目次

2.6.6 毒性試験の概要文---------- 3
2.6.6.1 まとめ---------- 3
2.6.6.2 単回投与毒性試験 ---------- 3
2.6.6.3 反復投与毒性試験 ---------- 3
2.6.6.4 遺伝毒性試験 ---------- 3
2.6.6.5 がん原性試験 ---------- 4
2.6.6.6 生殖発生毒性試験 ---------- 4
2.6.6.7 局所刺激性試験 ---------- 4
2.6.6.7.1 ラットにおける口腔粘膜刺激性試験 ---------- 4
2.6.6.7.2 イヌにおける歯肉一次刺激性試験---------- 4
2.6.6.8 その他の毒性試験 ---------- 5
2.6.6.9 考察及び結論 ---------- 5

用語及び略語一覧

用語及び略語	内容
bFGF	basic Fibroblast growth factor：塩基性線維芽細胞成長因子
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に関する省令
HPC	Hydroxypropylcellulose：ヒドロキシプロピルセルロース
ICH	International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use：日米 EU 医薬品規制調和国際会議
KCB-1	遺伝子組換えヒト bFGF［一般的名称：トラフェルミン（遺伝子組換え）］
KCB-1 HPC 製剤	KCB-1（凍結乾燥品）を [redacted]%HPC 液で溶解した製剤

2.6.6 毒性試験の概要文

2.6.6.1 まとめ

1. 毒性試験プログラム

本剤の有効成分である KCB-1 の毒性試験（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、局所刺激性試験、抗原性試験、発熱性物質試験）は、フィブラスト®スプレーの開発時に実施され、それらの試験成績は承認時（2001 年 4 月 4 日承認）及び再審査時（2010 年 6 月 29 日再審査結果通知）に審査されている（資料番号 1.13.1）。なお、フィブラスト®スプレーの審査時に提示した試験成績を要約して「2.4.4 毒性試験」の項に記載した。

歯周組織欠損部投与を臨床適用経路とする本剤を開発するにあたり、投与部位である口腔内組織に対する局所刺激性を明らかにする必要があると判断し、ラットにおける口腔粘膜刺激性試験及びイヌにおける歯肉一次刺激性試験を新たに実施した。毒性試験の一覧を表 2.6.6-1 に示す。これらの毒性試験は ICH ガイドラインに従い、GLP を遵守して実施した。

表 2.6.6-1 毒性試験プログラム

試験の種類	投与経路、期間	動物種	被験物質	GLP	資料番号
局所刺激性試験					
口腔粘膜刺激性試験	口腔内、2 週間	ラット	KCB-1 HPC 製剤	適	4.2.3.6-1
歯肉一次刺激性試験	歯槽粘膜下あるいは歯槽骨欠損部、単回	イヌ	KCB-1 HPC 製剤	適	4.2.3.6-2

2. KCB-1 HPC 製剤の局所刺激性試験のまとめ

KCB-1 HPC 製剤の口腔及び食道の粘膜に対する影響を調べるため、KCB-1 HPC 製剤をラットに 2 週間反復口腔内投与した。その結果、投与部位に毒性を示唆する変化は認められなかった。

また、KCB-1 HPC 製剤の臨床適用局所に対する一次刺激性を調べるために、KCB-1 HPC 製剤をイヌの歯槽粘膜下あるいは歯槽骨欠損部に単回投与した。歯槽粘膜下投与では骨膜の骨芽細胞様細胞の増生、粘膜固有層の血管新生、線維芽細胞様細胞の遊走及び小円形細胞浸潤が認められた。また、歯槽骨欠損部投与では歯槽骨の線維芽細胞様細胞の増生、間葉系細胞増生、海綿状骨形成及び骨芽細胞様細胞の増生が認められた。これらの病理組織学的変化は KCB-1 の薬理作用に起因した変化と考えられた。

2.6.6.2 単回投与毒性試験

該当資料なし

2.6.6.3 反復投与毒性試験

該当資料なし

2.6.6.4 遺伝毒性試験

該当資料なし

2.6.6.5 がん原性試験

該当資料なし

2.6.6.6 生殖発生毒性試験

該当資料なし

2.6.6.7 局所刺激性試験

本剤は、歯周炎患者の歯肉剥離掻爬術施行時に、歯周組織欠損部に適量を投与する。投与時に口腔へ漏出した場合の口腔内や食道の粘膜に対する影響を評価するために、ラット口腔粘膜刺激性試験を実施した。また、歯肉等の歯周囲組織における局所刺激性を評価するため、イヌ歯肉一次刺激性試験を実施した。

2.6.6.7.1 ラットにおける口腔粘膜刺激性試験

資料番号 4.2.3.6-1

<試験方法>

5 週齢の SD 系雌雄ラットを、対照 HPC 製剤群及び 0.3% KCB-1 HPC 製剤投与群（1.5 mg/kg）の 2 群に配分した（各群雌雄各 10 匹）。投与容量は 500 µL/kg とし、1 日 1 回 14 日間口腔内に反復投与した。評価項目は、一般状態、体重、摂餌量、解剖検査及び病理組織学的検査（口腔粘膜、舌、喉頭部、食道及び気管）とした。

<試験成績>

一般状態では、対照 HPC 製剤投与群と KCB-1 HPC 製剤投与群のいずれにも変化は認められなかった。摂餌量では、KCB-1 HPC 製剤投与群の雄で投与 4 から 14 日目、雌で投与 4 から 8 日目において摂餌量の有意な増加が認められた。しかし、体重推移では KCB-1 HPC 製剤投与群の雌雄ともに対照 HPC 製剤投与群と比較して有意な体重増加は認められなかった。以上から、KCB-1 HPC 製剤の反復口腔内投与による摂餌量増加は体重に影響を及ぼさない程度の軽微な変化であり、毒性学的意義の乏しい変化であると考えられた。解剖検査時の肉眼観察及び病理組織学的検査において局所傷害性を示唆する所見は認められなかった。

KCB-1 HPC 製剤をラットに 2 週間反復口腔内投与しても投与局所に毒性を示唆する変化は認められなかった。

2.6.6.7.2 イヌにおける歯肉一次刺激性試験

資料番号 4.2.3.6-2

<試験方法>

0.1%及び 0.8%の KCB-1 HPC 製剤、対照 HPC 製剤、並びに陰性対照物質である生理食塩液と陽性対照物質である 0.425%及び 1.7%酢酸を雌ビーグル犬の歯槽粘膜下に 500 µL/site の容量で単回投与し、投与局所の観察及び投与 2 及び 14 日後に剖検して投与局所の病理組織学的検査を行った。また、雌ビーグル犬の下顎第 3 及び第 4 前臼歯を抜歯して 1 ヵ月以上経過後に歯槽骨欠損を作製し、0.1%及び 0.8%の KCB-1 HPC 製剤、対照 HPC 製剤、並びに陰性対照物質である生理食塩液を欠損部に 250 µL/site の容量で単回投与し、投与局所の観察及び投与 7 及び 28 日後に剖検して投与局所の病理組織学的検査を行った。なお、対照

HPC 製剤と生理食塩液は同一動物に投与し、動物数は剖検時点ごとに各群 3 匹とした。

<試験成績>

0.1%及び 0.8% KCB-1 HPC 製剤投与群の歯槽粘膜下への投与において、投与局所の腫張が認められた。剖検では投与 2 日後の対照 HPC 製剤、0.1%及び 0.8% KCB-1 HPC 製剤投与群に水様性物質の残留、投与 14 日後の 0.8% KCB-1 HPC 製剤投与群に歯槽粘膜下織の肥厚がみられた。病理組織学的検査では投与 2 及び 14 日後の対照 HPC 製剤、0.1%及び 0.8% KCB-1 HPC 製剤投与群に粘膜固有層の泡沫細胞出現が、0.1%及び 0.8% KCB-1 HPC 製剤投与群に骨膜の骨芽細胞様細胞の増生が観察された。粘膜固有層の血管新生は、0.1% KCB-1 HPC 製剤投与群で投与 14 日後に、0.8% KCB-1 HPC 製剤投与群では投与 2 日後から観察された。投与 14 日後の 0.1%及び 0.8% KCB-1 HPC 製剤投与群に粘膜固有層の線維芽細胞様細胞の遊走が、投与 14 日後の 0.8% KCB-1 HPC 製剤投与群に粘膜固有層の小円形細胞浸潤が観察された。歯槽粘膜下の水様性物質残留及び粘膜固有層の泡沫細胞出現は、対照 HPC 製剤投与群においても観察され、生理食塩液投与群ではみられなかったことから、媒体である HPC に起因した変化と考えられた。また、粘膜固有層の血管新生、線維芽細胞様細胞の遊走、小円形細胞浸潤及び骨膜の骨芽細胞様細胞の増生については KCB-1 の薬理作用に基づく変化と考えられた。

一方、0.425%及び 1.7%酢酸歯槽粘膜下投与群の投与局所については腫張がみられ、1.7%酢酸投与群では陥凹等も観察された。剖検では 1.7%酢酸投与群において投与 2 日後の歯槽粘膜下に暗赤色化がみられ、投与 14 日後には潰瘍が観察された。病理組織学的検査では投与 2 日後の 0.425%及び 1.7%酢酸投与群に粘膜固有層の小円形細胞浸潤及び限局性壊死が、更に 1.7%酢酸投与群では出血も観察された。投与 14 日後の 1.7%酢酸投与群においては、粘膜固有層の血管新生、限局性壊死、出血及び線維化がみられた。これら酢酸による刺激性変化は、KCB-1 HPC 製剤で観察されたいずれの所見とも質的に異なるものであった。

また、歯槽骨欠損部投与において、病理組織学的検査では投与 7 日後の対照 HPC 製剤、0.1%及び 0.8% KCB-1 HPC 製剤投与群に歯槽骨の線維芽細胞様細胞の増生、間葉系細胞増生、海綿状骨形成及び骨芽細胞様細胞の増生がみられ、その程度は KCB-1 濃度に応じて増強した。また、投与 28 日後においても歯槽骨の海綿状骨形成がみられた。これらの所見は骨欠損に対する修復像で、KCB-1 の薬理作用を反映した変化であると考えられた。

以上の結果から、KCB-1 HPC 製剤投与群でみられた病理組織学的変化は KCB-1 の薬理作用に起因した変化と考えられ、KCB-1 HPC 製剤の一次刺激性を示唆する所見は認められなかった。

2.6.6.8 その他の毒性試験

該当資料なし

2.6.6.9 考察及び結論

本剤は口腔内局所に適用する薬剤であることから、口腔に対する安全性を評価するため、ラットにおける口腔粘膜刺激性試験及びイヌにおける歯肉一次刺激性試験を実施した。KCB-1 HPC 製剤が適用部位から漏出した場合の口腔及び食道粘膜に対する影響を調べるため、0.3% KCB-1 HPC 製剤を 500 µL/kg の容量でラットに 2 週間反復口腔内投与した結果、口腔粘膜、舌、喉頭部、食道に対し肉眼的及び組織学的に局所傷害性を示唆する所見は認められなかった。また KCB-1 HPC 製剤の臨床適用局所に対する一次刺激性を調べるため

に、イヌの歯槽粘膜下あるいは歯槽骨欠損部位に 0.1%及び 0.8%の KCB-1 HPC 製剤をそれぞれ単回投与した。いずれの投与量及び投与部位においても投与後の肉眼観察では投与局所の腫張が、病理組織学的検査では KCB-1 の薬理作用に起因したと考えられる変化が認められたのみで、KCB-1 HPC 製剤の一次刺激性を示唆する所見は認められなかった。

以上の毒性試験の結果から、本剤を歯周炎患者の歯肉剥離掻爬術施行時に歯周組織欠損部に適量を投与した場合の毒性の発現は低いと推察された。

目次

2.6.7 毒性試験概要表---- 2
2.6.7.1 毒性試験：一覧表 ---- 2
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 ---- 3
2.6.7.3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス 試験成績の一覧表---- 3
2.6.7.4 毒性試験：被験物質の一覧---- 4
2.6.7.5 単回投与毒性試験 ---- 5
2.6.7.6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の記載---- 5
2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験 ---- 5
2.6.7.8 *In Vitro* 遺伝毒性試験---- 5
2.6.7.9 *In Vivo* 遺伝毒性試験 ---- 5
2.6.7.10 がん原性試験---- 5
2.6.7.11 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験 ---- 5
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---- 6
2.6.7.13 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験---- 6
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 - 6
2.6.7.15 新生児を用いた試験 ---- 6
2.6.7.16 局所刺激性試験---- 7
2.6.7.17 その他の毒性試験---- 8

2.6.7 毒性試験概要表

2.6.7.1 毒性試験：一覧表

被験物質：KCB-1 HPC 製剤

試験の種類	動物種/系統	投与方法	投与期間	投与量	GLP 適用	実施施設	試験番号	記載箇所
局所刺激性試験	ラット/Crl:CD(SD)	口腔内	2 週間	1.5 mg/kg	適	科研製薬	S[redacted]T001	4.2.3.6-1
	イヌ/ビーグル	歯槽粘膜下 歯槽骨欠損部	単回 単回	0.5、4 mg/匹 0.25、2 mg/匹	適	科研製薬	[redacted]T007	4.2.3.6-2

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

該当する試験なし。

2.6.7.3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス 試験成績の一覧表

該当する試験なし。

2.6.7.4 毒性試験：被験物質の一覧

被験物質：KCB-1 HPC 製剤

ロット番号	含量(%)	規格設定された類縁物質(%)			試験番号	試験の種類
申請規格	表示量の [redacted]～[redacted]%に対応するトラフェルミンを含む	SDS ポリアクリルアミドゲル電気泳動法で [redacted]%以下	[redacted]高速液体クロマトグラフィーで [redacted]%以下	[redacted]高速液体クロマトグラフィーで [redacted]%以下		
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	S[redacted]T001	ラットにおける口腔粘膜刺激性試験
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]T007	イヌにおける歯肉一次刺激性試験
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]T007	イヌにおける歯肉一次刺激性試験

2.6.7.5 単回投与毒性試験

単回投与毒性試験の成績は既提出資料に記載しているため、作表を省略した。

2.6.7.6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の記載

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

反復投与毒性試験の成績は既提出資料に記載しているため、作表を省略した。

2.6.7.8 *In Vitro* 遺伝毒性試験

In Vitro 遺伝毒性試験の成績は既提出資料に記載しているため、作表を省略した。

2.6.7.9 *In Vivo* 遺伝毒性試験

In Vivo 遺伝毒性試験の成績は既提出資料に記載しているため、作表を省略した。

2.6.7.10 がん原性試験

がん原性試験の成績は既提出資料に記載しているため、作表を省略した。

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

受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験の成績は既提出資料に記載しているため、作表を省略した。

2.6.7.13 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験

胚・胎児発生に関する試験の成績は既提出資料に記載しているため、作表を省略した。

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

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の成績は既提出資料に記載しているため、作表を省略した。

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

被験物質：KCB-1 HPC 製剤

動物種/系統	投与方法	投与容量	性別及び 一群の動物数	特記すべき所見	試験番号
ラット/ Crl:CD（SD）	口腔内	500 µL/kg 対照 HPC 製剤 0.3% KCB-1 HPC 製剤	雌雄、各 10	一般状態、体重、摂餌量、解剖検査及び病理組織学的検査において特記すべき所見は認められなかった。	S[redacted]T001
イヌ/ビーグル	歯槽粘膜下	500 µL/部位 生理食塩液 対照 HPC 製剤 0.1%、0.8% KCB-1 HPC 製剤 0.425%、1.7%酢酸	雌、3（生理食塩液及び対照 HPC 製剤は同一動物に投与）	0.1%、0.8% KCB-1 HPC 製剤群： 投与局所の腫張 歯槽粘膜下の水溶性物質残留（0.8% KCB-1 HPC 製剤群には歯槽粘膜下織の肥厚） 病理組織学的検査において骨膜の骨芽細胞様細胞の増生、粘膜固有層の泡沫細胞出現、血管新生及び線維芽細胞様細胞の遊走（0.8% KCB-1 HPC 製剤群には粘膜固有層の小円形細胞浸潤） 0.425%、1.7%酢酸群： 投与局所の腫脹（1.7%酢酸群では陥凹） 1.7%酢酸群に歯槽粘膜下の暗赤色化及び潰瘍 病理組織学的検査において粘膜固有層の小円形細胞浸潤及び限局性壊死（1.7%酢酸群には出血、粘膜固有層の血管新生及び線維化）	[redacted]T007
イヌ/ビーグル	歯槽骨欠損部	250 µL/部位 生理食塩液 対照 HPC 製剤 0.1%、0.8% KCB-1 HPC 製剤	雌、3（生理食塩液及び媒体対照は同一動物に投与）	0.1%、0.8% KCB-1 HPC 製剤群に歯槽骨の線維芽細胞様細胞の増生、間葉系細胞増生、海綿状骨形成及び骨芽細胞様細胞の増生	

2.6.7.17 その他の毒性試験

その他の毒性試験の成績は既提出資料に記載しているため、作表を省略した。