2.6.6　毒性試験の概要文

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 4
2.6.6.1 まとめ 5
2.6.6.1.1 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及び反復経口投与毒性試験のまとめ（新規提出資料） 5
2.6.6.1.2 既提出資料のまとめ 6
2.6.6.2 単回投与毒性試験 9
2.6.6.2.1 ブデソニド腸溶性徐放顆粒のカニクイザルを用いた単回経口投与試験 9
2.6.6.2.2 マウス、ラット及びイヌを用いた既提出の単回投与試験 9
2.6.6.3 反復投与毒性試験 11
2.6.6.3.1 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 11
2.6.6.3.1.1 カニクイザルを用いた 4 週間反復経口投与試験 11
2.6.6.3.1.2 カニクイザルを用いた 26 週間反復経口投与試験 11
2.6.6.3.1.3 カニクイザルを用いた反復経口投与試験における曝露のまとめ 12
2.6.6.3.2 ラット及びイヌを用いた既提出の反復投与試験 12
2.6.6.3.2.1 ラットを用いた 1 カ月間反復経口投与試験 12
2.6.6.3.2.2 イヌを用いた 1 カ月間反復経口投与試験 13
2.6.6.3.2.3 ラットを用いた 26 週間反復皮下投与試験 13
2.6.6.3.2.4 ラット及びイヌを用いた反復吸入投与試験 14
2.6.6.4 遺伝毒性試験 14
2.6.6.5 がん原性試験 14
2.6.6.5.1 マウスがん原性 14
2.6.6.5.2 ラットがん原性 14
2.6.6.6 生殖発生毒性試験 15
2.6.6.6.1 皮下投与による生殖発生毒性試験 15
2.6.6.6.2 吸入投与によるラット胎児の器官形成期投与試験 15
2.6.6.7 局所刺激性試験 15
2.6.6.8 その他の毒性試験 16
2.6.6.8.1 抗原性 16
2.6.6.8.2 エピマーA、B 及び分解物・代謝物の急性毒性 16
2.6.6.8.3 不純物の毒性試験 16
2.6.6.9 考察及び結論 16

2.6.6.10　図表 17
2.6.6.11　参考文献 17

表目次

表 1　毒性試験一覧表（ブデソニド腸溶性徐放顆粒の経口投与毒性試験） 6
表 2　毒性試験一覧表（既提出資料） 7
表 3　マウス、ラット及びイヌにおける単回投与毒性試験 10
表 4　サル反復経口投与試験におけるブデソニド曝露量 12

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
ALT	Alanine Aminotransferase：アラニンアミノトランスフェラーゼ
ALP	Alkaline Phosphatase：アルカリホスファターゼ
AUC	Area Under the Plasma Concentration Time Curves：血漿中濃度－時間曲線下面積
BDP	Beclomethasone Dipropionate：プロピオン酸ベクロメタゾンエステル
C_{max}	Maximum Plasma Concentration：最高血漿中濃度
D9421-C	ブデソニド腸溶性徐放顆粒を充填したカプセル
Hb	Hemoglobin：ヘモグロビン
Ht	Hematocrit：ヘマトクリット
PCA	Passive Cutaneous Anaphylaxis：受身皮膚アナフィラキシー
RBC	Red Blood Cell Count：赤血球数
SD	Sprague Dawley
TA	Triamcinolone Acetonide：トリアムシノロンアセトニド

2.6.6.1　　まとめ

ブデソニド腸溶性徐放顆粒を充填したカプセル（D9421-C）のクローン病治療薬としての承認申請にあたって、ブデソニド腸溶性徐放顆粒をカニクイザルに反復経口投与したときの毒性試験を新たに実施し、全身性及び消化管等への影響の可能性について検討した。実施した試験一覧を表 1に示す。

更に、ブデソニドの毒性を検討するため、これまでに実施した単回投与毒性試験、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についても要約した。これらの試験はブデソニド（パルミコート®タービュヘイラー®等）の承認申請時に提出済みであり、実施した試験一覧を表 2に示す。

2.6.6.1.1　　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及び反復経口投与毒性試験のまとめ（新規提出資料）

- 雄のカニクイザルを用いた単回経口投与試験（試験 ARA 182）では、ブデソニド腸溶性徐放顆粒及び微細化ブデソニドの 1 及び 10 mg/kg をそれぞれ単回経口投与した結果、一般状態、体重、摂餌量、血液学的検査、剖検及び臓器重量に関し、投与に起因する変化は観察されなかった。
- カニクイザルによる 4 週間反復経口投与試験（試験 ARA 181-G）において、ブデソニド腸溶性徐放顆粒（ブデソニド投与量：0.1、0.33 及び 1 mg/kg/日、各群雌雄各 2 例）を 1 日 1 回、4 週間投与した結果、一般状態、体重、摂餌量、血液学的及び血液生化学的検査、剖検、臓器重量及び病理組織学的検査に関し、投与に起因する変化は観察されなかった。
- カニクイザルによる 26 週間反復経口投与試験（試験 ARA 183）において、ブデソニド腸溶性徐放顆粒（ブデソニド投与量：0.5、2 及び 5 mg/kg/日、各群雌雄各 4 例）を 1 日 1 回、26 週間投与した結果、体重の増加抑制及び減少が 2 及び 5 mg/kg/日群の数例の動物にみられたが、一般状態、摂餌量、血液学的検査、尿検査、眼科的検査での異常は認められなかった。血漿中コルチゾール濃度は、2 及び 5 mg/kg/日群で低下が認められた。また投与期間中、5 mg/kg/日群の雄に血漿中蛋白／グロブリン濃度の上昇、雌で血漿中グルコース濃度の上昇が認められた。剖検において、投与に起因する変化は認められなかったが、5 mg/kg/日群で、肝重量の増加及び副腎重量の減少が認められた。病理組織学的検査では、胸腺の細胞充実性の低下が 5 mg/kg/日群で認められ、副腎皮質萎縮の発現頻度が用量に依存して増加した。観察された所見は、ブデソニドの糖質コルチコイド作用に起因するものであった。消化管における病理組織学的変化は観察されなかった。

表 1　　毒性試験一覧表（ブデソニド腸溶性徐放顆粒の経口投与毒性試験）

試験項目	動物種	投与経路、期間	投 与 量	成　績
単回投与毒性	カニクイザル	経口、単回	1、10 mg/kg	異常なし
反復投与毒性	カニクイザル	経口、4 週間	0.1、0.33、1 mg/kg/日	無毒性量：1 mg/kg/日
	カニクイザル	経口、26 週間	0.5、2、5 mg/kg/日	無毒性量：0.5 mg/kg/日

2.6.6.1.2　　既提出資料のまとめ

パルミコート®タービュヘイラー®及びブデソン®資料概要、第 1 部 1.13.1 項

- 単回投与毒性試験では、体重及び胸腺重量の減少等、糖質コルチコイド作用によると考えられる所見が認められた。
- ラット及びイヌを用いてさまざまな投与経路（経口、皮下及び吸入）により、12 カ月までの反復投与毒性試験を実施した。これらの試験において、主に体重増加抑制、脱毛、リンパ組織及び副腎の萎縮、胃潰瘍形成、白血球及びリンパ球の減少、血漿コルチゾール濃度の低下等、糖質コルチコイドに共通の変化が認められた。
- 遺伝毒性試験では、いずれの試験においてもブデソニドによる遺伝毒性の誘発は認められなかった。
- マウスがん原性試験において、ブデソニドの発がん性は認められなかった。ラットがん原性試験では、雄で星状神経膠腫の発現増加がみられたが、追加試験では観察されなかった。また、肝細胞腫瘍の発現が Sprague Dawley（SD）系雄ラットで増加したが、これは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。
- ラット及びウサギを用いた皮下及び吸入投与による生殖毒性試験では、他の糖質コルチコイドと同様、胎児死亡の増加、胎児体重の減少及び骨格異常等が認められた。
- ブデソニドに抗原性は認められなかった。
- エピマーA（22 S-ブデソニド）、エピマーB（22 R-ブデソニド）、分解物及び代謝物の急性毒性（LD_{50} 値）はブデソニドと同程度か、やや弱かった。

表 2　　毒性試験一覧表（既提出資料）

試験項目	動物種	投与経路、投与期間	投与量	成績
単回投与毒性	マウス	経口、静脈内、腹腔内、皮下、吸入	表 3 参照	表 3 参照
	ラット	経口、静脈内、腹腔内、皮下、吸入		
	イヌ	皮下、吸入		
反復投与毒性	ラット	経口、4 週間	雄 0.05, 0.5, 5, 50 mg/kg/日 雌 0.05, 0.5, 5, 50 mg/kg/日	無毒性量：雄 0.05 mg/kg/日 雌 0.05 mg/kg/日
		皮下、6 カ月間	雄 5, 20, 80 μg/kg/日 0.01, 0.1, 5 μg/kg/日 雌 5, 20, 80 μg/kg/日 0.01, 0.1, 5 μg/kg/日	無毒性量：雄 5 μg/kg/日 雌 5 μg/kg/日
		吸入、13 週間	雄 21, 70, 315 μg/kg/日 雌 37, 139, 540 μg/kg/日	無毒性量：雄 ＜21 μg/kg/日 雌 ＜37 μg/kg/日
		吸入、1 年間	雄 4, 6, 35 μg/kg/日 雌 7, 11, 65 μg/kg/日	無毒性量：雄 ＜4 μg/kg/日 雌 ＜7 μg/kg/日
	イヌ	経口、4 週間	雄 0.01, 0.1, 1 mg/kg/日 雌 0.01, 0.1, 1 mg/kg/日	無毒性量：雄 0.01 mg/kg/日 雌 0.01 mg/kg/日
		吸入、6 週間	雄 17, 52, 180 μg/kg/日 雌 21, 67, 225 μg/kg/日	無毒性量：雄 52 μg/kg/日 雌 67 μg/kg/日
		吸入、6 カ月間	雄 16, 61, 171 μg/kg/日 雌 20, 62, 209 μg/kg/日	無毒性量：雄 16 μg/kg/日 雌 20 μg/kg/日
		吸入、12 カ月間	雄 18, 51, 169 μg/kg/日 雌 18, 62, 227 μg/kg/日	無毒性量：雄 18 μg/kg/日 雌 ＜18 μg/kg/日
遺伝毒性	細菌	復帰突然変異試験	0.5～5000 μg/プレート	
	CHL 細胞	染色体異常試験	10～160 μg/mL	遺伝毒性なし
	マウス	小核試験、腹腔内投与	33～320 mg/mL	
がん原性	マウス	経口（飲水）、91 週	10, 50, 200 μg/kg/日	がん原性なし
	ラット	経口（飲水）、104 週	10, 25, 50 μg/kg/日	肝細胞腫瘍の発生率増加（実施施設の背景値範囲内）
生殖発生毒性 Seg I	ラット	皮下、雄：交配前 9 週間及び交配中、雌：交配前 2 週間～妊娠 7 日	0.8, 4, 20 μg/kg/日	無毒性量： 親動物及び胎児 4 μg/kg/日 交尾能、受胎能 20 μg/kg/日
Seg. II	ラット	皮下、妊娠 7 日～17 日	4, 20, 100 μg/kg/日	無毒性量： 母動物及び胎児 4 μg/kg/日 胎児の催奇形性 100 μg/kg/日
		吸入、妊娠 6 日～15 日	24, 64, 340 μg/kg/日	無毒性量： 母動物 ＜24 μg/kg/日 胎児 64 μg/kg/日
	ウサギ	皮下、妊娠 6 日～18 日	5, 25, 125 μg/kg/日 0.2, 1, 5 μg/kg/日	無毒性量： 母動物及び胎児 5 μg/kg/日

試験項目	動物種	投与経路、投与期間	投与量	成績
Seg.Ⅲ	ラット	皮下、妊娠 17 日～ 分娩後 21 日	0.8, 4, 20 μg/kg/日	無毒性量： 母動物 0.8 μg/kg/日 出生児 4 μg/kg/日
抗原性	モルモット	Maximization test 全身性アナフィラキシー PCA 反応	500 mg/匹 ― ―	抗原性なし
エピマーの急性毒性	マウス	皮下単回投与	エピマーA：17～280 mg/kg, LD_{50} 値：約 250 mg/kg エピマーB： 4～64 mg/kg, LD_{50} 値：32～64 mg/kg	

CHL：チャイニーズハムスター肺線維芽細胞、PCA：受身皮膚アナフィラキシー

2.6.6.2 単回投与毒性試験

2.6.6.2.1 ブデソニド腸溶性徐放顆粒のカニクイザルを用いた単回経口投与試験

試験 ARA 182、4.2.3.1.1 項

カニクイザル（雄 8 例）を用いてブデソニドの単回投与毒性を検討するため、ブデソニド腸溶性徐放顆粒の 1 及び 10 mg/kg、比較対照として微細化ブデソニドの 1 及び 10 mg/kg をそれぞれ単回経口投与した。7 日の投与間隔（週 1 回投与）により、すべての動物に逐次投与した結果、一般状態、体重、摂餌量、血液学的検査［ヘマトクリット値（Ht）、ヘモグロビン量（Hb）及び赤血球数（RBC）］並びに剖検及び臓器重量に、投与に起因する変化は認められなかった。なお、カニクイザルでの薬物動態を検討するために、経口投与に先立ち 0.025 mg/kg を単回静脈内投与した。

2.6.6.2.2 マウス、ラット及びイヌを用いた既提出の単回投与試験

パルミコート®タービュヘイラー®及びブデソン®資料概要、第 1 部 1.13.1 項

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、自発運動低下、体重減少、胸腺、脾臓及び副腎の萎縮等が観察された。経口投与での毒性はきわめて低いものであった。また、イヌでの皮下投与による単回投与毒性はラット及びマウスと比べ著しい差はなく、他の糖質コルチコイドでも同様に認められる変化であった（表3参照）。

表 3　　マウス、ラット及びイヌにおける単回投与毒性試験

動物種 系統 週齢	投与 経路	投与量 (mg/kg)	性	例数	成績 概略致死量 (mg/kg)	成績 特記所見
マウス ICR 6 週齢	経口	100～ 10000	雄 雌	10 10	320 1000	一般状態の変化： （腹腔内・皮下・経口）痩化、体重減少
	静脈内	32～320	雄 雌	10 10	130 56	（静脈内）伏臥位、自発運動低下，体重減少 剖検・病理組織学的検査：
	腹腔内	10～1000	雄 雌	10 10	100 320	（生存例及び死亡例）胸腺消失、脾臓濾胞萎縮、胃粘膜出血及び潰瘍、腹膜炎、胸膜炎，皮下膿瘍形成、心臓・肝臓・腎臓での細菌コロニーを伴った壊死巣あるいは腎盂炎、筋組織壊死
	皮下	18～320	雄 雌	10 10	32 32	
マウス CD-1 7 週齢	吸入	100	雄 雌	5 5	100 >100	一般状態の変化：体重減少、立毛 剖検・病理組織学的検査： （生存例）胸腺重量低下、副腎重量低下（雌） （死亡例）巣状心筋炎、腎炎、細菌コロニーの発生
ラット SD 6 週齢	経口	32～3200	雄 雌	10 10	>3200 3200	一般状態の変化： （腹腔内・皮下・経口）痩化、体重減少
	静脈内	10～320	雄 雌	10 10	56 100	（静脈内）伏臥位、自発運動低下、体重減少
	腹腔内	10～1800 10～1000	雄 雌	10 10	100 100	剖検・病理組織学的検査 （生存例及び死亡例）：胸腺退縮又は消失、脾臓濾胞及び副腎皮質萎縮、腺胃潰瘍、腹膜炎、肝臓・脾臓での細菌コロニーを伴った壊死巣、腎盂炎
	皮下	10～320	雄 雌	10 10	32 56	
ラット Wistar 9 週齢	吸入	68	雄 雌	5 5	>68	一般状態の変化：自発運動低下、体重減少、痩化(雌) 剖検、生存例：肝臓の相対重量増加、胸腺重量低下
イヌ ビーグル 9～11 カ月齢	皮下	100～ 1000	雄 ／ 雌	3	100	一般状態：投与部位の硬結及び隆起、投与部位以外の四肢・腰部・腹部等の腫脹・隆起、皮膚の穿孔、痩化、自発運動低下（死亡例）、体重減少、摂餌量低下 剖検・病理組織学的検査： （生存例）脾臓のリンパ濾胞萎縮、胸腺退縮、肝臓肥大、肝細胞腫大淡明化、副腎束状層細胞の粗大空胞化 （死亡例）心臓・脾臓・肺・肝臓・腎臓等の細胞コロニー発生
イヌ ビーグル 9～11.5 カ月齢	吸入	1	雄 雌	2 2	>1	一般状態：特記所見なし 血液学的検査：白血球数・好中球・単球増加，リンパ球・好酸球減少 病理組織学的検査：胸腺退縮（雌１例）

2.6.6.3 反復投与毒性試験

2.6.6.3.1 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

2.6.6.3.1.1 カニクイザルを用いた 4 週間反復経口投与試験

試験 ARA 181-G、4.2.3.2.1 項

本試験は、ブデソニド腸溶性徐放顆粒をカニクイザルに 4 週間経口投与したときの全身及び局所への毒性を検討するため実施した。

カニクイザルにブデソニド腸溶性徐放顆粒（ブデソニド投与量：0.1、0.33 及び 1 mg/kg/日、各群雌雄各 2 例）をカプセルに充填し、1 日 1 回、4 週間経口投与した。これらの用量は、ブデソニドに関してこれまでに得られている毒性試験結果に基づいて設定した。対照群にはプラセボ顆粒を含むカプセルを投与した。

その結果、一般状態、体重、摂餌量、血液学的及び血液生化学的検査（血中コルチゾール濃度を含む）、剖検、臓器重量及び病理組織学的検査において、いずれの投与群にも投与に起因する変化は観察されなかった。

以上の結果から、本試験における無毒性量は 1 mg/kg/日と考えられた。

2.6.6.3.1.2 カニクイザルを用いた 26 週間反復経口投与試験

試験 ARA 183、4.2.3.2.2 項

本試験は、ブデソニド腸溶性徐放顆粒をカニクイザルに 26 週間経口投与したときの毒性について検討するために実施した。

カニクイザルにブデソニド腸溶性徐放顆粒（ブデソニド投与量：0.5、2 及び 5 mg/kg/日）をカプセルに充填し、1 日 1 回、26 週間反復経口投与した（各群雌雄各 4 例）。対照群にはプラセボ顆粒を含むカプセルを投与した。

ブデソニド投与に起因する死亡は認められなかった。対照群の雄 1 例で投与過誤による死亡が認められた。一般状態の変化はいずれの投与群にも認められなかった。体重の増加抑制及び減少が 2 及び 5 mg/kg/日群の数例の動物において認められたが、0.5 mg/kg/日群での体重への影響は認められなかった。摂餌量、眼科的検査、血液学的検査及び尿検査では、いずれの投与群にも投与による影響は認められなかった。血液生化学的検査では、投与 6 及び 26 週に 2 及び 5 mg/kg/日群において、投与 13 週には 0.5 mg/kg/日群を含む全投薬群で血漿中コルチゾール濃度の低下が認められた。0.5 mg/kg/日群での血漿中コルチゾールの個別値は、ばらつきが大きく、対照群の個別値のばらつきと類似していたことから、投与の影響とはみなさなかった。また投与期間中、5 mg/kg/日群の雄に血漿中蛋白／グロブリン濃度の上昇、雌で血漿中グルコース濃度の上昇が認められた。

剖検及び骨髄検査において、投与に起因する変化は認められなかった。肝重量の増加及び副腎重量の減少が 5 mg/kg/日群に認められた。病理組織学的検査では、胸腺の細胞充実性の低下が 5 mg/kg/日群の雄 2 例で認められ、また、副腎皮質萎縮の発現頻度が用量に依存して増加した。

観察された所見は、ブデソニドの糖質コルチコイド作用に起因するものであった。病理組織学的検査における消化管の変化は観察されなかった。

以上の結果から、本試験における無毒性量は 0.5 mg/kg/日と考えられた。

2.6.6.3.1.3 カニクイザルを用いた反復経口投与試験における曝露のまとめ

サルを用いた反復経口投与試験における血漿中濃度測定の結果から、ブデソニド腸溶性徐放顆粒投与での全身曝露が確認され、投与量の増加に伴う最高血漿中濃度（C_{max}）及び血漿中濃度－時間曲線下面積（AUC）の増大が認められた（表 4参照）。

表 4　サル反復経口投与試験におけるブデソニド曝露量

動物種	投与期間	投与量 (mg/kg/日)	C_{max} (nmol/L)		AUC_{0-t} (nmol x h/L)		無毒性量 (mg/kg/日)
			投与 1 日	投与 28 日	投与 1 日	投与 28 日	
サル	4 週間	0.1	0.23	0.18	0.80	0.69	1.0
		0.33	0.71	0.91	2.89	3.44	
		1	2.34	1.36	9.10	8.02	
			4 週*	26 週*	4 週*	26 週*	
サル	26 週間	0.5	雄： 0.72	1.15	-	-	0.5
			雌： 1.01	0.97	-	-	
		2	雄： 2.68	4.19	-	-	
			雌： 3.76	4.53	-	-	
		5	雄： 7.16	9.42	-	-	
			雌： 5.11	7.69			

AUC_{0-t} （時間 0 から時間 t までの血漿中濃度－時間曲線下面積）：0.1 mg/kg/日群では $AUC_{0-5.5}$、0.33 及び 1.0 mg/kg/日群では AUC_{0-8}
*：26 週間投与試験では投与 3 時間後に測定、-：算出できず

2.6.6.3.2 ラット及びイヌを用いた既提出の反復投与試験

2.6.6.3.2.1 ラットを用いた 1 カ月間反復経口投与試験

ブデソン®資料概要、第 1 部 1.13.1 項

ラットにブデソニドを 1 カ月間経口投与（0.05、0.5、5 及び 50 mg/kg/日、トリアムシノロンアセトニド（TA）5 mg/kg/日、各群雌雄各 6 例）したとき、5 mg/kg/日群で 3 例、50 mg/kg/日群で 12 例、TA 群では 10 例が死亡した。5 及び 50 mg/kg/日群並びに TA 群では著明な痩化、粘膜の貧血並びに体重増加量及び摂餌量の著明な減少がみられた。0.05 mg/kg/日以上の投与によりリンパ球数減少に伴う白血球数減少、TA 群では、Ht、Hb 及び RBC の減少、5 mg/kg/日群の雌 2 例及び

TA 群でアラニンアミノトランスフェラーゼ（ALT）活性の上昇、TA 群で尿素濃度の増加とカリウムの減少がみられた。血漿中コルチゾール値は、5 mg/kg/日群及び TA 群で低下がみられた。

臓器重量では、ブデソニド投与群で脾臓及び胸腺重量の減少がみられた。剖検ではいずれの投与群にも副腎及びリンパ系器官の萎縮、5 mg/kg/日群及び TA 群で胃潰瘍及び腸管出血が観察され、腎臓及び肝臓の敗血性変化を示す例もみられた。TA 群での胃障害は、ブデソニド 5 mg/kg/日群よりも著明であった。

病理組織学的検査では、いずれの投与群にも胸腺退縮がみられ、0.5 及び 5 mg/kg/日群並びに TA 群で副腎萎縮及び脾臓リンパ系細胞の充実性低下、5 mg/kg/日群及び TA 群で胃粘膜潰瘍、肝臓の脂肪沈着増加、リンパ節リンパ系細胞の充実性低下、子宮内膜の軽微な増生、0.5 及び 5 mg/kg/日群の雌では乳腺の乳管増生と分泌活性増加、TA 群で骨髄細胞の充実性低下、精嚢コロイド含量の減少が認められた。

2.6.6.3.2.2 イヌを用いた 1 カ月間反復経口投与試験

ブデソン®資料概要、第 1 部 1.13.1 項

ブデソニドをイヌに 1 カ月間経口投与（0.01、0.1 及び 1 mg/kg/日、プロピオン酸ベクロメタゾンエステル（BDP）1 mg/kg/日、各群雌雄各 1 例）したとき、1 mg/kg/日群及び BDP 群で腹部緊張が時折みられたものの、一般状態、体重、摂餌量、心拍数、心電図及び眼科的検査での投与による影響は認められなかった。血液及び血液生化学的検査では、1 mg/kg/日群及び BDP 群で Ht の減少及び未熟な好中球の増加、1 mg/kg/日群でアルカリホスファターゼ（ALP）、ALT の増加、0.1 及び 1 mg/kg/日群並びに BDP 群において血漿中コルチゾール値の低下がみられた。

臓器重量では、0.1 及び 1 mg/kg/日群並びに BDP 群で肝臓重量の増加、副腎重量の減少、1 mg/kg/日群及び BDP 群で脾臓重量の減少がみられた。

病理学的検査において典型的なステロイド作用が観察され、1 mg/kg/日群では副腎及びリンパ系器官の萎縮、心筋の脂肪含量及び肝臓のグリコーゲン量の増加も軽度ながらみられた。BDP 群にも同様の変化が認められた。0.1 mg/kg/日群において副腎及び胸腺の萎縮がみられたが、0.01 mg/kg/日群では異常はみられなかった。消化管での毒性所見は認められなかった。

2.6.6.3.2.3 ラットを用いた 26 週間反復皮下投与試験

ブデソン®資料概要、第 1 部 1.13.1 項

ラットによるブデソニド（5、20 及び 80 µg/kg/日、各群雌雄各 15 例）の 26 週間皮下投与試験では、投与量に相関した体重増加抑制が 5 µg/kg/日群の雄並びに 20 及び 80 µg/kg/日群の雌雄に認められたほか、20 µg/kg/日群の雄及び 80 µg/kg/日群の雌雄で摂餌量が減少した。血液学的検査では、20 及び 80 µg/kg/日の投与により Ht、Hb 及び RBC の増加並びにリンパ球数の減少による白血球数の減少がみられた。

臓器重量では、副腎重量が 5 µg/kg/日群以上の雌で減少し、胸腺重量が 80 µg/kg/日群の雌で減少した。病理組織学的検査では、80 µg/kg/日群の雌で肝細胞の微小空胞化、胸腺リンパ球の減少、80 µg/kg/日群の雌雄で乳腺腺房の増生、20 及び 80 µg/kg/日群の雌雄で浅頚リンパ節のリンパ球減少及び雌で腸間膜リンパ節のリンパ球減少と子宮管腔の拡張がみられた。追加試験（0.01、0.1 及び 5 µg/kg/日）では、5 µg/kg/日までの投与による体重、臓器重量への影響は認められなかった。

以上の結果から、無毒性量は 5 µg/kg/日と考えられた。

2.6.6.3.2.4 ラット及びイヌを用いた反復吸入投与試験

パルミコート®タービュヘイラー®資料概要、第 1 部 1.13.1 項

ラットの 13 週間及び 1 年間吸入投与試験では、主な所見として、体重増加抑制、白血球系への影響（リンパ球減少を伴う白血球減少及び好中球増加）、尿素及び ALT の上昇、胸腺、脾臓及び副腎の重量低下、胸腺、リンパ節及び脾臓におけるリンパ球減少、副腎皮質萎縮並びに乳腺腺房発達が認められ、更に 1 年間吸入試験では、鼻部皮膚の萎縮性変化が認められた。これらの変化は、いずれも本薬の薬理作用（糖質コルチコイド作用）に関連した所見と考えられる。また、眼球突出及び曝露局所鼻部の脱毛がみられたが、これらは吸入操作と、糖質コルチコイドとしてのブデソニドの局所作用により生じたものと考えられた。呼吸機能、血液ガス及び酸・塩基平衡の検査では、異常は認められなかった。また、気道粘膜線毛細胞の運動性の検査では、気道粘液産生のわずかな増加を除き影響は認められず、ブデソニドの気道粘膜への直接的な影響は問題ないと判断された。

イヌの 6 週間、6 カ月間及び 12 カ月間の吸入投与試験では、主な所見として、胸腺及び副腎重量の低下と胸腺退縮、リンパ節及び副腎皮質の萎縮が共通して認められた。また、6 カ月間及び 12 カ月間の吸入投与試験では血漿中コルチゾール値の低下、白血球系への影響（白血球及びリンパ球の減少）、12 カ月間の試験では、肥満及び脱毛、ALP の上昇、白脾髄萎縮、皮下及び腹腔内脂肪織、肝臓グリコーゲンの増加，黄体欠損が認められた。以上の所見はいずれも本薬の糖質コルチコイド作用が発現したものと考えられた。呼吸器系に対する薬物の影響を特に詳細に検査したが、機能的にも形態学的にも本薬に起因した変化は認められなかった。

2.6.6.4 遺伝毒性試験

ブデソン®資料概要、第 1 部 1.13.1 項

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。

2.6.6.5 がん原性試験

パルミコート®タービュヘイラー®資料概要、第 1 部 1.13.1 項

2.6.6.5.1 マウスがん原性

CD-1 系マウスに 10、50 及び 200 µg/kg/日を 91 週間経口投与した試験では、腫瘍発生の増加は認められなかった。

2.6.6.5.2 ラットがん原性

SD 系ラットでの 104 週間（10、25 及び 50 µg/kg/日）経口投与試験において、脳における星状神経膠腫の発生率の増加が雄（50 µg/kg/日）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 104 週間の経口投与追加試験では、星状神経膠腫の発生率の増加は認められなかっ

た。また、肝細胞腫瘍の発生率の増加が SD 系ラットの雄（25 及び 50 μg/kg/日）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。

2.6.6.6 生殖発生毒性試験

パルミコート®タービュヘイラー®資料概要、第 1 部 1.13.1 項

2.6.6.6.1 皮下投与による生殖発生毒性試験

皮下投与によるラットの妊娠前及び妊娠初期投与試験（0.8、4 及び 20 μg/kg/日）では、20 μg/kg/日群で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。

ラットの皮下投与による胎児の器官形成期投与試験（4、20 及び 100 μg/kg/日）では、20 μg/kg/日以上の群で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。

ウサギの皮下投与による胎児の器官形成期投与試験（5、25 及び 125 μg/kg/日並びに 0.2、1 及び 5 μg/kg/日）では、25 μg/kg/日以上の群で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。

ラットの皮下投与による周産期及び授乳期投与試験（0.8、4 及び 20 μg/kg/日）では、4 μg/kg/日以上の群で母動物の摂餌量の減少、体重増加抑制、20 μg/kg/日群で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。

2.6.6.6.2 吸入投与によるラット胎児の器官形成期投与試験

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（24、64 及び 340 μg/kg/日）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（340 μg/kg/日）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。無毒性量は母動物で 24 μg/kg/日未満、胎児で 64 μg/kg/日であった。

2.6.6.7 局所刺激性試験

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（2.6.6.3.1.1項及び2.6.6.3.1.2項参照）において、ブデソニド腸溶性徐放顆粒による消化管への影響は観察されなかった。

2.6.6.8 その他の毒性試験

2.6.6.8.1 抗原性

パルミコート®タービュヘイラー®資料概要、第 1 部 1.13.1 項

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（PCA）反応では、ブデソニドに抗原性は認められなかった。

2.6.6.8.2 エピマーA、B 及び分解物・代謝物の急性毒性

パルミコート®タービュヘイラー®資料概要、第 1 部 1.13.1 項

エピマーA（22 S-ブデソニド）の LD_{50} 値（マウス皮下投与）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。代謝物（16-α ヒドロキシプレドニゾロン）の急性毒性はブデソニドより弱く、分解物（強制劣化物）の急性毒性はブデソニドよりやや弱かった。

2.6.6.8.3 不純物の毒性試験

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。

2.6.6.9 考察及び結論

D9421-C を経口投与したときの安全性を検討するため、カニクイザルを用いたブデソニド腸溶性徐放顆粒の単回投与試験、4 週間及び 26 週間反復投与試験を実施した。その結果、単回投与試験、4 週間投与試験では投与による影響は認められなかった。26 週間投与試験において 5 mg/kg/日の投与により、体重増加抑制及び減少、血漿中コルチゾール濃度の低下、血漿中蛋白／グロブリン濃度及び血漿中グルコース濃度の上昇、肝重量の増加及び副腎重量の減少、胸腺の細胞充実性の低下、副腎皮質萎縮の発現頻度増加等の所見が認められた。これらの所見は、これまでに実施したラット及びイヌを用いた反復投与試験において既に認められており、糖質コルチコイド投与で予測された所見であることから、ブデソニドの糖質コルチコイド作用に起因するものと考えられた。カニクイザルの消化管における病理組織学的な変化は、5 mg/kg/日のブデソニド腸溶性徐放顆粒を 26 週間投与したときにも観察されなかった。

ブデソニドの毒性を検討するため、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、生殖発生毒性試験が実施されており、これら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。

2.6.6.10　　図表

図表は本文中の適切な場所に示した。

2.6.6.11　　参考文献

該当なし

2.6.7　毒性試験概要表
ゼンタコート®カプセル 3mg

目次　　頁

	目次	2
2.6.7.1	毒性試験：一覧表	3
2.6.7.2	トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験の一覧表	4
2.6.7.3	トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧	5
2.6.7.4	毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧	6
2.6.7.5	単回投与毒性試験	7
2.6.7.5.1	サル単回投与試験	7
2.6.7.6	反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験	8
2.6.7.7	反復投与毒性試験：重要な試験	8
2.6.7.7.1	サル 4 週間経口投与試験	8
2.6.7.7.2	サル 26 週間経口投与試験	10
2.6.7.8	*In Vitro* 遺伝毒性試験	12
2.6.7.9	*In Vivo* 遺伝毒性試験	12
2.6.7.10	がん原性試験	13
2.6.7.11	生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験	13
2.6.7.12	生殖発生毒性試験：受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験	13
2.6.7.13	生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験	13
2.6.7.14	生殖発生毒性試験：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	13
2.6.7.15	新生児を用いた試験	13
2.6.7.16	局所刺激性試験	14
2.6.7.17	その他の毒性試験	14

2.6.7.1　毒性試験：一覧表

Type of study	Species and strain	Method of administration	Duration of dosing	Doses (mg/kg) [a]	GLP compliance	Testing Facility	Study number	Location
2.6.7.5								
Single-dose toxicity	Monkey, Cynomolgus	Oral, Intravenous	-	1, 10 0.025	Yes	[redacted] [b]	ARA 182 (T2740)	4.2.3.1.1
2.6.7.7								
Repeat-dose toxicity	Monkey, Cynomolgus	Oral	4 weeks	0, 0.1, 0.33, <u>1</u> mg/kg/day	Yes	[redacted] [b]	ARA 181-G (T2507)	4.2.3.2.1
	Monkey, Cynomolgus	Oral	26 weeks	0, <u>0.5</u>, 2, 5 mg/kg/day	Yes	[redacted] [b]	ARA 183 (T2760)	4.2.3.2.2

a: For repeat-dose toxicity, the highest NOAEL (No Observed Adverse-Effect Level) is underlined.
b: [redacted]

2.6.7.2　トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験の一覧表

被験物質：ブデソニド

Type of study	Test system	Method of administration	Doses (mg/kg)	GLP compliance	Study number	Location
Single dose toxicity study	Cynomolgus monkey	Oral	1.0, 10	Yes	ARA 182	4.2.3.1.1
4-week toxicity study	Cynomolgus monkey	Oral	0.1, 0.33, 1.0	Yes	ARA 181-G	4.2.3.2.1
26-week toxicity study	Cynomolgus monkey	Oral	0.5, 2.0, 5.0	Yes	ARA 183	4.2.3.2.2

2.6.7.3　トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧

被験物質：ブデソニド

Daily dose (mg/kg)	Cynomolgus monkey [a]		Human
	AUC (nmol x h/L)		AUC (nmol x h/L)
	Male + Female		-
	Day 1	Day 28	
0.1	0.80	0.69	-
0.15 [b]	-	-	25.1
0.33	2.89	3.44	-
1.0	9.10	8.02	-

a: 4-week oral study,(Location: 4.2.3.2.1)
b: Dose was expressed as 60 kg body weight at dosing 9 mg of Budesonide CIR (Controlled ILeal Release) to the Japanese healthy volunteer (clinical study number; D9421C00001 and D9421C00006).

2.6.7.4　毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧

被験物質：ブデソニド

Batch number	Type of material	Total amount of impurities (%)	Specified impurities (%)				Study number	Location	Type of study
			21-DHB[1)]	17-carboxylic acid of budesonide	D-homo[2)]	14,15-DHB[3)]			
DRC1	G	0.12	0.05	<0.05	0.07	<0.05	ARA 182	4.2.3.1.1	Single dose study in monkeys
							ARA 181-G	4.2.3.2.1	4 week study in monkeys
DSE11	G	0.38	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	ARA 183	4.2.3.2.2	26 week study in monkeys
252-1	B	0.5	NC	NC	NC	NC	ARA 182	4.2.3.1.1	Single dose study in monkeys
DRD9	Inj	0.78	0.05	NC	0.32	NC	ARA 182	4.2.3.1.1	Single dose study in monkeys

1): 21-dehydrobudesonide
2): D-homobudesonide
3): 14,15-dehydrobudesonide
NC: No information
G: Budesonide modified-release granules,
B: Budesonide drug substance (micronised),
Inj: Budesonide solution for injection, 25 μg/mL,

2.6.7.5　単回投与毒性試験

2.6.7.5.1　サル単回投与試験

被験物質：ブデソニド

Species/ strain	Method of administration (vehicle/formulation)	Doses (mg/kg)	Gender and number per group	Maximum non-lethal dose (mg/kg)	Noteworthy findings	Study number
Monkey / cynomolgus	Oral (Plain or CIR in Gelatine capsules) Intravenous (reference) (0.025 mg/mL Budesonide in 10% ethanol and physiological saline)	Oral 1, 10 (Plain and CIR) Intravenous 0.025	8 males [a]	10 (Plain and CIR)	No findings in clinical signs, body weights, food consumptions, haematological examinations (Ht, Hb, RBC), organ weights and macroscopic pathology.	ARA 182 (T2740)

CIR: Controlled Ileal Release, granules containing 0.94 % Budesonid, Plain: micronised Budesonide,
a: The animals received a series of single doses of the test material with 7 days between doses.

2.6.7.6　反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験

該当する試験なし

2.6.7.7　反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7.1　サル 4 週間経口投与試験

被験物質：ブデソニド

Report Title: Budesonide CIR: Preliminary Oral Toxicity Study in Cynomolgus Monkeys (Repeated Dosage for 4 weeks)

Species/strain: Monkey / Cynomolgus
Initial age: 18-36 months old
Date of first dose: [redacted] 19[redacted]
Duration of dosing: 4 weeks
Duration of postdose: -
Method of administration: Oral, by gelatine capsule
Vehicle/formulation: Gelatine capsule
Study number: ARA 181-G (T2507)
Location in CTD: 4.2.3.2.1
GLP compliance: Yes

Special features: The test material was provided as granules containing 0.94% Budesonide (i.e. 9.4 mg/g). Therefore, 0.1, 0.33 and 1.0 mg/kg/day of Budesonide were administered as amount of formulation, 10.6, 35.1 and 106.4 mg/kg/day.
Vehicle control group was administered the capsules containing placebo formulation, the amount (and number of capsules) being the same as for the high dose animals.
No Observed Adverse-Effect Level: 1 mg/kg/day
Conclusion: No treatment-related changes were observed in any groups.

2.6.7.7.1　サル 4 週間経口投与試験

試験番号：ARA 181-G（続き）

Daily dose, mg/kg/day		Vehicle control		0.1		0.33		1.0	
Number of animals		M:2	F:2	M:2	F:2	M:2	F:2	M:2	F:2
Toxicokinetics									
C_{max} (nmol/L):	Day 1	/		0.23		0.71		2.34	
	Day 28	/		0.18		0.91		1.36	
AUC_{0-t} (nmol·h/L):	Day 1	/		0.80		2.89		9.10	
	Day 28	/		0.69		3.44		8.02	
Noteworthy Findings		0	0	0	0	0	0	0	0
Died or Sacrificed Moribund		0	0	0	0	0	0	0	0
Clinical signs		-	-	-	-	-	-	-	-
Body weight		-	-	-	-	-	-	-	-
Food consumption		-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology		-	-	-	-	-	-	-	-
Blood chemistry		-	-	-	-	-	-	-	-
Bone marrow examination		-	-	-	-	-	-	-	-
Organ weight		-	-	-	-	-	-	-	-
Macroscopic pathology		-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology		-	-	-	-	-	-	-	-

AUC_{0-t}: $AUC_{0-5.5}$ for 0.1 mg/kg dose, AUC_{0-8} for 0.33 and 1.0 mg/kg doses.
-: No noteworthy findings,　/: no examination

2.6.7.7.2　　サル 26 週間経口投与試験

被験物質：ブデソニド

Report Title: Budesonide CIR: Toxicity to Cynomolgus Monkeys by Repeated Oral Administration for 26 Weeks (Final Report)

Species/strain: Monkey, cynomolgus
Initial age: 18-39 months old
Date of first dose: [redacted] 19[redacted]
Duration of dosing: 26 weeks
Duration of postdose: -
Method of administration: Oral
Vehicle/formulation: Gelatine capsule
Study number: ARA 183 (T2760)
Location in CTD: 4.2.3.2.2
GLP compliance: Yes

Special features: The test material was provided as granules containing 0.883% Budesonide (i.e. 8.83 mg/g). Therefore, 0.5, 2 and 5 mg/kg/day of Budesonide were administered as amount of formulation, 56.6, 226.5 and 566.3 mg/kg/day.
Vehicle control group was administered the capsules containing placebo formulation, the amount (and number of capsules) being the same as for the high dose animals.

No Observed Adverse-Effect Level: 0.5 mg/kg/day

Conclusion:
There were no findings which could not be attributed to the pharmacological action of budesonide. In particular, it should be noted that no effects were observed in the gastrointestinal tract.

2.6.7.7.2　サル 26 週間経口投与試験

試験番号：ARA 183（続き）

Daily dose, mg/kg/day	Control		0.5		2		5	
Number of animals	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4
Toxicokinetics[a]								
C_{max} (nmol/L) Day 1	n.b.t	n.b.t	0.99	0.90	3.01	3.98	8.80	6.61
Week 4	<0.10[b]	<0.10[b]	0.72	1.01	2.68	3.76	7.16	5.11
Week 13	<0.10[b]	<0.10[b]	0.98	0.66	3.30	4.25	11.5	5.48
Week 26	<0.10[b, c]	<0.10[b, c]	1.15	0.97	4.19	4.53	9.42	7.69
Noteworthy Findings								
Died or Sacrificed Moribund	1[d]	0	0	0	0	0	0	0
Clinical signs (number of animals)	-	-	-	-	-	-	-	-
Body weight (%, week 26)	2.84 kg	2.71 kg	-4	-6	-9	-5	-7	-8
Food consumption	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmology	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology	-	-	-	-	-	-	-	-
Blood chemistry								
Cortisol (µg/dL) (week 26)	43.7	37.3	38.8	37.8	30.5	30.0	24.8	25.3
Glucose (mg/dL) (week 26)	74	72	77	76	76	67	83	89*
Urine	-	-	-	-	-	-	-	-
Bone marrow examination	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ weight (%)								
Liver[e]	54.0 g	56.7 g	+20	-0.4	+14	+0.4	+20*	+8
Liver	57.2 g	60.1 g	+16	-8	+4	-7	+11	+0.2
Adrenals	0.51 g	0.42 g	-16	-24	-31	-12	-33	-26

2.6.7.7.2　サル 26 週間経口投与試験

試験番号：ARA 183（続き）

Daily dose, mg/kg/day	Control		0.5		2		5	
Number of animals	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4
Spleen	8.5 g	6.9 g	-16	-7	-19	-3	-27*	+4
Thymus	9.2 g	4.5 g	-3	+51	-18	+51	-43*	+20
Macroscopic pathology	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology								
Thymus – reduced cellularity (minimal)	0	0	0	0	0	0	2	0
Adrenals – reduced cortical width (minimal)	0	0	0	1	2	2	2	3

n.b.t : no blood taken, -: No noteworthy findings,　*: p<0.05, **: p<0.01 (Student's t-test)
a: 3 hours after administration, plasma from 4 individuals were pooled, b: below lower limit of quantification, c: plasma from 3 individuals were pooled,
d: Related to doing error,　e: Adjusted mean

2.6.7.8　*In Vitro* 遺伝毒性試験

該当する試験なし

2.6.7.9　*In Vivo* 遺伝毒性試験

該当する試験なし

2.6.7.10　がん原性試験

該当する試験なし

2.6.7.11　生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験

該当する試験なし

2.6.7.12　生殖発生毒性試験：受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

該当する試験なし

2.6.7.13　生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験

該当する試験なし

2.6.7.14　生殖発生毒性試験：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

該当する試験なし

2.6.7.15　新生児を用いた試験

該当する試験なし

2.6.7.16　局所刺激性試験

該当する試験なし

2.6.7.17　その他の毒性試験

該当する試験なし