膚塗布された。2 日間の休薬期間の後、リンパ節が摘出され、リンパ節細胞 DNA への $^{3}H$ 標識チミジンの取り込み量が測定された。放射能量が基剤対照群と比較して 3 倍以上増加した場合に、感作反応陽性と判定された。

BPO は低濃度（0.5%）でも局所リンパ節試験において強い陽性反応を引き起こした。

**Buehler 試験：**（Basketter and Gerberick 1996 [文献 4.3.8]、概要表 [2.6.7.16.B]）

Buehler 法によるモルモット試験が実施された。（初回）惹起用に試験群 20 匹及び無処置対照群 10 匹、並びに再惹起用に無処置対照群 10 匹を使用した。試験群の動物に BPO が閉塞包帯下で塗布された。試験群動物の 42%で感作反応が認められた。

**TINA 試験：**（Haustein et al. 1985 [文献 4.3.37]、概要表 [2.6.7.16.B]）

TINA 試験手順（アレルゲン + 完全フロイントアジュバントの筋肉内、皮内、及び経皮投与）の後、アルビノ・モルモット 25 匹中 5 匹に 2 日連続で陽性反応が認められた。一方、その他の動物及び対照群は反応陰性であった。投与群におけるこの陽性反応は、感作反応率 20%に相当する。

この結果は、BPO が動物で皮膚感作性を有することを明示している。

### 8.3.5　皮膚光毒性及び光アレルギー性（BPO）

8.3.1.2 項に記載したのと同様の手順で準備した Dunkin-Hartley 系モルモットを用いて、10% BPO ローションの光毒性が検討された（Andermann and Andermann 1980 [文献 4.3.5]、概要表 [2.6.7.16.B]）。モルモット 6 匹には BPO ローション原液 0.8 mL が塗布され、UV 照射されなかった。12 匹には BPO ローション塗布の 1 時間後に UV 照射された（UV 照射量：16.96 $mW/cm^2$、予備試験で軽微な紅斑を誘発した照射量として設定）。0、6、及び 24 時間の各時点に、皮膚に対する肉眼的影響がグレード評価された（0～3）。また、1 及び 24 時間の時点で皮膚生検が実施された。

**結果**：皮膚の肉眼観察及び病理組織学的検査では、対照群と BPO 投与群の間に差は認められなかった。

結論として、BPO を 10%含有するローションは光毒性を示さなかった。

BPO に光毒性が認められなかったことから、同著者らは 29 日目に同じ動物を用いて光アレルギー性を検討した（Andermann and Andermann 1980 [文献 4.3.5]、概要表 [2.6.7.16.B]）。BPO 又は UV、若しくはその両方への曝露歴のない部位に、UV 照射下及び非照射下で BPO が塗布された。

**結果**：一般状態観察及び組織学的検査のいずれにおいても、光アレルギー性の徴候は認められなかった。

# 9　その他の毒性試験

## 9.1　不純物の毒性試験

不純物の毒性試験は実施しなかった（本 CTD「2.4 非臨床試験の概括評価」の[4.7.1]項（有効成分の不純物の限度値と不純物が毒性に及ぼす影響）参照）。

## 9.2　新添加物の安全性試験

本剤は、新添加物である [redacted] を含有する（表 3）。この新添加物の安全性評価については、本 CTD「2.4 非臨床試験の概括評価」の[4.7.2]項（新添加物の安全性評価）に記載している。

# 10　考察及び結論

## 10.1　本剤

本剤を用いて実施した非臨床試験成績から、本剤の非臨床安全性プロファイルは、各有効成分の単剤の非臨床安全性プロファイルと同様であることが示された。

試験成績からは新たな有害作用は示されなかった。また、本剤、すなわちアダパレン 0.1%に BPO 2.5%を配合したゲル剤を投与したとき、アダパレンゲル 0.1%単独投与時と比較して、アダパレンの薬物動態（血中濃度が検出下限未満又は極めて低値）は変化しないことが示された。新たな毒性シグナルが検出されないことは、ミニブタ〔皮膚組織が形態学的にヒトの皮膚に類似していることから外用剤の評価に適しているとされる実験動物モデル（Swindle et al. 2012 [文献 4.3.71]）〕を用いた 13 週間反復経皮投与毒性試験で確認された。

本剤を用いて実施した局所忍容性試験の結果は、各有効成分単剤で過去に得られた試験結果と一致するものであり、皮膚刺激性及び感作性が認められた。皮膚刺激性は、単体で刺激性を有することが知られている有効成分が 2 種類配合されていることから予期された結果であり、感作性は BPO を含有する配合剤に予期された結果であった。

なお、今回申請する本剤は、既に海外 60 カ国（米国、EU、カナダ、オーストラリアなど）で承認されている（2016 年 2 月 16 日現在）。

## 10.2 BPO

BPO は、海外では 20 年以上にわたり、20%までの濃度のいくつかの製剤〔単剤又は抗生物質（エリスロマイシン又はクリンダマイシン）との配合剤〕が、一般用（OTC）医薬品又は処方せん医薬品として幅広く使用されてきた。したがって、BPO の非臨床的・臨床的な安全性プロファイルは十分に確立していると考えられる。また、BPO は 2010 年 3 月 4 日、FDA により GRASE active ingredient（一般的に安全かつ有効と認められる有効成分）に分類された（Federal Register 2010 [文献 4.3.29]）。さらに、日本では、BPO の単剤〔BPO ゲル（2.5%）〕がざ瘡治療薬として開発され（藤村ら 2014 [文献 4.3.30]、川島ら 2014a [文献 4.3.45]、川島ら 2014b [文献 4.3.46]）、尋常性ざ瘡の適応症で 2015 年 4 月より販売されている（ベピオ®ゲル 2.5%、マルホ株式会社）。また、クリンダマイシン 1%と BPO 3%の配合剤（デュアック®配合ゲル、グラクソ・スミスクライン株式会社）も、尋常性ざ瘡の適応症で 2015 年 3 月に承認された。したがって、BPO の非臨床試験は実施せず、この申請の補足情報として、BPO の毒性に関する文献データの要約を提示することとした。

今回申請するのは、日本で尋常性ざ瘡治療薬として既に承認・販売されているレチノイド様作用を有するアダパレン（販売名：ディフェリン®ゲル 0.1%）と BPO（2.5%）の 2 つを有効成分として配合したゲル剤である。上記のように、本剤は海外の 60 カ国（米国、EU など）で既に承認されている。

以下の慎重な仮定を用いることにより、本剤をヒトに投与したときの BPO の最大 1 日曝露量を算出した。

- 本剤の塗布量を 1 日 2 g と仮定する。本剤の第 III 相試験（RDT.07.SRE.27123 試験）における実際の平均塗布量は 0.540 g/day であった〔本 CTD「[2.7.4] 臨床的安全性の概要」の 1.2.2.2 項（治験薬の塗布量）参照〕。
- 本剤 2 g の BPO 含有量は 50 mg である。
- 塗布された BPO 50 mg が安息香酸として 100%吸収され（「[2.6.4] 薬物動態試験の概要文」参照）、安息香酸として排泄されると仮定する。
- ヒト体重を 50 kg と仮定する。また、化学量論的に BPO 1 分子が安息香酸 2 分子に変換されると想定する。

ゲル 2 g 中の BPO 含有量 0.05 g（$2.064 \times 10^{-4}$ mol）は、化学量論的に BPO 1 分子が安息香酸 2 分子に完全に変換されると想定した場合、安息香酸 $4.13 \times 10^{-4}$ mol（すなわち 0.05 g）に相当し、これは体重 50 kg のヒトで 1 mg/kg に相当する。

このように算出された安息香酸の 1 日量は、JECFA により規定された安息香酸塩類の ADI の 20%に相当する（WHO 2005 [文献 4.3.75]）。

安息香酸はヒト腸内でフェニルアラニンから合成される内因性化合物であり、肝臓でグリシン抱合を受けて馬尿酸に変換され、尿中排泄される。安息香酸は食品添加物として一般に使用されており、経口投与すると速やかに吸収され、1～2 日以内に馬尿酸として完全に排泄される。

BPO の皮膚塗布後、吸収された安息香酸は未変化体として速やかに尿中排泄される（本 CTD「[2.6.4] 薬物動態試験の概要文」参照）。

したがって、皮膚塗布後の BPO の毒性は、BPO の皮膚塗布、並びに安息香酸の経口投与又は皮膚塗布を用いた試験に基づき評価可能である。

本概要文に示した一連のデータから、以下の表 9 に示す無毒性量が得られた。

**表 9　BPO 及び安息香酸で得られた無毒性量のまとめ**

| 試験の種類 | 動物種 | 投与期間 | 投与経路 | 被験物質 | 無毒性量 |
|---|---|---|---|---|---|
| **反復投与毒性試験** | マウス | 80 週間 | 経皮 | BPO | 50 mg/マウス/day<br>（濃度：50%） |
| | マウス | 80 週間 | 経口（混餌） | BPO | 2826 ppm |
| | マウス | 80 週間 | 皮下 | BPO | 50 mg/マウス/day |
| | ラット | 120 週間 | 経口（混餌） | BPO | 2.826 ppm |
| | ラット | 雄：29 日間<br>雌：5～6 週間 | 経口（強制） | BPO | 雄：500 mg/kg/day<br>雌：1000 mg/kg/day |
| | ラット | 4 世代 | 経口（混餌） | 安息香酸 | 750 mg/kg/day |
| | ラット | 120 週間 | 皮下 | BPO | 120 mg/ラット/day |
| | ウサギ | 3 週間 | 経皮 | 安息香酸 | 2500 mg/kg/day |
| **がん原性試験** | マウス | 52 及び 104 週間 | 経皮 | BPO | 25 mg/マウス/day<br>（濃度：25%） |
| | マウス | 80 週間 | 経皮 | BPO | 25 mg/マウス/day<br>（濃度：50%） |
| | ラット | 104 週間 | 経皮 | BPO | 45 mg/ラット/day<br>（濃度：15%） |
| **光がん原性** | マウス | 62 週間 | 経皮 | BPO | 0.1 mL/マウス/day<br>（ローション 5%） |
| | マウス | 40 週間 | 経皮 | BPO | ゲル 5% |
| **生殖発生毒性試験** | | | | | |
| 受胎能及び<br>初期胚の発生 | ラット | 雄：29 日間<br>雌：5～6 週間 | 経口（強制） | BPO | 雄：500 mg/kg/day<br>雌：1000 mg/kg/day |
| | ラット | 4 世代 | 経口（混餌） | 安息香酸 | 750 mg/kg/day |
| 胚・胎児発生 | ラット | 雌：妊娠 0 日目～<br>授乳 3 日目 | 経口（強制） | BPO | 500 mg/kg/day |
| | ラット | 妊娠 9 日目～妊娠<br>20 日目 | 経口（強制） | 安息香酸 | 510 mg/kg/day |
| 出生前及び<br>出生後の発生 | ラット | 雌：妊娠 0 日目～<br>授乳 3 日目 | 経口（強制） | BPO | 500 mg/kg/day |
| | ラット | 4 世代 | 経口（混餌） | 安息香酸 | 750 mg/kg/day |

BPO 又は安息香酸の動物試験で得られた上記の無毒性量はすべて、本剤 2g をヒトに皮膚塗布した場合の BPO 又は安息香酸の推定塗布量（いずれも 1 mg/kg/day）より大幅に高い。

公表文献から以下のデータが得られているため、本剤の臨床使用状況を勘案して BPO の安全性は十分に評価されていると判断される。

- 急性毒性データ
- 反復皮膚塗布による慢性毒性試験
- 一連の遺伝毒性データ
- 2 つの動物種を用いた皮膚塗布による GLP 準拠のがん原性試験、GLP 準拠の光がん原性試験
- 雌雄ラットにおける受胎能、ラット及びウサギにおける胚・胎児毒性、並びにラットにおける出生前及び出生後の発生を検討した GLP 準拠の生殖発生毒性試験
- 局所皮膚刺激性及び眼刺激性
- GLP 準拠の光毒性試験

BPO は尋常性ざ瘡治療薬として海外で 20 年以上の長年にわたって臨床使用されてきたにもかかわらず、市販後調査では BPO の皮膚塗布に起因すると考えられる有害事象のエビデンスは報告されていないことも勘案し、BPO の安全性評価のための新たな非臨床試験の実施は必要ないものと考える。

非臨床試験に関する文献データから得られた主な毒性所見を以下に示す。

- ラットへの BPO の反復経口投与では、精巣萎縮とそれに伴う病理組織学的変化が引き起こされた。しかし、この所見は、本剤の通常の臨床使用状況で予想される BPO 曝露量を大幅に上回る極めて高用量（1000 mg/kg/day）で認められたものであった。また、同じ試験では、雄受胎能の低下は認められなかった。
- BPO は染色体異常及び突然変異を引き起こさないが（細菌又は哺乳類細胞を用いる試験）、不定期 DNA 合成（UDS）試験又は DNA SOS 修復試験で、おそらく ROS 関与の機序を介すると推察される DNA 損傷の誘発能を有していた（Kirkland 2000 [文献 4.3.50]、概要表 [2.6.7.8.A]）。この機序については ROS を放出する他の化合物（$H_2O_2$ など）で十分に解明されており、動物、ヒトのいずれも *in vivo* で ROS に対する防御機構〔カタラーゼ、スーパーオキシドジスムターゼ（SOD）、グルタチオンペルオキシダーゼなど〕が存在することが知られている（Cerutti 1985 [文献 4.3.15] ）。BPO は、2 件の *in vivo* 遺伝毒性試験〔マウス優性致死突然変異試験（Kirkland 2000 [文献 4.3.50]、概要表 [2.6.7.9.A]）及び小核試験（OECD SIDS for Benzoyl Peroxide 2002 [文献 4.3.61]、概要表 [2.6.7.9.A]）〕で変異原性を示さなかった。

BPOのがん原性は、マウス及びラットを用いて、尋常性ざ瘡治療での予定臨床投与経路である皮膚塗布により評価された。BPOをカーボポール®（カルボマー）ゲル製剤としてマウス又はラットの皮膚に2年間投与したところ、皮膚、他の組織・臓器のいずれに対してもがん原性は認められなかった（最高25 mg/マウス/day、45 mg/ラット/day；CHPA 2001 [文献4.3.16]、概要表 [2.6.7.10.A]、CHPA 2002 [文献4.3.17]、概要表 [2.6.7.10.C]）。また、複数の大規模な疫学研究でも、ヒトに対する遺伝毒性リスク及びがん原性リスクは示唆されていない（Binder et al. 1995 [文献4.3.11]）。BPOは、国際がん研究機関（International Agency for Research on Cancer：IARC）の発がん性の分類で第3グループ「ヒトに対する発がん性について分類することができない（not classifiable as to its carcinogenicity to humans）」に分類されている（IARC monograph 1999 [文献4.3.40]）。

BPO の光がん原性を評価するいくつかの試験が実施され、BPO の皮膚塗布は UV 誘発性の腫瘍形成を促進しないことが一貫して示された。本分野の最新ガイドライン及び GLP に準拠して実施された直近の試験でも、BPO に光がん原性が認められないことが確認された（NDMA 1999 [文献4.3.59]、概要表 [2.6.7.10.E]）。

イニシエーション／プロモーション試験では、BPO にイニシエーション作用がないことが示されているが、文献データ間に矛盾が見られてはいるものの、BPO にはおそらく ROS 生成に関連する腫瘍プロモーション作用があると考えられた（Zbinden 1988 [文献 4.3.79]）。BPO の腫瘍プロモーション作用は、*in vivo* で抗酸化化合物により消失することが示されている（Athar et al. 1990 [文献 4.3.6]）。酸素との相互作用により ROS を生じる他の化合物（$H_2O_2$ など）は、非常に高い濃度で持続的に曝露した場合にプロモーション作用を示すことが知られている。ROS は生理的条件下で生じるが、ROS に対する防御機構が存在することも十分に立証されている（Cerutti 1985 [文献 4.3.15]、Huang et al. 1999 [文献 4.3.39]）。

[redacted]、[redacted]、[redacted]、及び[redacted]については、医薬品[redacted]相談〔受付番号：[redacted]、対面助言実施日：[redacted]年[redacted]月[redacted]日（本 CTD [1.13.2.1]）〕の際に PMDA に提出した医薬品対面助言申込書の添付資料 2「[redacted]」（ガルデルマ株式会社 [redacted]a [文献 4.3.1]）に幅広く提示し考察しているため、本文書には概要のみを示した。これらのデータに関する考察は本 CTD「[2.4] 非臨床試験の概括評価」に要約する。

- BPO の皮膚刺激性及び眼刺激性は、BPO 濃度及び製剤処方に高度に依存する。そのため、BPO とアダパレンを含有する配合剤の開発に当たっては最終製剤での刺激性を注意深く評価する必要があると考えられる。また、感作性については、動物でもヒトでも明らかに認められているため、やはり最終製剤での評価が必要である。しかしながら、BPO の光毒性及び光アレルギー性は認められていない。

以上のことから、BPO の毒性プロファイルは十分に確認されており、本剤を尋常性ざ瘡治療に外用剤として使用する際にその有効成分の 1 つとして含まれる BPO の安全性については、利用可能なデータベースから十分に担保することが可能と考える。

## 11　参考文献一覧

[文献 4.3.5] Andermann G, Andermann C. Study on phototoxicity and photoallergy of a preparation containing 10 p.100 benzoyl peroxide after topical application on guinea-pigs. Ann. Dermatol. Venereol. 1980;107:913-916.

[文献 4.3.6] Athar M, Rasa H., Bickers DR, Mukhtar H. Inhibition of Benzoyl Peroxide-Mediated Tumour Promotion in 7,12-Dimethylbenz(a)anthracene-Initiated Skin of Sencar Mice by Antioxidants Nordihydroguaiaretic Acid and Diallyl Sulfide. J Invest Dermatol. 1990;94:162-165.

[文献 4.3.7] Baldrick P. Benzoic acid and benzoates: a safety review for use in topical formulations. Covance Laboratories Ltd. 2001. Sponsored by Galderma Laboratories.

[文献 4.3.8] 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.

[文献 4.3.11] Binder R L, Aardema MJ, Thompson ED. Benzoyl Peroxide: Review of experimental Carcinogenesis and human Safety Data. Growth factors and Tumour Promotion. 1995;245-294.

[文献 4.3.12] Birnboim HC. DNA strand breaks in human leucocytes induced by superoxide anion, hydrogen peroxide and tumour promoters are repaired slowly compared to breaks induced by ionizing radiation. Carcinogenesis. 1986;7:1511-1517.

[文献 4.3.15] Cerutti PA. Prooxidant States and Tumour Promotion. Science. 1985;227:375-381.

[文献 4.3.16] CHPA. Dermal oncogenicity study of Benzoyl Peroxide gels in mice. Covance Report No 6711-100 in Letter from Lorna C Totman, PhD, DABT, Director of Scientific Affairs, CHPA to FDA Dr. Charles Ganley, MD, December 27, 2001. FDA Docket No. 81N-0114.

[文献 4.3.17] CHPA. Dermal oncogenicity study of Benzoyl Peroxide gels in rats. Covance Report No 6711-101 in Letter from Lorna C Totman, PhD, DABT, Director of Scientific Affairs, CHPA to FDA Dockets Management Branch, August 6, 2002. FDA Docket No: 81N-0114.

[文献 4.3.20] De Flora S, Zanacchi P, Camoirano A, Benicelli C and Badolatti GS. Genotoxic activity and potency of 135 compounds in the Ames reversion test and in a bacterial DNA-repair test. Mutat Res. 1984a;133:161-198.

[文献 4.3.21] De Flora S, Camoirano A, Zanacchi P, Benicelli C. Mutagenicity testing with TA97 and TA102 of 30 DNA-damaging compounds, negative with other Salmonella strains. Mutat. Res.1984b;134, 159-165.

[文献 4.3.22] Demir E, Kocaoglu S, Kaya B. Assessment of genotoxicity effects of benzyl derivatives by the comet assay. Food Chem. toxicol. 2010; 48;1239-1242

[文献 4.3.23] Dillon D, Combes R, Zeiger E. The effectiveness of Salmonella strains TA100, TA102 and TA104 for detecting mutagenicity of some aldehydes and peroxides. Mutagenesis. 1998;13;19-26.

[文献 4.3.26] Epstein JH. Photocarcinogenesis promotion studies with Benzoyl Peroxide (BPO) and Croton oil. J. Invest. Dermatol. 1988, 91;114-16.

[文献 4.3.27] Epstein SS, Arnold E, Andrea J, Bass W and Bishop Y. Detection of chemical mutagens by the dominant lethal assay in the mouse. Tox Appl Pharmacol. 1972:23;288-325.

[文献 4.3.29] Federal Register - 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 Vol. 75, No. 42. Thursday, March 4, 2010 /Rules and Regulations. Pages 9767-9777

[文献 4.3.30] 藤村昭夫、尼岸宏章、雲川忠雄、土井正治. 過酸化ベンゾイルゲルの尋常性痤瘡患者に対する臨床薬理試験. 臨床医薬. 2014: 30:639-649

[文献 4.3.31] Gabrielson EW, Smith CB and Pommier YG. Genotoxicity of hydrogen peroxide and benzoyl peroxide for normal bronchial epithelial cells and human lung cancer cell lines [abstract]. Proc. Am. Assoc. Cancer Res.1990:31;150.

[文献 4.3.1] ガルデルマ株式会社. 医薬品[redacted]相談（受付番号：[redacted]、対面助言実施日：平成[redacted]年[redacted]月[redacted]日）、医薬品対面助言申込書・添付資料 2：[redacted]. [redacted]a.

[文献 4.3.35] Hartley JA, Gibson NW, Zwelling LA and Yuspa SH. Association of DNA strand breaks with accelerated terminal differentiation in mouse epidermal cells exposed to tumor promoters. Cancer Res. 1985;45:4864-4870.

[文献 4.3.36] Harvey SC. Antiseptics and disinfectants; fungicides; ectoparasiticides. In: Goodman and Gilman's: The pharmacological basis of therapeutics. AG Gilman, LS Goodman, TR Rall and F Murads (eds). 7th edition. Macmilan Publishing Company;1985. p968.

[文献 4.3.37] Haustein F, Tegemeyer L, Ziegler V. Allergic and irritant potential of Benzoyl Peroxide. Contact Dermatitis.1985;13:252-7.

[文献 4.3.39] Huang RP, Peng A, Hossain MZ, Fan Y, Jagdale A, Boynton LB. Tumour promotion by hydrogen peroxide in rat liver epithelial cells. Carcinogenesis. 1999;20(3):485-92.

[文献 4.3.40] IARC Monograph on Benzoyl Peroxide. 1999;71:345--58.

[文献 4.3.41] Ishidate M Jr, Sofuni T, Ysohikawa K, Hayashi M, Nohmi T, Sawada M, Matsuoka A. Primary mutagenicity screening of food additives currently used in Japan. Food Chem Toxicol. 1984;22:623-36.

[文献 4.3.42] Iversen OH. Skin tumourigenesis and carcinogenesis studies with 7,12-dimethylbenz(a)-anthracene, ultraviolet light, benzoyl peroxide (Panoxil gel 5 %) and ointment gel. Carcinogenesis. 1988:9;803-9.

[文献 4.3.44] Jarventaus H, Norppa H, Linnainmaa K, Sorsa M. SCE induction in CHO cells by peroxides used in the plastic industry [abstract]. Mutat. Res.1984:130;249.

[文献 4.3.45] 川島　眞、佐藤伸一、古川福実、松永佳世子、赤松浩彦、五十嵐敦之、他. 過酸化ベンゾイルゲルの尋常性痤瘡を対象とした第 II/III 相臨床試験 － プラセボ対照， ランダム化，二重盲検，並行群間比較，多施設共同試験 －. 2014a, 30:651-668

[文献 4.3.46] 川島 眞、流 利孝、桂巻常夫. 尋常性痤瘡患者での過酸化ベンゾイルゲル長期投与時（52 週間）の安全性および有効性評価 － 非盲検， ランダム化、多施設共同第 III 相臨床試験 －. 2014b, 30:669-689

[文献 4.3.47] Kensler TW, Egner PA, Swauger JE, Taffe BG and Zweier JL. Formation of free radicals from benzoyl peroxide in murine ketarinocytes [abstract]. Proc. Am. Assoc. Cancer Res. 1988:29;150.

[文献 4.3.48] Kimber I, Hilton J, Dearman RJ, Gerberick GF, Ryan CA, Basketter DA, Lea L, House RV, Ladics GS, Loveless SE, Hastings KL. Assessment of the skin sensitization potential of topical medicaments using the local lymph node assay: an interlaboratory evaluation. J. Toxicol. Environ. Hlth, Part A., 1998;53(7):563-579.

[文献 4.3.49] Kimmel CA, Wilson JG, Schumacher HJ. Studies on Metabolism and Identification of the Causative Agent in Aspirin Teratogenesis in Rats. Teratology. 1971;4:15-24.

[文献 4.3.50] Kirkland DJ. Expert summary of Benzoyl Peroxide: An independent critical appraisal of its mutagenic and carcinogenic potential. Covance Laboratories Ltd. 2000. Sponsored by Laboratoires Galderma.

[文献 4.3.55] Matula TI, Downie RH, Barrett N. Mutagenicity studies of benzoyl peroxide in bacteria [abstract]. Env. Mutag. 1987;9(8)-69.

[文献 4.3.59] NDMA. Update on safety studies with benzoyl peroxide. Submission to FDA Docket No. 81N-0114, February 26, 1999.

[文献 4.3.60] OECD SIDS for Benzoates (CAS No 65-85-0, 532-32-1, 582-25-2, 100-51-6). OECD SIDS, 2001. The OECD HPV program, SIDS Initial Assessment Report for 13th SIAM-Benzoates Category. UNEP Publication.
Available from: <http://www.chem.unep.ch/irptc/sids/OECDSIDS/INDEXCHEMIC.htm>

[文献 4.3.61] OECD SIDS for Benzoyl Peroxide (CAS No 94-36-0). OECD SIDS, 2002. The OECD HPV program, SIDS Initial Assessment Report for 15th SIAM-Benzoyl Peroxide. UNEP Publication.
Available from: <http://www.chem.unep.ch/irptc/sids/OECDSIDS/INDEXCHEMIC.htm>

[文献 4.3.62] Prival MJ, Simmon VF, Mortelmans KE. Bacterial mutagenicity testing of 49 food ingredients gives very few positive results. Mutat Res. 1991;260(4):321-9.

[文献 4.3.65] Sahut A, Aiache S, Andermann G De Burlet G, Aiache JM. Topical and bioavailability of benzoyl peroxide. Int. J. Cosmet. Sci. 1985;7:61-9.

[文献 4.3.66] Sharratt M, Fraser A.C, Forbes OC. Study of biological effects of Benzoyl Peroxide. Fd. Cosmet. Toxicol. 1964;2:527-38.

[文献 4.3.67] Song S, Kim S, Bae H, Kim M, Ju Koo H, Park K, Lee S, Park J, Choi E, Lee M. Combined repeated dose and reproductive/developmental toxicities of benzoyl peroxide. J. Toxicol. Pub. Health. 2003;19(2):123-31.

[文献 4.3.69] Swauger JE, Dolan PM, Zweier JL, Kuppusamy P, Kensler TW. Role of the benzoyloxyl radical in DNA damage mediated by benzoyl peroxide. Chem. Res. Toxicol. 1991;4:223-8.

[文献 4.3.70] Swierenga SHH, Hasnaian SH, Lee F. An evaluation of cytotoxicity and genotoxicity of benzoyl peroxide [abstract]. Enc. Mutag. 1987;9(8);105.

[文献 4.3.71] Swindle MM, Makin A, Herron AJ, Clubb FJ Jr, Frazier KS. Swine as models in biomedical research and toxicology testing. Vet Pathol. 2012, 49: 344-356.

[文献 4.3.74] Wester RC, Patel R, Nacht S, Leyden J, Melendres J and Maibach H. Controlled release of benzoyl peroxide from a porous microsphere polymeric system can reduce topical irritancy. J. Am. Acd. Dermatol. 1991;24:720-6.

[文献 4.3.75] WHO Technical report Series 928. Evaluation of certain food additives. Sixty-third report on the joint FAO/WHO expert committee on food additives. 2005; p 13-16

[文献 4.3.76] Yamaguchi T, Yamashita Y. Mutagenicity of hydroperoxides of fatty acids and some hydrocarbons. Agric. Biol. Chem. 1980;44:1675-8.

[文献 4.3.78] Yilmaz S, Unal F, Yüzbasioglu D. The in vitro genotoxicity of benzoic acid in human peripheral blood lymphocytes. Cytotechnology. 2009;60:55-61

[文献 4.3.79] Zbinden G. Scientific opinion on the carcinogenic risk due to topical administration of Benzoyl Peroxide for the treatment of acne vulgaris. Pharmacol. Toxicol. 1988;63:307-9.

[文献 4.3.80] Zeiger E, Anderson B, Haworth S, Lawlor T, Mortelmans K. Salmonella mutagenicity tests. 4. Results from the testing of 300 chemicals. Environ. Mol. Mutagen. 1988;11(12):1-158.

[文献 4.3.81] Zengin N, Yüzbasioglu D, Unal F, Yilmaz S, Aksoy H. The evaluation of the genotoxicity of two food preservatives: sodium benzoate and potassium benzoate. Food Chem. Toxicol. 2011;49:763-769