2.4　非臨床試験の概括評価

ゼンタコート®カプセル 3mg

目次　　頁

目次 2
略語及び専門用語一覧表 3
2.4.1 非臨床試験計画概略 4
2.4.2 薬理試験 5
2.4.2.1 効力を裏付ける試験 5
2.4.2.1.1 オボアルブミン感作腸炎モデルラットにおける作用 5
2.4.2.1.2 TNB 惹起回腸炎モデルハムスターにおける作用 5
2.4.2.1.3 腸粘膜系組織への取り込み及び組織内貯留性 5
2.4.2.2 副次的薬理／安全性薬理試験 5
2.4.3 薬物動態試験 6
2.4.3.1 既提出資料の要約 6
2.4.3.2 新規提出の非臨床薬物動態試験成績のまとめ 6
2.4.4 毒性試験 7
2.4.4.1 単回投与毒性 7
2.4.4.2 反復投与毒性 7
2.4.4.2.1 ブデソニド腸溶性徐放顆粒のカニクイザルを用いた反復経口投与試験 7
2.4.4.2.2 ラット及びイヌを用いた既提出の反復投与試験 7
2.4.4.3 遺伝毒性 7
2.4.4.4 がん原性 7
2.4.4.5 生殖発生毒性 8
2.4.4.6 局所毒性 8
2.4.4.7 その他の毒性 8
2.4.4.7.1 抗原性 8
2.4.4.7.2 エピマーA、B 及び分解物・代謝物の急性毒性 8
2.4.4.7.3 不純物 8
2.4.5 総括及び結論 9
2.4.5.1 薬理作用の特徴 9
2.4.5.2 薬物動態的特性 9
2.4.5.3 毒性学的評価 9
2.4.6 参考文献一覧 9

略語及び専門用語一覧表

本概要で使用する略語及び専門用語を以下に示す。

略語及び専門用語	用語の説明
AUC	Area Under the Plasma Concentration Time Curves：血漿中濃度－時間曲線下面積
AUC_{0-t}	Area Under the Plasma Concentration Time Curves from 0 to Time t：時間 0 から時間 t までの血漿中濃度－時間曲線下面積
CYP	Cytochrome P450：チトクローム P450
D9421-C	ブデソニド腸溶性徐放顆粒を充填したカプセル
F	Bioavailability：バイオアベイラビリティ
MAT	Mean Absorption Time：平均吸収時間
MPO	Myeloperoxidase：ミエロペルオキシダーゼ
SD	Sprague Dawley
$t_{½}$	Elimination Half life：消失半減期
TNB	Trinitrobenzenesulfonic Acid：トリニトロベンゼンスルフォン酸

2.4.1　非臨床試験計画概略

ブデソニドは局所性に強力な抗炎症作用を発揮する糖質コルチコイドである。本邦ではブデソン®軟膏、パルミコート®タービュヘイラー®、シムビコート®タービュヘイラー®及びパルミコート®吸入液として承認されており、現在、気管支喘息等の局所治療薬として臨床使用されている。ブデソニドは、特に吸入投与による喘息治療薬として、粘膜組織に対する局所性抗炎症作用を明らかにするための薬理試験が数多く実施されてきた。また、ブデソニドは、糖質コルチコイド受容体に対する親和性が非常に高く、初回通過効果が大きく、物性として水溶性と親油性を併せ持つことから、腸管壁に対しても局所抗炎症治療薬として優れた効果が期待できる。今回、クローン病治療の標的臓器である回腸及び上行結腸への局所的薬物送達を効果的に実現するために、腸溶性徐放顆粒を充填したカプセル（D9421-C）を開発した。本概括評価では、ブデソニドのクローン病治療に関連して実施した非臨床試験をまとめた。

ブデソニドは *in vitro* 試験系において各種炎症性メディエーター及びサイトカインの産生及び遊離を抑制し、また炎症性腸疾患モデルでの局所適用においても抗炎症作用を示した。ブデソニドは高い局所性抗炎症作用を有し、さらに肝臓での急速な不活化を受けるため、薬効と全身作用の分離が非常に優れている。また、ブデソニドには可逆的脂肪酸抱合化（脂肪酸エステル化）を受けるという重要な特徴があり、これが局所での長期貯留と強力な抗炎症作用に寄与している。腸粘膜組織においても、ブデソニドは脂肪酸エステル化により局所に貯留する親油性のエステル化体に変換された後、徐々に活性本体であるブデソニドに脱エステル化されると考えられる。このエステル化／脱エステル化の特徴がブデソニドの長時間作用性の一因となっていると示唆される。

本承認申請では、経口投与に焦点をあて、非臨床試験についても実際の臨床使用における抗炎症作用を評価するためブデソニドの経口投与後の成績を示した。また、今回の申請には既承認のブデソン®軟膏、パルミコート®タービュヘイラー®又はパルミコート®吸入液申請時に使用したデータを一部利用した。更に、公表論文からの引用も含めた。

ブデソン®軟膏開発時、1983～1984 年に一連のブデソニドを用いた安全性薬理試験（旧 一般薬理試験）を実施した。ブデソン®軟膏は皮膚への局所適用製剤であったが、薬物の安全性を評価する目的を鑑み、主に *in vitro*（最高濃度：100 μg/mL）及び静脈内投与（最高用量：10 mg/kg）で安全性薬理試験を実施している。当該試験において、ブデソニドの安全性を危惧するような結果は得られていなかったことや、十分な全身曝露量が確保されていたことから、D9421-C が臨床的に問題のある副作用を発現するリスクは低いと判断し、本邦での D9421-C の開発にあたっては新たな安全性薬理試験は実施しなかった。

D9421-C の経口投与後の薬物動態評価を目的として、カニクイザルを用いた薬物動態試験 1 試験とトキシコキネティクス試験 2 試験を実施した。

毒性試験として、ブデソニド腸溶性徐放顆粒の経口投与における安全性を検討する目的で、カニクイザルを用いた単回経口投与試験並びに 4 週間及び 26 週間反復経口投与試験を実施した。

2.4.2　薬理試験

ブデソニドに関して、ブデソン®軟膏、パルミコート®タービュヘイラー®及びパルミコート®吸入液承認申請時に一連の非臨床薬理試験成績を提出しているので、本承認申請ではクローン病治療に関連するブデソニドの薬理作用を検討した試験結果を要約した。

2.4.2.1 効力を裏付ける試験

2.4.2.1.1　オボアルブミン感作腸炎モデルラットにおける作用

オボアルブミン感作腸炎モデルラットにおいて、ブデソニド 0.1 mg/kg 及びプレドニゾロン 10 mg/kg（共に経口投与）は腸管へのアレルゲン惹起性血漿蛋白質漏出を有意に抑制した。また、局所適用したブデソニド 30 μmol/L も有意な抑制作用を示した。一方、プレドニゾロンは 3.3 及び 10 mg/kg の経口投与で有意に胸腺重量の低下を引き起こしたが、ブデソニド（0.1 mg/kg 経口投与及び 30 μmol/L 局所適用）は胸腺重量に影響を及ぼさなかった（Gustafsson et al 2001、CTD 4.2.1.1.1 参照）。

2.4.2.1.2　TNB 惹起回腸炎モデルハムスターにおける作用

トリニトロベンゼンスルフォン酸（TNB）により回腸炎を惹起させたハムスターにおいてブデソニドの抗炎症作用を検討した。ブデソニド（原末懸濁液）経口投与は 800 μg/kg で炎症部位のミエロペルオキシダーゼ（MPO）活性上昇を抑制した。その作用は炎症惹起前に投与開始した群及び炎症惹起後に投与開始した群のいずれでも確認された。さらに、ブデソニド腸溶性徐放顆粒懸濁液は、200 μg/kg の経口投与でブデソニド原末懸濁液 800 μg/kg と同程度の抗炎症作用をもたらすことが可能であった（Boyd et al 1995、CTD 4.2.1.1.2 参照）。

2.4.2.1.3　腸粘膜系組織への取り込み及び組織内貯留性

ブデソニド及びプレドニゾロン局所適用時のラット腸粘膜系組織への取り込み及び貯留量について検討した。局所適用時のブデソニドの血漿中への移行はプレドニゾロンのそれよりも低値であったが、ブデソニドの腸管粘膜系組織への取り込み量（薬物曝露 20 分後）及び同組織中におけるブデソニドの貯留量（薬物曝露 4 時間後）はプレドニゾロンよりも高いことが示された。また、取り込まれたブデソニドの一部はエステル化していることも確認された。また、感作ラットにおけるアレルゲン惹起性血漿蛋白質漏出によりブデソニドの腸粘膜系組織への取り込みは影響を受けなかった（試験 850-RD-0383、CTD 4.2.1.1.3 参照）。

2.4.2.2 副次的薬理／安全性薬理試験

副次的薬理／安全性薬理試験はブデソン®軟膏、パルミコート®タービュヘイラー®及びパルミコート®吸入液承認申請時に一般薬理試験として既に提出・評価済みである。以下はその概略である。

ブデソニドは 10 mg/kg までの静脈内投与（*in vitro* では 100 μg/mL まで）において中枢神経系、呼吸・循環器系及び血液系への明らかな作用を示さなかった。また、ブデソニドはステロイドホルモン様作用を示さなかったが、副腎摘出ラットでは尿量又は電解質排泄量の増加を示した。し

かし、鉱質コルチコイド作用としての塩類貯留作用は認められなかった。また、ブデソニドは卵巣摘出ラットに反復投与したとき、黄体ホルモン及び卵胞ホルモン様作用のいずれも示さなかった。ブデソニドはプロピオン酸ベクロメタゾン等の類薬に比して、局所適用あるいは経口投与時の抗炎症作用が強く、下垂体―副腎皮質機能抑制作用を含む全身作用が単回及び反復投与いずれの場合も弱く、局所抗炎症作用と全身作用との分離に優れていた（第 1 部 1.13.1 項参照）。

マウス、ラット及びカニクイザルの単回経口投与毒性試験において認められた所見は高用量での体重減少及び痩化（マウス及びラット）のみであり、一般状態に異常は認められず、ブデソニドの経口投与での全身性の作用は弱いと結論付けられた（2.6.6.2 項参照）。

2.4.3　薬物動態試験

吸収、分布、代謝、排泄に関する非臨床薬物動態試験成績はブデソン®軟膏、パルコミート®タービュヘイラー®、パルコミート®吸入液、シムビコート®タービュヘイラー®の承認申請時に既に提出している。本承認申請においては、カニクイザルにおけるブデソニド腸溶性徐放顆粒の薬物動態試験 1 試験と毒性試験に伴うトキシコキネティクス試験 2 試験が実施された。

2.4.3.1 既提出資料の要約

ラット、マウス及びイヌに ^{3}H-ブデソニドを静脈内投与したときの血液・血漿中未変化体濃度の消失半減期（$t_{½}$）は 1.1～3.0 時間であった。また、経口投与時のバイオアベイラビリティ（F）はラットで 32%、マウスで 35%、イヌで 9～19%であった。ラットに ^{3}H-ブデソニドを皮下投与すると、放射能濃度は皮膚、白色脂肪、副腎、大腸及び小腸で高く、中枢神経系、精巣及び眼球では最も低かった。妊娠ラットに ^{3}H-ブデソニドを皮下投与したとき、妊娠 10 日目の胎児には母体血清の 2～6 倍、妊娠 17 日目の胎児には母体血清とほぼ同程度の濃度が認められた。血漿蛋白結合率はラット、マウス、ウサギ、イヌ及びヒトで 85～90%であり、種差は認められていない。ブデソニドの主代謝酵素はチトクローム P450（CYP）3A4 であった。また、ラット及びイヌでの主排泄経路は糞中排泄であった（第 1 部 1.13.1 項参照）。

2.4.3.2 新規提出の非臨床薬物動態試験成績のまとめ

サルにおける腸溶性徐放顆粒からのブデソニドの F を検討するために微細化ブデソニドを比較対象としたブデソニド腸溶性徐放顆粒の薬物動態試験が 1 試験実施された（試験 ARA 182、CTD 4.2.3.1.1 参照）。ブデソニド腸溶性徐放顆粒を投与したときの消化管からのブデソニドの吸収は微細化ブデソニド投与時よりも遅く、腸溶性徐放顆粒として投与したブデソニドの F は 0.9～1.4%と微細化ブデソニドのおよそ半分であった。この結果から、サルにおいて腸溶性徐放顆粒からのブデソニドの溶出が不完全であったことが推察された。

トキシコキネティクス試験のためにカニクイザルにブデソニド腸溶性徐放顆粒を 4 週間（試験 ARA 181-G、CTD 4.2.3.2.1 参照）及び 26 週間（試験 ARA 183、CTD 4.2.3.2.2 参照）反復経口投与した。4 週間反復投与における時間 0 から時間 t までの血漿中濃度－時間曲線下面積（$AUC_{0\text{-}t}$）には性差は認められず、反復投与による累積も認められなかった。また、検討した投与量範囲で $AUC_{0\text{-}t}$ はほぼ用量比例的に増加した。26 週間反復投与において、血漿中ブデソニド濃度は投与量とともに増加した。

2.4.4 毒性試験

ブデソニドの毒性について検討するため、これまでに単回投与毒性試験、反復投与毒性試験、遺伝毒性試験、がん原性試験、生殖発生毒性試験等を実施した。今回、更にブデソニド腸溶性徐放顆粒のカニクイザルを用いた単回経口投与毒性試験並びに 4 週間及び 26 週間反復経口投与毒性試験を実施し、消化管等への影響について検討を行った。

2.4.4.1 単回投与毒性

既提出のマウス及びラットでの単回投与毒性試験では、各投与経路とも動物種による毒性所見の著明な差はみられず、経口投与での毒性はきわめて低いものであった。イヌでの皮下投与による単回投与毒性試験ではマウス、ラットと比べ著しい差はみられなかった（第 1 部 1.13.1 項参照）。また、新たにカニクイザルを用いた単回投与毒性試験として、微細化ブデソニド及びブデソニド腸溶性徐放顆粒の 1 及び 10 mg/kg をそれぞれ単回経口投与した。その結果、投与に起因する変化は観察されなかった（試験 ARA 182、CTD 4.2.3.1.1 参照）。

2.4.4.2 反復投与毒性

2.4.4.2.1 ブデソニド腸溶性徐放顆粒のカニクイザルを用いた反復経口投与試験

カニクイザルを用いて、4 週間（試験 ARA 181-G、CTD 4.2.3.2.1 参照）及び 26 週間（試験 ARA 183、CTD 4.2.3.2.2 参照）反復経口投与試験を実施した。認められた所見は、体重の増加抑制及び減少、血漿中コルチゾール濃度の低下、肝重量の増加、副腎重量の減少、胸腺の細胞充実性の低下、副腎皮質の萎縮等で、いずれもブデソニドの糖質コルチコイド作用に起因する所見であった。消化管の病理組織学的変化は認められなかった。

2.4.4.2.2 ラット及びイヌを用いた既提出の反復投与試験

ブデソニドの反復投与毒性試験については、これまでにラット及びイヌを用いて経口、皮下及び吸入投与により最長 12 カ月間の投与期間で実施した。観察された主な所見は、いずれも糖質コルチコイドで典型的にみられるものであり、体重増加抑制、脱毛、リンパ系器官及び副腎の萎縮、胃潰瘍形成、白血球数及びリンパ球数の減少、血漿中コルチゾール濃度の低下等であった（第 1 部 1.13.1 項参照）。

2.4.4.3 遺伝毒性

細菌を用いた復帰突然変異試験、哺乳類の培養細胞を用いた染色体異常試験及びマウスの小核試験では、ブデソニドに遺伝毒性は認められなかった（第 1 部 1.13.1 項参照）。

2.4.4.4 がん原性

CD-1 系マウスでの 91 週間、Sprague Dawley（SD）系ラットでの 104 週間経口投与によるがん原性試験で、脳における星状神経膠腫の発生率増加が SD 系ラットの雄に認められたが、SD 系雄

ラット及び Fischer 系雄ラットを用いた追加試験で、星状神経膠腫の発生率増加は観察されなかった。また肝細胞腫瘍の発生率増加が SD 系ラットの雄に認められたが、SD 系雄ラットでの追加試験において比較対照薬として使用した他の糖質コルチコイドでも同様に認められており、試験実施施設の背景値の範囲内であった（第 1 部 1.13.1 項参照）。

2.4.4.5 生殖発生毒性

皮下投与によるラットの妊娠前及び妊娠初期投与試験では、雌雄親動物の摂餌量の減少、体重増加の抑制、死亡胚・胎児数の増加、化骨遅延等がみられた。皮下投与によるラットの胎児の器官形成期投与試験では、母動物の摂餌量の減少、体重増加の抑制、胸腺、脾臓，副腎及び子宮重量の低下、妊娠日数の延長、胎児体重、生存胎児数及び出生時生存児体重の減少、胎児の胸骨の化骨遅延、出生児の体重増加抑制等が認められた。皮下投与によるラット周産期及び授乳期投与試験では、母動物の摂餌量の減少、体重増加抑制、母動物の胸腺の退縮・重量低下、出生児の眼瞼開裂日齢の促進等が認められた。また、ウサギの皮下投与による胎児の器官形成期投与試験では、母動物の体重増加抑制、体重減少、流産、胎児体重の低下、発育遅延による骨格異常の増加等が認められた（第 1 部 1.13.1 項参照）。

ラットを用いた吸入投与による胎児の器官形成期投与試験では、用量依存的な母動物の体重増加抑制及び胸腺重量低下、高用量群での胎児重量の低下が認められたが、胎児発達に及ぼす影響は認められなかった（第 1 部 1.13.1 項参照）。

2.4.4.6 局所毒性

4 週間及び 26 週間のカニクイザルを用いた反復経口投与試験において、ブデソニド腸溶性徐放顆粒投与による消化管への影響は観察されなかった（2.4.4.2.1項参照）。

2.4.4.7 その他の毒性

2.4.4.7.1　　抗原性

モルモットにおける Maximization test、全身性アナフィラキシー反応及び受身皮膚アナフィラキシー反応試験を実施した。その結果、ブデソニドに抗原性は認められなかった（第 1 部 1.13.1 項参照）。

2.4.4.7.2　　エピマーA、B 及び分解物・代謝物の急性毒性

エピマーA（22 S-ブデソニド）の LD_{50} 値（皮下投与）はブデソニドの約 4 倍、エピマーB（22 R-ブデソニド）はブデソニドと同程度であった。分解物・代謝物の急性毒性はブデソニドより弱かった（第 1 部 1.13.1 項参照）。

2.4.4.7.3　　不純物

ブデソニドの原薬は局外規収載品につき、原薬の不純物は局外規の規格により管理されている。D9421-C に含まれる不純物は、原薬の規格を超えるものではなく、安全性の確認が必要となる不純物はないと考えられた。

2.4.5　総括及び結論

2.4.5.1 薬理作用の特徴

ブデソニドはオボアルブミン感作腸炎モデルラット及び TNB 惹起回腸炎モデルハムスターにおいて有意な腸炎抑制作用を示し、その作用機序は糖質コルチコイド受容体を介した強力な局所抗炎症作用に基づくものと考えられる。また、ブデソニドは局所抗炎症作用と全身性糖質コルチコイド作用との分離に優れており、腸粘膜系組織内に取り込まれたブデソニドは、脂肪酸エステル化を受けることで病変部位での長時間の貯留を可能にすることが示唆された。安全性薬理試験においても、中枢神経系、呼吸・循環器系及び血液系等への明らかな作用は認められなかった。したがって、従来の糖質コルチコイドによるクローン病治療と比較してブデソニドは、副作用を低減できる一方で治療効果を維持できるという、より好ましい薬物治療を提供できるものと期待される。

2.4.5.2 薬物動態的特性

サルにブデソニド腸溶性徐放顆粒を経口投与したときのブデソニドの平均吸収時間（MAT）は微細化ブデソニド投与時より長く、ブデソニド腸溶性徐放顆粒が徐放性を示すことを示唆していると考えられた。また、ブデソニド腸溶性徐放顆粒経口投与時のブデソニドの F は 0.9～1.4%と微細化ブデソニドの約半分であり、サルの消化管内において、ブデソニド腸溶性徐放顆粒からのブデソニドの溶出が不十分であることが示唆された。

2.4.5.3 毒性学的評価

ブデソニド腸溶性徐放顆粒の経口投与における安全性を検討することを目的として、カニクイザルを用いて、単回投与試験並びに 4 週間及び 26 週間反復投与試験をいずれも経口投与により実施した。その結果、認められた所見は、体重の増加抑制及び減少、血漿中コルチゾール濃度の低下、肝重量の増加、副腎重量の減少、胸腺の細胞充実性の低下、副腎皮質の萎縮等で、いずれもブデソニドの糖質コルチコイド作用に起因する所見であることが確認された。特に、ブデソニド腸溶性徐放顆粒を用いたカニクイザルの単回及び反復投与試験では、消化管への影響は認められなかった。ブデソニドの既提出毒性試験の結果を総合すると、D9421-C をヒトに経口投与したときの安全性は適切に評価されたと判断される。

2.4.6　参考文献一覧

該当なし