目次

1　背景及び要約 3
1.1　製剤開発の要約 3
1.2　In vitro 製剤特性 4
1.3　バイオアベイラビリティ試験及び生物学的同等性試験 5
1.4　分析法の概観 5
1.4.1　分析法のバリデーション（アダパレン及び安息香酸） 5
1.4.2　臨床試験で採取した検体の分析期間 7
2　個々の試験の要約 7
2.1　4781 試験 7
2.2　4932 試験 10
2.3　4708 試験 12
3　全試験を通しての結果の比較と解析 13
4　付録 14
5　参考文献 15

表一覧

表 1　アダパレン 0.1%／BPO 2.5%ゲルの皮膚透過性試験 5
表 2　アダパレン 0.1%／BPO 2.5%ゲルの臨床試験に用いた 分析法のバリデーション及び安定性の要約 6
表 3　検体分析期間の要約 7
表 4　アダパレンの総透過量（4781 試験） 8
表 5　BPO の総透過量の要約（4781 試験） 9
表 6　アダパレンの総透過量の要約（4932 試験） 11
表 7　安息香酸の総透過量の要約（4932 試験） 11

略号一覧

略称・略号	省略していない表現又は定義	
ANOVA	Analysis of variance	分散分析
BPO	Benzoyl peroxid	過酸化ベンゾイル
CD0271	Galderma development code for adapalene drug substance	ガルデルマ社のアダパレン原薬の開発コード
CD1579	Galderma development code for benzoyl peroxide drug substance	ガルデルマ社の過酸化ベンゾイル原薬の開発コード
H. pomatia	*Helix pomatia*	リンゴマイマイ
HPLC	High-performance liquid chromatography	高速液体クロマトグラフィー
LOD	Limit of detection	検出限界
LOQ	Limit of quantification	定量限界
NA	Not applicable	該当なし
P. acnes	*Propionibacterium acnes*	—
PBS	Phosphate buffered saline	リン酸緩衝食塩水
RHE	Reconstructed human epidermis	ヒト再構築表皮
RPM	Revolutions per minute	1 分間当たりの回転数
SEM	Standard error of the mean	平均値の標準誤差
UV	Ultraviolet	紫外線
v/v	Volume percent	体積パーセント
w/w	Weight percent	重量パーセント

1　背景及び要約

1.1　製剤開発の要約

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、尋常性ざ瘡の外用治療薬としてゲル状の剤形にアダパレン（0.1% w/w）と過酸化ベンゾイル（以下、BPO）（2.5% w/w）を固定量処方した配合剤である。今回申請する配合剤は、ざ瘡の発症との深い関与が知られている 4 つの病態生理学的要因のうち 3 つの要因、すなわち、毛包の異常増殖・分化（面皰形成）、*Propionibacterium acnes*（*P. acnes*）による毛嚢脂腺内のコロニー形成、及び炎症を標的にしている（Gollnick 2003 p1579 [5.4.10]）。本剤には以下が配合されている。

- アダパレン ― 強力なレチノイド様作用と抗炎症作用を有するナフトエ酸誘導体であり、尋常性ざ瘡の外用治療薬として開発・販売されている。国内では 2008 年にディフェリン®ゲル 0.1%の販売名で濃度 0.1%の外用剤（ゲル）が承認されている。海外では米国、カナダをはじめとする主要国で尋常性ざ瘡治療薬として濃度 0.1%の外用剤が 4 種類の剤形（溶液、ゲル、クリーム、ローション）で承認されている（販売名は同じくディフェリン［Differin®］）。

- BPO ― 抗菌作用を有することが知られている角質溶解薬である。海外では 30 年以上前から効果的な尋常性ざ瘡治療薬として認知されており、臨床及び非臨床の安全性プロファイルが十分に確立している。海外において、一般用医薬品として 10%までの濃度で、医療用医薬品では単剤（Cutacnyl®ゲル 2.5%等）又は配合剤として 20%までの濃度で広く市販されている。申請者が本剤の国内開発プログラムを実施中、本邦において他社が単剤又は配合剤（クリンダマイシン配合）として BPO 含有製剤を開発中であった。

本剤は欧米をはじめとする 60 ヵ国で承認されている。本剤の有効性と安全性は欧米の患者集団で確立されているが、国内ではこれら 2 つの有効成分を配合した製剤は市販されていない。したがって、申請者は欧米で市販されている本剤を国内の市販予定製剤として承認申請する。

本剤は現在欧米で市販されているが、その製剤開発の詳細については本申請書「3.2.P.2 製剤開発の経緯（品名、剤型）」 [3.2.P.2 -2 項]に記載する。

製剤開発初期の段階では、申請者は欧米で既に市販されているそれぞれの製剤に可能な限り近く、かつ、有効成分（Differin® Gel 0.1%及び Cutacnyl® Gel 2.5%）の濃度が同じ配合剤を作製することを目指した。

製剤開発時に直面した問題は、製剤の保管期間を通して物理的・化学的安定性プロファイルが容認できる配合剤を処方することであった。BPO は極めて急速に安息香酸に分解するうえ、様々な条件下で分解する。仮にレチノイドが酸化によって分解されやすければ BPO とレチノイドの配合は難しかったと推測されるが、実際には、アダパレンは酸化による分解が生じにくいため、BPO との配合に適すると判断された。

開発初期の段階で配合剤の処方に 2 つの変更を加えた。

- ディフェリン®ゲル 0.1%は湿潤剤としてポロクサマー182 を含有する。本剤では、ポロクサマー182 の代わりに、この物質と同じ特性を有し公定仕様にも適合するポロクサマー124 を使用することとした。

- BPO は殺菌剤であり、保存効果試験の成績が米国薬局方（USP）と欧州薬局方（Ph.Eur.）の基準に適合していたため、本剤（ディフェリン®にはメチルパラベンが使用されている）に防腐系を添加しないこととした。

最初に、Cutacnyl®に使用されているゲル化剤（カルボマー980、グリセリン処理したアクリレート共重合体、無水コロイドシリカ）を配合剤に使用し、健康被験者を対象とした最初の用量範囲皮膚試験（2674 試験 [5.3.5.4.3]）で配合剤（555.059）の評価を行った。Cutacnyl®のゲル化系の成績は臨床及び *in vitro* で容認可能であったが、配合剤の物理的安定性は理想的ではなく、pH の低下に伴って粘度が低下した。それより適切と評価されたゲル化系は、化粧品業界でクリームやゲルの質感を整えるために広く用いられているアクリルアミド／アクリロイルジメチルタウリン酸ナトリウムからなる共重合体（[redacted]に濃度[redacted]%で分散）（[redacted]）であった。[redacted]（濃度[redacted]%）を含有する配合剤は物理的にも化学的にも安定であり、非臨床及び臨床研究で容認できる成績が得られた（製剤 555.580）。[redacted]のゲル化剤を選択した後、配合剤の処方に以下の変更を加えた。

- ディフェリン®ゲル 0.1%とは異なり、配合剤に[redacted]は不要とした。

- BPO の[redacted]（本申請書「3.2.P.2 製剤開発の経緯（品名、剤型）」 [3.2.P.2 - 2 項]を参照）

以上の変更は、安全性と有効性の観点から本剤の臨床特性に影響を及ぼさなかった。現在欧米で市販されている製剤 555.610 を国内の市販予定製剤として選択し、それ以降の国内の臨床プログラムに使用した。

1.2 In vitro 製剤特性

本申請書では、表 1 に示すとおり、3 つの in vitro 皮膚透過性試験の要約を記載する。2 つの in vitro 試験は本剤の製剤開発の初期段階に実施した。

- 4781 試験 [5.3.1.3.3]では、拡散セルシステム中の全層ヒト皮膚切片（角質層を含む表皮、真皮、レセプター液）を用いて、本剤の各成分の放出と透過性を、同じ有効成分を含有する市販製剤であるディフェリン®（アダパレン）ゲル 0.1%（国内で承認済み）、Cutacnyl®（BPO）ゲル 2.5%（海外で承認済み）、アダパレン 0.1%（w/w）ゲル及び BPO 2.5%（w/w）ゲルと比較した。

- 4708 試験 [5.3.1.3.2]では、in vitro 透過性のほかに、ヒト再構築表皮（RHE）を用いて本剤に含まれる ^{14}C-アダパレンの in vitro 代謝についても検討した。

4932 試験 [5.3.1.3.1]では、本剤の製剤特性を in vitro で評価した。以下の塗布後に 2 つの有効成分の 24 時間にわたる皮膚透過性を比較した。

- 本剤の単回局所塗布、又は
- 本剤の有効成分のいずれかを含有する市販製剤であるディフェリン®（アダパレン）ゲル 0.1%（国内で承認済み）と Cutacnyl®（BPO）ゲル 2.5%（海外で承認済み）の併用塗布（塗布間隔：10 分間又は 10 時間）

これら 3 試験のより詳しい要約を 2 項に記載する。BPO 濃度については、BPO を安息香酸に化学変換した後に間接法を用いた放出-透過性試験で検討した。

表 1　　アダパレン 0.1%／BPO 2.5%ゲルの皮膚透過性試験

試験番号 試験報告書番号	試験の標題	使用した試料
4932 RDS.03.SRE.4632 [5.3.1.3.1]	*Ex vivo* ヒト皮膚に CD0271（アダパレン）と CD1579（BPO）を含量固定配合剤として同時塗布した場合と 2 種類の市販製剤を塗布した場合の塗布方法の違いが両成分の経皮吸収に及ぼす影響	全層ヒト皮膚
4781 RDS.03.SRE.4781 [5.3.1.3.3]	異なる製剤に処方されたアダパレン（0.1% w/w）及び BPO（2.5% w/w）のヒト皮膚への *in vitro* 放出-透過性の比較	全層ヒト皮膚
4708 RDS.03.SRE.4708 [5.3.1.3.2]	単剤又は BPO との配合剤として処方された ^{14}C-アダパレンのヒト再構築表皮への透過性及び代謝	ヒト再構築表皮（RHE）

出典： 4932 試験 [5.3.1.3.1]、4781 試験 [5.3.1.3.3]、4708 試験 [5.3.1.3.2]

1.3　バイオアベイラビリティ試験及び生物学的同等性試験

本剤の絶対又は相対バイオアベイラビリティを具体的に検討する試験は実施していないが、国内試験 1 試験（27122 試験 [5.3.3.1.1]）及び海外試験 2 試験（2685 試験 [5.3.3.2.1]及び 18097 試験 [5.3.3.2.2]）、計 3 試験の薬物動態試験から得られた全身曝露量データを比較した要約を本申請書「2.7.2 臨床薬理の概要」[2.7.2 - 3 項] に記載する。

1.4　分析法の概観

1.4.1　分析法のバリデーション（アダパレン及び安息香酸）

本項では、ヒト血漿検体中のアダパレンと安息香酸の濃度測定に用いた分析法のバリデーションの要約を記載する。分析法バリデーション報告及び関連する安定性報告の詳細は本申請書「5.3.1 生物薬剤学試験報告書」に記載する。

アダパレンと安息香酸の血漿中濃度を分析した臨床試験に関して、ヒト血漿検体中のアダパレン及び安息香酸の濃度測定に用いた分析法とそのバリデーション報告を表 2 に示す。これらの臨床試験には薬物動態試験のほかに、局所刺激性と光過敏性を検討した 27121 試験（proof of exposure

のために血漿検体中のアダパレン濃度を測定）が含まれた。また、分析に使用した検体と溶液の安定性の評価も分析法に含まれた。

表 2　アダパレン 0.1%／BPO 2.5%ゲルの臨床試験に用いた分析法のバリデーション及び安定性の要約

臨床試験番号	BPO			アダパレン			
	分析法	LOQ (ng/mL)	安定性の評価	分析法	酵素加水分解	LOQ (ng/mL)	安定性の評価
2685 [5.3.3.2.1]	NA	NA	NA	VRE.4461 [5.3.1.4.1] VRE.4461.S01[a] [5.3.1.4.5]	あり	0.25	VRE.4461.S01 [5.3.1.4.5] / 18 ヵ月、-20°C
18097 [5.3.3.2.2], 27121 [5.3.5.4.1]	NA	NA	NA	VRE.34016 [5.3.1.4.3]	あり	0.1	VRE.34016.S02 [5.3.1.4.7] / 24 ヵ月、-20°C
27122 [5.3.3.1.1]	VRE.34298 [5.3.1.4.2]	20	VRE.34299 [5.3.1.4.6] / 12 ヵ月、-20°C	VRE.34016 [5.3.1.4.3]	あり	0.1	VRE.34016.S02 [5.3.1.4.7] / 24 ヵ月、-20°C

NA＝該当なし
a)　検体中への BPO 添加の詳細は追補に記載する。
出典： 2685 試験 [5.3.3.2.1]、18097 試験 [5.3.3.2.2]、27121 試験 [5.3.5.4.1]、27122 試験 [5.3.3.1.1]、VRE.4461 試験 [5.3.1.4.1] [5.3.1.4.5] 、VRE.34016 試験 [5.3.1.4.3] [5.3.1.4.7]、VRE.34298 試験 [5.3.1.4.2]、VRE.34299 試験 [5.3.1.4.6]

アダパレンの血漿中濃度

血漿中アダパレン濃度は、*Helix pomatia*（*H. pomatia*）由来のβ-グルクロニダーゼで酵素加水分解し、液-液抽出した後に蛍光検出高速液体クロマトグラフィー（HPLC 法）で測定した。初期は、定量限界（LOQ）0.25 ng/mL、検出限界（LOD）0.15 ng/mL で分析法のバリデーションを行った（VRE.4461 試験 [5.3.1.4.1] 表 2 参照）。この方法は、外国人被験者を対象とした薬物動態試験（2685 試験）での血漿中アダパレン濃度測定に用いられた。

その後、分析法の性能が向上し、*H. pomatia* 由来β-グルクロニダーゼによる酵素加水分解後に新しい HPLC 法を実施する方法（VRE.34016 試験 [5.3.1.4.3]）が外国人被験者及び日本人被験者を対象とした薬物動態試験（それぞれ 18097 試験、27122 試験）で使用された。このバリデート済み分析法により、定量限界 0.1 ng/mL でアダパレンを定量できるようになった（表 2 参照）。

安息香酸の血漿中濃度

BPO は局所塗布後に未変化体として角質層に吸収され、皮膚下層で徐々に安息香酸に変換する（Nacht 1981 [5.4.27]、Wepierre 1986 [5.4.41]、Yeung 1983 [5.4.43]）。BPO が全身循環の血液中に移行したとしても血漿中に検出することは不可能であり、測定（定量）も不可能である。実際、ヒト血漿中の BPO の安定性を検討する試験（VRE.34280 [5.3.1.4.4]）を実施したところ、BPO はヒト血漿に加えると非常に不安定となり、酸化還元反応により環境温度で素早く安息香酸に変換することが示された。

以上の理由から、日本人被験者を対象とした薬物動態試験（27122 試験）では、BPO の代謝物である安息香酸の血漿中濃度をモニタリングした。VRE.34298 試験 [5.3.1.4.2]では、液体クロマトグラフィー／タンデム質量分析法（LC/MS/MS）による安息香酸のヒト血漿中濃度測定に用いた生物学的分析法のバリデーションを行った。

1.4.2　臨床試験で採取した検体の分析期間

2685 試験、18097 試験、27121 試験及び 27122 試験における検体の初回採取日と最終分析日を表 3 に示す。−20°C で保存した場合、アダパレンはヒト血漿中で少なくとも 2 年以上安定であり、BPO は 12 ヵ月以上安定であった（表 2 参照）。したがって、血漿分析（薬物動態パラメータの検討、その他の proof of exposure）に関わるすべての臨床試験における長期検体保存の最長期間は、関連する安定性試験から得られたデータの範囲内であった。

表 3　　検体分析期間の要約

試験番号	検体の初回採取日	検体の最終分析日	保存条件 [a]	検体の最長保存期間
2685	データなし	データなし	−20ºC	約 1 ヵ月 [b]
18097	[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日	[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日	−20ºC	97 日
27121	[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日	[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日	−20ºC	63 日
27122	[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日	[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日	−20ºC	102 日

注：検体保存期間は別々に算出し、個々の生物学的分析報告書には記載していない。検体保存期間が安定性データを超えていないことを示すために算出を行った。

a)　温度範囲は個々の生物学的分析計画書又は報告書に明記する。

b)　生物学的分析報告書に検体保管日の記述はないが、VRE.4461.S01 に記載するとおり、−16ºC～−28ºC で保存する場合、アダパレンはヒト血漿中で 18 ヵ月以上安定であることが示されている。

出典：2685 試験 生物学的分析報告書—血漿 [5.3.3.2.1 - Appendix 16.5.1]；18097 試験 生物学的分析試験フェーズ報告書 [5.3.3.2.2 - Appendix 16.1.10]；27121 試験 [5.3.5.4.1 - Appendix 16.2.5]；27122 試験 [5.3.3.1.1 - Appendix 16.1.12]

2　個々の試験の要約

本項ではヒト生体材料を用いた 3 つの試験の要約を記載する。*In vitro* 経皮吸収試験（4781 試験及び 4932 試験）をそれぞれ 2.1 項及び 2.2 項に要約する。^{14}C-アダパレンの経皮吸収及び代謝を検討した試験（4708 試験）を 2.3 項に要約する。

2.1　4781 試験

異なる製剤に処方されたアダパレン 0.1%及び BPO 2.5%のヒト皮膚への in vitro 放出-透過性の比較 [5.3.1.3.3]

試験デザイン

本試験の目的は、配合剤として処方された 2 つの原薬の *in vitro* での薬剤学的放出特性に関する情報を、有効成分としてアダパレン 0.1%（w/w）又は BPO 2.5%（w/w）を含有する単剤及び各有効成分を含有する単剤の市販製剤と比較することであった。本試験では 5 種類の製剤、すなわ

ち、本剤、アダパレン 0.1%ゲル、ディフェリン®（アダパレン）ゲル 0.1%、BPO 2.5%ゲル、Cutacnyl®（BPO）ゲル 2.5%を評価した。

全層ヒト皮膚切片モデルを用いて、アダパレンと BPO の放出-透過性を異なる製剤間で比較した。ドナー12 名から摘出した全層ヒト皮膚（範囲：0.67～1.65 mm）を用いた。試験が複雑であること、必要な検体数が多いことから、2 つのパートに分けて試験を行った。第 1 パートではドナー6 名から摘出した検体を用い、第 2 パートでは別のドナー6 名から摘出した検体を用いた。第 1 パートではすべてのアダパレン含有製剤を 2 回適用し、第 2 パートではすべての BPO 含有製剤を 2 回適用した。2 つのグラスコンパートメント（ドナーコンパートメントとレセプターコンパートメント）に挟む形で、拡散面積 1 cm^2 でオープンガラス拡散セルに皮膚を装着した。皮膚の真皮側をレセプターコンパートメントに接触させ、レセプターコンパートメントを界面活性剤含有等張液 3 mL で満たし 350 rpm で連続撹拌した。この溶液の温度を 37°C に維持した。各製剤（10 mg/cm^2）を非閉塞で 16 時間塗布した。

16 時間後に吸収、皮膚分布、マスバランスの評価を行った。アダパレン濃度の測定にはバリデート済み蛍光検出 HPLC 法を用いた（VRE.34156）。この方法の定量限界は 1.00 ng/mL であった。BPO（当量）濃度は、バリデート済み紫外線（UV）検出 HPLC 法を用いて（BPO から安息香酸への酸化還元変換後に）測定した（VRE.34157）。この方法の定量限界は、エタノール／水及びリン酸緩衝食塩水（PBS）／Tween のマトリクスが 25.00 ng/mL、エタノールマトリクスが 50.00 ng/mL であった。レセプター液、表皮（角質層を含む）、真皮、レセプター液分画、吸収されなかった表面過剰における濃度を測定した。

結果

いずれのアダパレン含有製剤でも、アダパレンは主として表皮に分布し、わずかながら真皮にも到達した。検討したアダパレン含有製剤（2 つの単剤と 1 つの配合剤）を問わず、皮膚を介してレセプター液に吸収されたアダパレン濃度は定量限界未満（1 ng/mL 未満）であったため、0 の値とした。各製剤から（角質層＋表皮＋真皮に）到達したアダパレンの平均総透過量を表 4 に示す。アダパレンの総透過量に関して、3 つの製剤間に統計学的有意差は認められなかった（4781 試験 [5.3.1.3.3 - Annex 4] 参照）。

表 4　アダパレンの総透過量（4781 試験）

薬剤	透過量 [a]			マスバランス [b]
	算術平均±SEM		幾何平均	
	µg/cm^2	%投与量	µg	%投与量
アダパレン 0.1%／BPO 2.5%ゲル	0.42±0.15	4.85±1.79	0.21	85.66±1.10
アダパレン 0.1%ゲル	0.15±0.04	1.64±0.40	0.10	79.77±2.37
ディフェリン®（アダパレン）ゲル 0.1%	0.30±0.11	3.41±1.29	0.18	81.46±1.02

SEM=平均値の標準誤差
注：N=12/投与群。異なる皮膚コンパートメントでアダパレン分布比が異常であったため、アダパレン 0.1%ゲルに関して 1 つのセルの結果は除外した（N=11）。
a)　薬剤塗布した皮膚、レセプター液、レセプターコンパートメント洗液での回収量の総和
b)　算術平均±SEM
出典：4781 試験 [5.3.1.3.3 - Section 4.4 Table C]

アダパレンの検出について、3 つの製剤の平均マスバランスは投与量の約 80%～86%であった（表 4）。皮膚吸収試験の実施に関する経済協力開発機構（OECD）ガイダンス文書（Series on Testing and Assessment, Number 28, 2004）では、放射性化学物質を用いた場合の平均回収率が 100±10%であることが適切とされているが、全体的にみて、これらのマスバランスは、このガイダンス基づいて予測されたマスバランスの範囲内であるか、わずかに下回っていた。低透過性の製剤で予測されるとおり、アダパレンの皮膚透過性に大きなばらつきが認められた（変動係数：79%～128%、SRE.4781 試験 [5.3.1.3.3 - Summary] 参照）。さらに、統計解析を行ったところ、様々な皮膚コンパートメントへのアダパレンの総到達量の残差変動が 97%であり、低透過性に一致している。非放射性の被験物質では、複雑なマトリクスからの定量限界、抽出、定量といった分析上の問題が生じるために、回収率が低くなることが予測される。

1.4.1 項で前述したとおり、BPO の透過性の検討では安息香酸の濃度を測定した。3 つの BPO 含有製剤のいずれについても、すべての皮膚コンパートメントで定量可能な BPO が検出された。（角質層＋表皮＋真皮＋レセプター画分に）到達した BPO の平均総透過量を表 5 に示す。BPO の総透過量に関して、製剤間に統計学的有意差は認められなかった（4781 試験 [5.3.1.3.3 - Annex 5]参照）。

3 つの BPO 含有製剤は低いマスバランスが認められた（投与量の約 54～62%）。アダパレン回収結果の要約で前述したとおり、非放射性の被験物質では回収率が低くなることが予測される。BPO の皮膚透過性に関しては、変動係数範囲（42%～69%；4781 試験[5.3.1.3.3 - Summary] 参照）で示されるとおり、中等度のばらつきが認められた。

表 5　　BPO の総透過量の要約（4781 試験）

薬剤	透過量 [a]			マスバランス [b]
	算術平均±SEM		幾何平均	
	µg 当量/cm²	%投与量	µg 当量	%投与量
アダパレン 0.1%／BPO 2.5%ゲル	17.45±3.47	7.75±1.64	13.92	59.46±1.52
BPO 2.5%ゲル	16.21±2.93	7.12±1.35	13.41	53.93±1.16
Cutacnyl（BPO）ゲル 2.5%	14.48±1.75	6.54±0.84	13.50	62.43±1.84

N=12/投与群
a)　薬剤塗布した皮膚、レセプター液、レセプターコンパートメント洗液での回収量の総和
b)　算術平均±SEM
出典：4781 試験 [5.3.1.3.3 - Section 4.5 Table D]

結論

本試験の実験条件下において、アダパレンと BPO を配合剤として同時投与してもこれら 2 つの有効成分の透過性に有意な変化は認められなかった。さらに、アダパレン 0.1%ゲルの製剤学的放出特性は、市販製剤であるディフェリン®（アダパレン）0.1%ゲルの製剤学的放出特性と同等であった。同じく、BPO 2.5%ゲルの製剤学的放出特性も市販製剤である Cutacnyl®（BPO）ゲル 2.5%の製剤学的放出特性と同等であった。

2.2 4932 試験

Ex vivo ヒト皮膚に CD0271（アダパレン）と CD1579（BPO）を含量固定配合剤として同時塗布した場合と 2 種類の市販製剤を塗布した場合の塗布方法の違いが両成分の経皮吸収に及ぼす影響 [5.3.1.3.1]

試験デザイン

本試験の目的は、塗布方法の違いがアダパレンと BPO の *ex vivo* ヒト皮膚への経皮吸収に及ぼす影響を検討することであった。本剤（Epiduo®ゲル）を塗布したときのアダパレンと BPO の放出を、市販製剤であるディフェリン®（アダパレン）ゲル 0.1%と Cutacnyl®（BPO）ゲル 2.5%を順次局所塗布したときの放出と比較した。

以下の塗布方法を評価した（総塗布時間は 5 つの各条件につき 24 時間とした）。

- 本剤（Epiduo®ゲル）
- ディフェリン®ゲル 0.1%を塗布してから 10 分後又は 10 時間後に Cutacnyl®ゲル 2.5%を塗布
- Cutacnyl®ゲル 2.5%を塗布してから 10 分後又は 10 時間後にディフェリン®ゲル 0.1%を塗布

全層ヒト皮膚（範囲：1.7～2.2 mm）を用いて in vitro 吸収試験を実施した。各条件につき、ドナー3 名から摘出した検体を用いて 3 回試験を行った。各製剤を有限用量 10 mg/cm²で皮膚表面 1 cm²に塗布し、レセプターコンパートメントに 0.25% (v/v) Tween 80 含有 PBS 2 mL を満たした。皮膚検体をプレート撹拌器（300 rpm）に装着し、37°C、5% CO_2 に設定したセルインキュベーターに 24 時間設置した。

バリデート済み HPLC 法を用いて、角質層を含む表皮、真皮、レセプター液中のアダパレン濃度と BPO 濃度を測定した。アダパレン濃度はバリデート済み蛍光検出 HPLC 法を用いて測定した（VRE.34156 [5.3.1.4.8]）。BPO（当量）濃度はバリデート済み紫外線（UV）検出 HPLC 法を用いて（BPO から安息香酸への酸化還元変換後に）測定した（VRE.34157 [5.3.1.4.9]）。アダパレンの定量限界は、レセプター液が 0.004 µg/cm²、表皮と真皮が 0.016 µg/cm²であった。BPO の定量限界はレセプター液が 0.2 µg/cm²、表皮と真皮が 0.4 µg/cm²であった。

生物学的同等性と二元配置分散分析（ANOVA）の 2 つの統計手法を用いて、本剤塗布後のアダパレン及び BPO の放出をディフェリン®ゲル 0.1%と Cutacnyl®ゲル 2.5%の順次塗布後の両成分の放出と比較した。

結果

アダパレンの皮膚透過性

本剤を 24 時間局所塗布したときのアダパレンの皮膚中回収率は 2.05%であった。一方、ディフェリン®ゲル 0.1%と Cutacnyl®ゲル 2.5%を順次塗布したときのアダパレンの皮膚透過率はそれ

より低かった。生物学的同等性の判断基準に照らし、4 種類の順次塗布方法は本剤（Epiduo®ゲル）塗布と有意に異なっており、本剤（配合剤）塗布によるアダパレン放出量は単剤の市販製剤を用いた塗布方法による放出量の 2～5 倍であった（表 6）。

塗布方法に関わらず、表皮から回収されたのはアダパレンのみであった（SRE.4932 試験 [5.3.1.3.1 - Summary Table A] 参照）。真皮中とレセプター液中のアダパレン濃度はいずれも定量限界未満であった。

表 6　アダパレンの総透過量の要約（4932 試験）

薬剤	投与間隔	透過量 [a] 算術平均±SEM		幾何平均比（実際／基準）	ANOVA に基づいた p 値
		µg/cm²	%投与量		
本剤（Epiduo®ゲル、配合剤）	NA	0.24±0.08	2.05±0.68	NA	NA
Cutacnyl®ゲル 2.5%塗布後に	10 分間	0.07±0.02	0.57±0.15	36.04%	0.035
ディフェリン®ゲル 0.1%塗布	10 時間	0.18±0.08	1.52±0.61	56.17%	0.232
ディフェリン®ゲル 0.1%塗布	10 分間	0.08±0.03	0.71±0.23	18.96%	0.011
後に Cutacnyl®ゲル 2.5%塗布	10 時間 [b]	0.13±0.06	1.09±0.47	21.11%	0.003

N=9
a)　総透過量：表皮、真皮、レセプター液での回収量の総和
b)　N=8/投与群
出典：4932 試験 [5.3.1.3.1 – Summary Table A 及び Table C]

安息香酸

塗布方法を問わず、BPO は主としてレセプター液中で回収され、表皮と真皮での回収率はわずかであった（4932 試験 [5.3.1.3.1 - Summary Table B] 参照）。さらに、ディフェリン®ゲル 0.1%を最初に塗布する方法は本剤（Epiduo®ゲル）塗布と異なっており、この方法による BPO 回収率は本剤塗布による回収率より低かった（表 7）。

表 7　安息香酸の総透過量の要約（4932 試験）

薬剤	投与間隔	透過量 [a] 算術平均±SEM		幾何平均比（実際／基準）	ANOVA に基づいた p 値
		µg/cm²	%投与量		
本剤（Epiduo®ゲル、配合剤）	NA	24.99±2.38	8.65±0.80	NA	NA
Cutacnyl®ゲル 2.5%塗布後に	10 分間	28.53±1.19	9.54±0.44	118.08%	0.089
ディフェリン®ゲル 0.1%塗布	10 時間	24.59±2.22	8.31±0.80	99.08%	0.931
ディフェリンひゲル 0.1%塗布後	10 分間	10.22±2.32	3.28±0.71	34.91%	0.000004
に Cutacnyl®ゲル 2.5%塗布	10 時間 [b]	13.88±0.64	4.55±0.17	57.65%	0.00006

N=9
a)　総透過量：表皮、真皮、レセプター液での回収量の総和
b)　N=8/投与群
出典： 4932 試験 [5.3.1.3.1 - Summary Table B 及び Table C]

結論

4 種類の順次塗布方法によるアダパレンと BPO の透過性は、本剤の結果と異なっていることが試験結果から示された。

単剤の市販製剤（ディフェリン®ゲル 0.1%及び Cutacnyl®ゲル 2.5%）を用いた塗布方法によるアダパレンの皮膚透過性は、塗布の間隔や順序を問わず、本剤（Epiduo®ゲル）と有意に異なっており、本剤塗布によるアダパレン放出量は単剤の市販製剤を用いた塗布方法による放出量の 2～5 倍であった。

さらに、ディフェリン®ゲル 0.1%を最初に塗布する方法による BPO の放出（代謝物である安息香酸として測定）は本剤（Epiduo®ゲル）塗布時と異なっており、本剤塗布による放出量は市販製剤の順次塗布による放出量の 2～3 倍であった。

2.3 4708 試験

単剤又は BPO との配合剤として処方された ^{14}C-アダパレンのヒト再構築表皮への透過性及び代謝 [5.3.1.3.2]

試験デザイン

本試験の目的は、ヒト再構築表皮（RHE）モデルを用いて ^{14}C-アダパレンの経皮吸収と代謝を 2 種類の製剤間で比較することであった。一方は ^{14}C-アダパレン 0.1%／BPO 2.5%ゲル、他方はアダパレンの単剤（^{14}C-アダパレン 0.1%ゲル）であった。*In vitro* 薬物代謝モデルとしての RHE の適格性を調べるために陽性対照（^{14}C-テストステロン）を用いた。さらに、細胞生存率と組織学的変化を評価する陰性対照としてゲル基剤と未処理 RHE を用いた。

各製剤を有限用量 10 mg/cm²で各処理済み RHE 試料の角質化した側（表面積 0.63 cm^2）に直接塗布した。代謝と総放射線量を測定するために、^{14}C-アダパレン 0.1%／BPO 2.5%ゲル、^{14}C-アダパレン 0.1%ゲル及び ^{14}C-テストステロン（陽性対照）の各々につき 6 個の試料を用意した。2 種類のアダパレン含有製剤の細胞生存率を評価するため、各製剤につき、さらに 4 個の試料（2 試料は 6 時間観察用、残りの 2 試料は 24 時間観察用）を用意した。ゲル基剤では計 6 個の RHE 試料を用意し、2 試料を用いて 24 時間後の細胞の組織学的変化を評価し、残りの 4 試料を用いて 6 時間後（2 試料）及び 24 時間後（2 試料）の細胞生存率を評価した。未処理対照を用意して、1 時間後（2 試料）及び 24 時間後（2 試料）の組織学的評価、6 時間後（2 試料）及び 24 時間後（2 試料）の細胞生存率の評価を行った。

RHE 試料を 24 時間の試験期間中、37°C、5% CO_2 下で静置した。1、2、3、6 及び 24 時間のインキュベーション時点で、試料の代謝分析のためレシーバーチェンバーから培地を回収して新鮮培地に交換した。24 時間の曝露期間終了時に表面過剰を除去して分析用に RHE 試料を保持した。液体シンチレーション計数により総放射線量を測定した後、HPLC 法で代謝プロファイリングを実施した。試験終了時に、3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide 還元アッセイ（MTT アッセイ）により細胞生存率と完全性の評価も行った。

結果

RHE に細胞傷害性や組織壊死の徴候は認められなかった。24 時間曝露後の細胞生存率はほぼ 100%であり（4708 試験 [5.3.1.3.2 - Annex 1 Table 2] 参照）、検討したいずれの製剤も細胞傷害性ではないことが示された。未処理 RHE 試料とゲル基剤を塗布した RHE 試料を組織学的に分析したところ、表皮の形態全体が保たれており、特に角質層の形態に損傷や変化は認められなかった（4708 試験 [5.3.1.3.2 - Annex 4] 参照）。テストステロンは広く代謝されており（24 時間後に 100%；SRE.4708 試験 [5.3.1.3.2 - Annex 1 Table 4] 参照）、本試験で用いた RHE 試料が *in vitro* 薬物代謝モデルとして適格であることが示された。^{14}C-アダパレン 0.1%／BPO 2.5%ゲル又は ^{14}C-アダパレン 0.1%ゲルを塗布した RHE 試料中に代謝物は検出されず（SRE.4708 試験 [5.3.1.3.2 - Section 7.5] 参照）、アダパレン未変化体のみが検出された。

投与量の透過率（0～24 時間培地及び RHE 試料から回収された総放射線量）は、^{14}C-アダパレン 0.1%／BPO 2.5%ゲルが 8.30%±1.40%、^{14}C-アダパレン 0.1%ゲルが 8.39%±1.17%であった（SRE.4708 試験[5.3.1.3.2 - Annex 1 Table 5] 参照）。いずれのアダパレン含有製剤においても、放射能は主に RHE 内に分布し、培地から回収した平均累積放射線量は投与量の 0.29%～0.45%であった（SRE.4708 試験[5.3.1.3.2 - Annex 1 Table 5] 参照）。

結論

本剤とアダパレン 0.1%ゲルとの間で、^{14}C-アダパレンの透過性及び代謝に有意差は認められなかった。したがって、本モデルの生存ヒト再構築皮膚におけるアダパレンの代謝と皮膚透過性に BPO が影響を及ぼさないことが示された。

3　全試験を通しての結果の比較と解析

開発プログラムの一環として、全層ヒト皮膚モデルを用いた 2 件の *in vitro* 放出-透過性試験（4781 試験及び 4932 試験）を実施した。4781 試験は本剤の製剤開発の初期段階に実施した。一方、4932 試験は、アダパレン 0.1%単剤と BPO 2.5%単剤を順次塗布した場合と比較して配合剤の製剤特性を示すことを目的に最近実施した。1.4.1 項で前述したとおり、分析対象は BPO ではなく安息香酸（BPO の代謝物）とした。

4781 試験は全層ヒト皮膚切片を用いて GLP に完全準拠して実施した。本試験の目的は、アダパレンと BPO を配合剤として同時塗布した場合に両成分の既知の透過性が変化するか検討することであった。また、本剤の各成分の透過性と市販の単剤であるディフェリン®（アダパレン）ゲル 0.1%及び Cutacnyl®（BPO）ゲル 2.5%の透過性の比較も行った。その結果、本剤として両有効成分を同時塗布した際、各成分の透過性に統計学的に有意な変化は認められなかった。さらに、本剤を塗布した場合と市販製剤であるディフェリン®ゲル 0.1%及び Cutacnyl®ゲル 2.5%を別々に塗布した場合を比較したところ、アダパレンと BPO の皮膚透過性に有意差は認められなかった。

さらに、4932 試験では、本剤を塗布した場合と市販製剤であるディフェリン®ゲル 0.1%及び Cutacnyl®ゲル 2.5%を順次塗布した場合を比較したところ、アダパレンと BPO の皮膚透過性に有意差が認められた。本剤を局所塗布したときのアダパレン及び BPO の双方の皮膚透過性は、アダパレンと BPO の各単剤を順次塗布したときより優れていた（配合剤塗布の場合、アダパレン放出量は単剤のいずれの塗布方法より 2～5 倍多く、BPO 放出量はディフェリン®ゲル 0.1%を最初に塗布する方法より 2～3 倍多かった）。

配合剤に関しては、4932 試験の結果は先行試験（4781 試験）の所見と一致していた。2 件の放出-透過性試験を比較したところ、本剤の *in vitro* 放出特性は以下のとおり同等であった。

- アダパレンの透過率は本剤の投与量の 2%±1%（4932 試験）及び 5%±2%（4781 試験）であった。
- BPO の透過率は本剤の投与量の 9%±1%（4932 試験）及び 8%±2%（4781 試験）であった。

In vitro 放出特性を検討する試験のほかに、3 番目の試験（4708 試験）では RHE モデルを用いて本剤塗布時の ^{14}C-アダパレンの *in vitro* 代謝について検討した。分析したいずれの検体でも、検出された放射性物質はアダパレン未変化体のみであり、アダパレンが RHE に代謝されないことが示された。また、アダパレンの透過性が配合剤中の BPO によって変化しないことも示された。

以下のとおり、これらの *in vitro* 試験から、本剤に含まれるアダパレンと BPO が相互作用しないことが示された。

- アダパレンと BPO が配合剤として処方されても、両有効成分の透過性は有意に変化しない。さらに、本剤と市販製剤であるディフェリン®（アダパレン）ゲル 0.1%及び Cutacnyl®（BPO）ゲル 2.5%との間で、薬剤学的放出特性に差が認められない。
- このことは、本申請書「2.7.2 臨床薬理の概要」[2.7.2 - 3 項] に記載するとおり、薬物動態試験（27122 試験、2685 試験、18097 試験）の結果から確認済みである。
- アダパレンの代謝と透過性は、配合剤に含まれる濃度 2.5%の BPO によって変化することはなかった。

さらに、本剤の特性が各有効成分（アダパレン及び BPO）を含有する市販の単剤を順次塗布したときの特性より優れていることを支持する根拠が 4932 試験から得られた。

4　付録

該当なし。

5　参考文献

Gollnick H. Current concepts of the pathogenesis of acne: implications for drug treatment. Drugs. 2003;63(15):1579-96.

Nacht S, Yeung D, Beasley JN Jr, Anjo MD, Maibach HI. Benzoyl peroxide: Percutaneous penetration and metabolic disposition. J Am Acad Dermatol. 1981 Jan;4(1):31-7.

Wepierre J, Corroller M, Didry JR. Distribution and dissociation of benzoyl peroxide in cutaneous tissue after application on skin in the hairless rat. Int J Cosmet Sci. 1986 Jun;8(3):97-104.

Yeung D, Nacht S, Bucks D, Maibach HI. Benzoyl peroxide: percutaneous penetration and metabolic disposition. II. Effect of concentration. J Am Acad Dermatol. 1983 Dec;9(6):920-4.