
第2部 CTDの概要

一般名：ブデソニド

グリコピロニウム臭化物

ホルモテロールフマル酸塩水和物

版番号：■

2.4 非臨床試験の概括評価

PT010

本資料に記載された情報に係る権利はアストラゼネカ株式会社に帰属します。弊社の事前の承諾なく本資料の内容を他に開示することは禁じられています。

目次	頁
目次	2
略語及び専門用語一覧表	4
2.4.1 非臨床試験計画概略	6
2.4.2 薬理試験	7
2.4.2.1 効力を裏付ける試験	8
2.4.2.1.1 ブデソニド	8
2.4.2.1.2 ホルモテロール	8
2.4.2.1.3 グリコピロニウム	8
2.4.2.1.3.1 <i>In vitro</i> 活性及びムスカリン受容体サブタイプに対する選択性	8
2.4.2.1.3.2 メサコリン誘発細胞内カルシウム流入に対する作用	9
2.4.2.1.3.3 モルモット摘出気管のメサコリン誘発気管収縮に対する作用	9
2.4.2.1.3.4 気管内投与時の <i>in vivo</i> 活性及び効果持続時間	9
2.4.2.2 副次的薬理試験	9
2.4.2.2.1 ブデソニド	9
2.4.2.2.2 ホルモテロール	9
2.4.2.2.3 グリコピロニウム	9
2.4.2.3 安全性薬理試験	10
2.4.2.3.1 中枢神経系に対する作用	10
2.4.2.3.2 心血管系に対する作用	10
2.4.2.3.3 呼吸器系に対する作用	10
2.4.3 薬物動態試験	11
2.4.3.1 分析法	11
2.4.3.2 吸収	11
2.4.3.3 分布	12
2.4.3.4 代謝	12
2.4.3.4.1 代謝物組成	12
2.4.3.4.2 代謝酵素	13
2.4.3.5 排泄	13
2.4.3.6 薬物動態学的薬物相互作用	14
2.4.3.6.1 CYP が関与する薬物相互作用	14
2.4.3.6.2 トランスポーターが関与する薬物相互作用	14
2.4.4 毒性試験	15
2.4.4.1 単回吸入投与毒性試験	15
2.4.4.2 反復吸入投与毒性試験	16
2.4.4.2.1 単剤	16

2.4 非臨床試験の概括評価

一般名：ブデソニド／グリコピロニウム臭化物／ホルモテロールフマル酸塩水和物

2.4.4.2.2	2 剤配合剤	16
2.4.4.2.3	3 剤配合剤	16
2.4.4.3	遺伝毒性試験	17
2.4.4.4	がん原性試験	18
2.4.4.5	生殖発生毒性試験	18
2.4.4.6	幼若動物を用いた毒性試験	19
2.4.4.7	局所刺激性試験	19
2.4.4.8	添加剤	20
2.4.4.9	不純物及び分解生成物に関する試験	20
2.4.4.9.1	ブデソニド	20
2.4.4.9.2	ホルモテロール	20
2.4.4.9.3	グリコピロニウム	20
2.4.5	総括及び結論	21
2.4.6	参考文献一覧	24

表目次

表 1	毒性試験で使用した BGF MDI 製剤の組成（アクチュエーターからの放出量、 μg ）	15
表 2	主要な 3 カ月間毒性試験における曝露量及びヒト対イヌの曝露量比	23

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 plasma concentration-time curve from zero to infinity：投与後 0 時間から無限大時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積
BCRP	Breast cancer resistance protein
BD	Budesonide：ブデソニド
BGF	Budesonide, Glycopyrronium and Formoterol Fumarate：ブデソニド／グリコピロニウム臭化物／ホルモテロール fumarate 水和物
BID	Twice Daily：1 日 2 回投与
CaCl ₂	Calcium Chloride：塩化カルシウム
cAMP	Cyclic Adenosine Monophosphate：環状アデノシンーリン酸
C _{max}	Maximum plasma Concentration：最高血漿中濃度
CHO 細胞	Chinese Hamster Ovary cell：チャイニーズ・ハムスター卵巣細胞
COPD	Chronic Obstructive Pulmonary Disease：慢性閉塞性肺疾患
CYP	Cytochrome P450：シトクロム P450
DSPC	1,2-distearoyl-sn-glycero-3-phosphocholine：ジステアロイルホスファチジルコリン
F ₀	Maternal generation：母動物世代
F ₁	First generation：第一世代
F ₂	Second generation：第二世代
FF	Formoterol Fumarate：ホルモテロール fumarate 水和物
GFF	Glycopyrronium and Formoterol Fumarate：グリコピロニウム臭化物／ホルモテロール fumarate 水和物
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
GP	Glycopyrrolate or glycopyrronium bromide：グリコピロニウム臭化物
HFA	Hydrofluoroalkane：ハイドロフルオロアルカン
ICH	International Conference on Harmonisation：日米 EU 医薬品規制調和国際会議
ICS	Inhaled Corticosteroids：吸入ステロイド薬
LABA	Long-Acting Beta Agonist：長時間作用性 β ₂ 受容体刺激薬
LAMA	Long-Acting Muscarinic Antagonist：長時間作用性抗コリン薬
MATE	Multidrug and toxin extrusion protein
MDI	Metered Dose Inhaler：定量噴霧式吸入剤
MTD	Maximum Tolerated Dose：最大耐量
NOAEL	No Observed Adverse Effect Level：無毒性量
OAT	Organic anion transporter
OATP	Organic anion transporting polypeptide
OCT	Organic cation transporter

2.4 非臨床試験の概括評価

一般名：ブデソニド／グリコピロニウム臭化物／ホルモテロールフマル酸塩水和物

略語及び専門用語	用語の説明
pA ₂	Negative logarithm of the antagonist concentration causing a twofold rightward shift of the concentration effect curve to methacholine：メサコリンの濃度反応曲線を高濃度側に2倍移動させる拮抗薬濃度の負の対数
P-gp	P-glycoprotein：P-糖蛋白質
QWBA	Quantitative whole body autoradiography：定量的全身オートラジオグラフィー
Seg I	Segment I：受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験
Seg II	Segment II：胚・胎児発生に関する試験
Seg III	Segment III：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
t _{1/2}	Half-life：消失半減期
TK	Toxicokinetics：トキシコキネティクス

2.4.1 非臨床試験計画概略

ブデソニド／グリコピロニウム臭化物／ホルモテロールフマル酸塩水和物定量噴霧式吸入剤（社内製品コード PT010、以下 BGF 定量噴霧式吸入剤 [MDI]）は、吸入ステロイド薬（ICS）であるブデソニド、吸入長時間作用性抗コリン薬（LAMA）であるグリコピロニウム臭化物、及び吸入長時間作用性 β_2 刺激薬（LABA）であるホルモテロールフマル酸塩水和物から成る固定用量 3 剤配合剤であり、慢性閉塞性肺疾患（COPD）の患者に対する長期維持治療薬として開発された。本剤は固定用量配合剤であり、ジステアロイルホスファチジルコリン（DSPC）、塩化カルシウム（ CaCl_2 ）及びハイドロフルオロアルカン-134a（HFA-134a）を含有する MDI 製剤の形で開発された。

なお、本項ではグリコピロニウム臭化物をグリコピロニウム、ホルモテロールフマル酸塩水和物をホルモテロールと略して表記している。

ブデソニドは 1981 年に承認を受けた（国際誕生）薬剤であり、110 カ国以上で利用されている。アストラゼネカ社は、単回及び反復投与毒性試験、生殖発生毒性試験、抗原性試験、遺伝毒性試験、がん原性試験並びに局所刺激性試験を含めた完全な毒性試験プログラムを実施し、既に各国当局に提出している。この一部のデータを、参考のために本申請資料に提示する。ブデソニドは本邦では、吸入用単剤製品としてパルミコート[®]タービュヘイラー[®]及びパルミコート[®]吸入液としてそれぞれ 1999 年及び 2006 年に、ホルモテロールとの吸入用固定用量配合剤（シムビコート[®]タービュヘイラー[®]）として 2009 年に承認されている。

ホルモテロールは 1996 年に承認（アストラゼネカ社の製品として）を受けた薬剤であり、約 120 カ国で吸入用単剤製品（OXIS[®]）又はブデソニドとの吸入用固定用量配合剤（SYMBICORT[®]）として利用されている。アストラゼネカ社は、単回及び反復投与毒性試験、生殖発生毒性試験、遺伝毒性試験、並びにがん原性試験を含めた完全な毒性試験プログラムを実施し、既に各国当局に提出している。この一部のデータを、参考のために本申請資料に提示する。ホルモテロールは本邦では、吸入用単剤製品としてオーキシス[®]タービュヘイラー[®]として 2012 年、ブデソニドとの吸入用固定用量配合剤（シムビコート[®]タービュヘイラー[®]）として 2009 年に承認されている。

グリコピロニウムは、世界各国で長年にわたりさまざまな医療用医薬品に利用されてきた。本邦では、吸入用単剤製品（シーブリ[®]吸入用カプセル 50 μg 、ノバルティスファーマ株式会社）又は、インダカテロールマレイン酸塩との吸入用固定用量配合剤（ウルティプロ[®]吸入用カプセル、ノバルティスファーマ株式会社）がそれぞれ、2012 年及び 2013 年に承認されている。しかし、原データが利用できる参考文献が十分ではなかったこと、及び最近のデータの利用に制限があることから、*in vitro* における薬効薬理試験、*in vitro* 及び *in vivo* における非臨床薬物動態試験、単回及び反復投与毒性試験、生殖発生毒性試験、遺伝毒性試験並びにがん原性試験を含め、グリコピロニウムについて更なる試験を実施した。これらの試験結果を、本申請資料に提示する。

各有効成分は幅広く研究され、医療用医薬品として利用されていることから、本 3 剤固定用量配合剤（BGF）については、ラット及びイヌを用いた単回吸入投与毒性試験及び 14 日間反復吸入投与毒性試験、並びにイヌを用いた 3 カ月間反復吸入投与毒性試験からなる最小限の毒性試験パッケージを実施した（安全性薬理データは毒性試験の一部として収集した）。

加えて、ブデソニド、ホルモテロール及びグリコピロニウムの各単剤について、ラット及びイヌを用いた単回吸入投与毒性試験及び 14 日間反復吸入投与毒性試験、並びにイヌを用いた 3 カ

月間反復吸入投与毒性試験を実施し、更に、2 剤配合剤（ブデソニド／ホルモテロール、ブデソニド／グリコピロニウム及びグリコピロニウム／ホルモテロール）についても同様の毒性試験を実施した。また、グリコピロニウムについてのみ、ラット及びイヌを用いた 6 カ月間試験、遺伝毒性試験、マウス及びラットを用いたがん原性試験、並びに生殖発生毒性試験を実施した。上記の吸入投与毒性試験はすべて、DSPC、CaCl₂ 及び HFA-134a を含有する同様の MDI 製剤を用いて実施し（グリコピロニウムの遺伝毒性試験及び生殖発生毒性試験は MDI 製剤を用いて実施していない）、溶媒対照群と空気対照群を設けている。よって、これらの試験についても簡潔に報告し、有効成分及び添加物の安全性を裏付ける広範なデータを提示する。

本 3 剤固定用量配合剤（BGF）の遺伝毒性、がん原性及び生殖発生毒性は、個々の有効成分について広範なデータが存在し、本申請資料には各単剤の情報として提示するため、実施しなかった。

主要な毒性試験はすべて、経済協力開発機構（OECD）の加盟国において、OECD の試験ガイドライン及び医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）、並びに関連する日米 EU 医薬品規制調和国際会議（ICH）ガイドラインに従って実施された。

2.4.2 薬理試験

ブデソニドに関して、パルミコート®タービュヘイラー®承認申請時に一連の非臨床薬理試験成績を提出し（第 1 部 13 項パルミコート®タービュヘイラー®資料概要参照）、パルミコート®吸入液承認申請時には、ブデソニドの作用機序に関する細胞内可逆的脂肪酸エステル化による局所作用持続性の主な薬理学的知見を報告した（第 1 部 13 項パルミコート®吸入液資料概要参照）。また、シムビコート®タービュヘイラー®の承認申請時には、ブデソニド／ホルモテロール併用時の抗喘息作用について、*ex vivo* のラット肺を用いた試験に加えて、ヒト気道及び肺細胞を用いた *in vitro* 試験で得られた成績を報告した（第 1 部 13 項シムビコート®タービュヘイラー®薬理試験の概要文参照）。また、ホルモテロールに関してはシムビコート®タービュヘイラー®の承認申請時に提出済みである。したがって、ブデソニド及びホルモテロールに関しては、本概括では、主に既提出の申請資料概要に基づいた概略を記載した。グリコピロニウムに関しては、社内試験で得られた成績及び査読付き学術論文を基に記載した。

ホルモテロールとグリコピロニウムは作用機序が異なることが知られており、薬力学的薬物相互作用が生じないと考えられるため、ホルモテロール／グリコピロニウム併用時の非臨床薬理試験は実施していない。また、BGF MDI の有効成分であるブデソニド、グリコピロニウム及びホルモテロールのうちの 1 成分又は 2 成分を含む吸入剤は既に市販され、それぞれ臨床経験が十分蓄積されている。そのため、ブデソニド／グリコピロニウム／ホルモテロール併用時の非臨床薬理試験を実施していないが、それぞれ固有の作用機序を有するホルモテロール及びグリコピロニウム等の気管支拡張薬に加え、ブデソニド等の抗炎症薬を併用することにより、気管支作用薬のみと比較すると、臨床において肺機能や症状により大きな改善が得られると推察された。

独立した安全性薬理試験を実施していないが、ブデソニド（BD）MDI、ホルモテロールフマル酸塩水和物（FF）MDI、グリコピロニウム臭化物（GP）MDI、グリコピロニウム臭化物／ホルモテロールフマル酸塩水和物（GFF）MDI 及び BGF MDI に関して、GLP 条件下で実施したラット又はイヌを用いた 14 日間、3 カ月間及び 6 カ月間（GP MDI のみ）の反復吸入投与毒性試験の一部として、安全性薬理に関連した項目について評価した。

2.4.2.1 効力を裏付ける試験

2.4.2.1.1 ブデソニド

ブデソニドは、特有の動態学的特性を示す強力な糖質コルチコイドで、非臨床薬理試験において各種の抗アレルギー作用及び抗炎症作用を示した。吸入ブデソニドは、投与量の一部が気道組織で不活性な脂肪酸エステルとして保持される。脂肪酸エステルは、細胞内リパーゼの作用でブデソニドを可逆的に徐々に再生するため、このようなエステル化を受けないプロピオン酸フルチカゾンよりも長時間作用性の局所抗炎症作用を示すと考えられた。

2.4.2.1.2 ホルモテロール

ホルモテロールは、強力な選択的かつ有効な LABA であり、吸入投与すると作用発現が速やかにみられ、作用の持続時間が長い。ホルモテロールは、 β_2 受容体においてほぼフルアゴニスト作用を示し、細胞内環状アデノシンリン酸（cAMP）濃度を増加させ、これが平滑筋弛緩及び気管支拡張につながる。ホルモテロールの主要な薬理作用は、気道平滑筋の弛緩である。ホルモテロールは β_2 選択性が高いことから、心血管作用よりも気管支拡張作用の方が強い。摘出気管及び気管支において、ホルモテロールは、気管支収縮剤の刺激により誘発された気管支収縮に対し、サルブタモール及びサルメテロールと比較して強力な弛緩作用を示す。ホルモテロールは、作用発現がサルメテロールも速やかにみられ、気管支拡張に関連したこれらの作用の持続時間がサルブタモールよりも長い。また、ホルモテロールは、*in vivo* でサルブタモール及びサルメテロールよりも効果が高く、効果持続時間がサルブタモールよりも長い。喘息の動物モデルにおいて、ホルモテロールを吸入投与すると、経口投与よりも低用量で気管支拡張作用がみられる。一部の喘息モデルにおいて、ホルモテロールは、投与経路を問わず、サルブタモールより強力な気管支拡張作用を示し、その持続時間もサルブタモールより長かった。

2.4.2.1.3 グリコピロニウム

2.4.2.1.3.1 *In vitro* 活性及びムスカリン受容体サブタイプに対する選択性

肺に対する生理作用を示すヒト M_1 、 M_2 及び M_3 受容体に対する選択性に関して、グリコピロニウムは、ムスカリン受容体を発現させたチャイニーズ・ハムスター卵巣（CHO）細胞における競合結合データから、他のムスカリン受容体サブタイプと比較して M_2 受容体に対する選択性がわずかに低いことが示唆されている（試験 SR-XXXXXXXXXX、SR-XXXXXXXXXX 及び SR-XXXXXXXXXX、並びに Sykes et al 2012）。一方、アトロピンは M_3 受容体よりも M_2 受容体に対する選択性がわずかに高く（試験 SR-XXXXXXXXXX、SR-XXXXXXXXXX 及び SR-XXXXXXXXXX）、チオトロピウムはこの 3 種類の受容体サブタイプ間で差はみられないことが示唆されている（Sykes et al 2012）。

グリコピロニウムの M_3 受容体に対する平衡結合及び動的選択性が M_2 受容体と比較して高いことが裏付けられ、 M_3 受容体と比較した M_2 受容体からの解離速度はチオトロピウムよりも速く、より望ましい安全域（治療係数）が得られるものと期待される（Sykes et al 2012）。グリコピロニウムの解離速度定数がチオトロピウムと比べて高いことが、 M_3 受容体において親和性が相対的に低いことを決定する重要な因子であると考えられる（Sykes et al 2012）。両リガンドは 8 時間未満で M_3 受容体から完全に解離する（Sykes et al 2012）。作用発現までの時間は、 M_3 受容体ではチオトロピウムがグリコピロニウムに比べて 4~5 倍長くなることが確認された（Sykes et al

2012)。以上の結果から、単に受容体への滞留時間だけでは LAMA の臨床的作用持続時間を説明できないことが示唆された (Sykes et al 2012)。

2.4.2.1.3.2 メサコリン誘発細胞内カルシウム流入に対する作用

ヒト M_3 受容体発現 CHO-K1 細胞で、グリコピロニウムのメサコリン誘発細胞内カルシウム流入に対する抑制作用はアトロピンより約 10 倍強力であった (試験 SR-XXXXXXXXXX)。

2.4.2.1.3.3 モルモット摘出気管のメサコリン誘発気管収縮に対する作用

モルモット摘出気管のメサコリン誘発収縮に対する作用の評価で、グリコピロニウムの pA_2 値は 10.2 ± 0.1 (平均値 $\pm$ 標準誤差、 $n=4$) であった (pA_2 : メサコリンの濃度反応曲線を高濃度側に 2 倍移動させる拮抗薬濃度の負の対数) (試験 SR-XXXXXXXXXX)。

2.4.2.1.3.4 気管内投与時の *in vivo* 活性及び効果持続時間

麻酔下の Brown Norway ラットに対するムスカリン作動薬であるメサコリンの静脈内投与により気管支収縮を誘発した。グリコピロニウム及びチオトロピウムはいずれも気管内投与により、メサコリン誘発気管支収縮を用量依存的に抑制した (Trifilieff et al 2015)。

2.4.2.2 副次的薬理試験

2.4.2.2.1 ブデソニド

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、局所投与時の抗炎症作用が強く、下垂体-副腎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性副作用との分離に優れていると考えられた。

2.4.2.2.2 ホルモテロール

ホルモテロールは 1986 年以来、臨床使用されており、既に広範な非臨床の副次的薬理試験が実施されている。これらの試験の結果から、ホルモテロールは、他の既存の β_2 刺激薬と共通の副次的薬理プロファイルを有することが示されている。

2.4.2.2.3 グリコピロニウム

ムスカリン性アセチルコリン受容体 M_2 (ムスカリン M_2 受容体) は、心臓における主たるムスカリン受容体サブタイプであり、ペースメーカー活性及び心房収縮能の調節を介して心血管機能の生理的制御に極めて重要な役割を果たす (Abrams et al 2006)。このため、ラットを用いて、メサコリン 30 $\mu\text{g/kg}$ 静脈内投与の 1 時間前又は 6 時間前にグリコピロニウム及びチオトロピウムを麻酔下で気管内投与して血圧低下及び徐脈に対する影響を検討した。気道抵抗及び心血管機能の変化を記録し、メサコリン誘発気管支収縮抑制の 50%有効量 (ED_{50}) 値に対し治療係数を算出した。グリコピロニウム及びチオトロピウムはいずれもメサコリン誘発徐脈を抑制した。検討した両時点、血圧低下及び徐脈に対する治療係数は、グリコピロニウム (1 時間の時点: 19.5 倍

及び 28.5 倍、6 時間の時点：いずれも 250 倍超）の方がチオトロピウム（1 時間の時点：1.5 倍及び 4.2 倍、6 時間の時点：16.0 倍及び 19.1 倍）よりも高かった（Trifilieff et al 2015）。

2.4.2.3 安全性薬理試験

2.4.2.3.1 中枢神経系に対する作用

中枢神経系安全性評価は、ラット又はイヌを用いた BD MDI、FF MDI、GP MDI、GFF MDI 及び BGF MDI に関する 14 日間及び 3 カ月間、並びに GP MDI に関する 6 カ月間の反復吸入投与毒性試験において一般状態の観察により評価した。いずれの試験においても中枢神経系の変化を示す徴候は認められなかった。

2.4.2.3.2 心血管系に対する作用

心血管系安全性薬理の評価は、イヌを用いた BD MDI、FF MDI、GP MDI、GFF MDI 及び BGF MDI に関する 14 日間及び 3 カ月間の反復吸入投与毒性試験の一部として実施した。心電図は、全てのイヌについて初回曝露の前後、投与 45 日目（3 カ月間吸入投与試験のみ）及び最終曝露後に評価した。イヌを用いた 6 カ月間吸入投与試験も行い、GP MDI、空気のみ及び溶媒対照を用いて実施した。心血管系の評価は、試験開始前、投与 1 日目及び試験終了時（投与 180 日目）に実施した。I、II、III、aVR、aVL 及び aVF 誘導の心電図を心臓専門獣医が心臓リズム、心電図波形及び明らかな機能の変化について評価した。

心拍数の増加など、ホルモテロール投与に伴う周知の心血管系の安全性薬理所見が FF MDI 及び GFF MDI の投与により認められた。BD MDI、GP MDI 又は BGF MDI 投与による心血管系の安全性薬理パラメータに対する有意な作用は認められなかった。BD MDI、FF MDI、GP MDI、GFF MDI 及び BGF MDI に関するイヌを用いた 14 日間、3 カ月間及び 6 カ月間（GP MDI のみ）の反復吸入投与毒性試験のいずれにおいても、心血管系に対する新たな作用及び異常な作用は認められなかった。

2.4.2.3.3 呼吸器系に対する作用

呼吸器系安全性薬理の評価は、イヌを用いた BD MDI、FF MDI、GP MDI、GFF MDI 及び BGF MDI に関する 14 日間及び 3 カ月間の反復吸入投与毒性試験の一部として実施した。全てのイヌから自発呼吸測定値を、初回曝露前、初回曝露後、投与 45 日目（3 カ月間吸入投与試験のみ）及び最終曝露後に収集した。分時換気量、一回換気量及び呼吸数を測定した。イヌを用いた 6 カ月間吸入投与試験も行い、GP MDI 単剤、空気のみ及び溶媒対照を用いて実施した。呼吸器系の評価は、試験開始前、投与 1 日目及び試験終了時（投与 180 日目）に実施した。

呼吸数の増加など、ホルモテロール投与に伴う周知の呼吸器系の安全性薬理所見が、FF MDI 及び GFF MDI の投与により認められた。BD MDI、GP MDI 又は BGF MDI 投与による呼吸器系の安全性薬理パラメータに対する有意な作用は認められなかった。BD MDI、FF MDI、GP MDI、GFF MDI 及び BGF MDI に関するイヌを用いた 14 日間、3 カ月間及び 6 カ月間（GP MDI のみ）の反復吸入投与毒性試験のいずれにおいても、呼吸器系に対する新たな作用及び異常な作用は認められなかった。

2.4.3 薬物動態試験

ブデソニドに関する非臨床薬物動態試験成績は、主としてパルミコート®タービュヘイラー®の承認申請時に提出しており、過去の既提出の試験成績を総括した要約はシムビコート®タービュヘイラー®の資料概要に記載している。また、ホルモテロールフマル酸塩水和物（本項ではフリー体と区別なくホルモテロールと記載）に関する非臨床薬物動態試験成績はシムビコート®タービュヘイラー®の承認申請時に提出している。グリコピロニウム臭化物（本項ではフリー体と区別なくグリコピロニウムと記載）の非臨床薬物動態試験として、分布、代謝及び薬物相互作用に関する検討を実施し、グリコピロニウムの吸収は TK の結果より評価した。ブデソニド／グリコピロニウム／ホルモテロール併用吸入投与時と各有効成分単独吸入投与時の TK の結果に明らかな違いは認められず、併用投与の非臨床薬物動態試験は実施していない。

2.4.3.1 分析法

動物におけるブデソニド、ホルモテロール及びグリコピロニウムの血漿中濃度定量法の開発及びバリデーションは [] 社（米国）及び [] 社（米国）で実施した。これら定量法を用いて各有効成分の TK 評価を実施した。各分析法の概要は薬物動態試験の概要文 2.6.4 の表 1 に示した。

2.4.3.2 吸収

ブデソニド

ブデソニドをラットに気管内及びイヌに吸入投与したとき、ブデソニドは速やか且つほぼ完全に吸収され、循環血中からの消失は速やかであった。イヌに吸入投与したときの全身利用率は 55.5%であった。

ホルモテロール

ラット及びイヌにホルモテロールを吸入投与したとき、速やかに最高血漿中濃度（ C_{max} ）に達し、 C_{max} 及び時間 0 から無限大時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積（AUC）は投与量の増加に伴って増大した。反復投与しても、蓄積傾向はみられなかった。血漿中濃度推移に顕著な性差は認められなかった。

グリコピロニウム

TK の結果、ラット、イヌ共にグリコピロニウムの血漿中濃度は、吸入投与後、最初の測定時点で C_{max} を示した。ラットでは血漿中濃度を評価可能であった時点が十分でなく、AUC を評価できなかった。イヌでは AUC は概ね用量に依存して増加した。イヌに 6 カ月間反復吸入投与後、AUC に性差は認められず、消失半減期（ $t_{1/2}$ ）は 6.10～12.5 時間であった。

ブデソニド／グリコピロニウム／ホルモテロール併用

イヌにブデソニド／グリコピロニウム／ホルモテロール併用吸入投与時と各有効成分単独吸入投与時の TK の結果に明らかな違いは認められなかった。

2.4.3.3 分布

ブデソニド

ブデソニドの血漿蛋白との結合率は約 90%であり、種差は認められなかった。結合蛋白は主としてアルブミンと考えられた。ラットに $[^3\text{H}]$ -ブデソニドを気管内投与したとき、投与部位である気管及び肺に持続的で高い放射能分布が認められた。これは、気道組織上でブデソニドの一部が脂肪酸抱合を受け、脂肪酸エステル体として保持されるためと考えられた。放射能の全身分布は広範であったが、中枢神経系の放射能濃度は低かった。妊娠ラット及び妊娠マウスに $[^3\text{H}]$ -ブデソニドを皮下及び静脈内投与したとき、胎児へ放射能の移行がみられたが、残存傾向は認められなかった。

ホルモテロール

ホルモテロールの血漿蛋白結合率は、検討した動物種及びヒトにおいて約 50%と低く、種差は認められなかった。ラットに $[^3\text{H}]$ -ホルモテロールを気管内投与したとき、投与部位である気管及び肺に高い放射能分布が認められた。また、放射能は体内に広く認められたが、中枢神経系では低かった。有色ラットを用いた QWBA 試験では、顕著な残留性を示す組織は認められなかったが、メラニン含有組織及び副腎髄質への残留傾向が認められた。しかしながら、毒性試験ではこれらの組織で組織学的変化及び機能障害は認められていない。

グリコピロニウム

グリコピロニウムの血漿蛋白結合率は、マウス、ラット、ウサギ及びイヌで約 20~40%、ヒトで約 50%であった。有色ラットに $[^{14}\text{C}]$ -グリコピロニウムを静脈内投与した QWBA 試験において、放射能は大部分の組織で投与後 4 時間まで検出可能であり、投与後 168 時間以内にブドウ膜、褐色脂肪及び肝臓を除く全組織で定量下限未満又は検出不能となった。大部分の組織は投与後 0.25 時間に最高放射能濃度を示し、肝臓、腎臓、小腸の順に高かった。ブドウ膜、肝臓及び有色皮膚で長い半減期を示した。眼球の放射能濃度は有色ラットの方が白色ラットより高く、限定的ではあるが、メラニン含有組織への放射能の結合が示された。

2.4.3.4 代謝

2.4.3.4.1 代謝物組成

ブデソニド

ラットに $[^3\text{H}]$ -ブデソニドを気管内投与したとき、肺及び気管においてブデソニドの可逆的な脂肪酸抱合化が認められたが、これらの組織において酸化及び還元代謝物は検出されなかった。しかしながら、循環血中に移行したブデソニドは速やかに代謝され、血漿中には主代謝物として 16 α -ヒドロキシプレドニゾロン及び 6 β -ヒドロキシブデソニドが検出された。尿中に未変化体は検出されず、血漿及び尿中に脂肪酸抱合体は検出されなかった。

ホルモテロール

マウス、ラット及びイヌにおける尿中の主代謝物はホルモテロールのフェノール基へのグルクロン酸抱合体 (FG) であり、FG はヒトでも主代謝物であった。検討した動物種における代謝物組成はヒトと類似しており、主代謝経路はホルモテロールのグルクロン酸抱合化及び O-脱メチル化であった。

グリコピロニウム

ヒト、ラット、イヌ、マウス及びウサギの肝細胞、並びにヒト、ラット及びイヌの肺ミクロソームと $[^{14}\text{C}]$ -グリコピロニウムをインキュベーションし、グリコピロニウムの代謝物組成について検討した。肝細胞と $[^{14}\text{C}]$ -グリコピロニウムのインキュベーション 240 分後、未変化体分画はヒト 94.3%、イヌ 94.6%、ラット 6.1%、マウス 49.8%及びウサギ 9.7%であった。多くの動物種でグリコピロニウムの主代謝物は一水酸化体及び二水酸化体、並びに不飽和化を伴う一水酸化体であった。主代謝部位は芳香環及びシクロペンタン環であった。ヒト、ラット及びイヌの肺ミクロソームで $[^{14}\text{C}]$ -グリコピロニウムは代謝されなかった。ラットに $[^{14}\text{C}]$ -グリコピロニウムを単回経口及び静脈内投与し、血漿中及び尿中の代謝物について検討した。経口投与後の血漿中放射能は M15（グリコピロニウムの加水分解で生じたカルボン酸体）が主であり、尿中放射能は M21 及び M22（いずれも M15 のグルクロン酸抱合体）が主であった。静脈内投与後の血漿中及び尿中放射能は主に未変化体であり、グリコピロニウムをラットに経口投与後の代謝は主に消化管及び肝の初回通過効果によることが示唆された。

2.4.3.4.2 代謝酵素

ブデソニド

ヒト肝ミクロソームを用いた検討から、ブデソニドの主代謝酵素はシトクロム P450（CYP）3A4 であることが示唆された。

ホルモテロール

ホルモテロールは主にグルクロン酸抱合化、及び *O*-脱メチル化により代謝される。ヒト肝では、ホルモテロールの *O*-脱メチル体の生成には CYP2D6 及び CYP2C 分子種が関与すると考えられた。

グリコピロニウム

グリコピロニウムの代謝に関与する CYP 分子種についてヒト CYP 発現系を用いて検討した。グリコピロニウムは主に CYP2D6 で代謝され、僅かに CYP2A6、2C9、2E1、3A4 及び 3A5 による代謝も認められた。CYP1A2、2B6、2C8 及び 2C19 によるグリコピロニウムの代謝は認められなかった。

2.4.3.5 排泄

ブデソニド

ラットに $[^3\text{H}]$ -ブデソニドを気管内投与したとき、投与後 168 時間までに投与放射能の 19%が尿中に、63%が糞中に排泄された。放射能の排泄は速やかであり、尿中放射能の 92%が投与後 24 時間以内に排泄された。イヌにおいても吸入 $[^3\text{H}]$ -ブデソニドの尿糞中への排泄比はラットとほぼ同じ割合であり、主排泄経路は糞中であった。

ホルモテロール

ラット及びイヌに $[^3\text{H}]$ -ホルモテロールを静脈内投与したとき、投与後 72 時間までに投与放射能の約 30～40%が尿中に、50～60%が糞中に排泄された。ラットに $[^3\text{H}]$ -ホルモテロールを経口投与したとき、投与量の 65%が胆汁中に排泄され、糞中へは主に胆汁を介して排泄されと考えられた。経口投与後の未変化体の尿中排泄量は少なかった。

グリコピロニウム

ラットに $[^{14}\text{C}]$ -グリコピロニウムを静脈内及び経口投与し、尿中放射能排泄率を投与後 48 時間まで測定した。静脈内及び経口投与後の尿中放射能排泄率はそれぞれ投与放射能の約 60%及び約 7.5%であった。尿中排泄は速やかであり、大部分が投与後 24 時間以内に排泄された。

2.4.3.6 薬物動態学的薬物相互作用

ブデソニドは P-糖蛋白質 (P-gp) の基質であるが、他のトランスポーター (BCRP、OAT1、OAT3、OCT2、OATP1B1 及び OATP1B3) の基質ではなかった。また、上記トランスポーター及びヒト主要 CYP (1A2、2B6、2C8、2C9、2C19、2D6 及び 3A) に対する阻害作用は認められず、CYP1A2、2B6 及び 3A4 に対する誘導作用も認められなかった。したがって、これら CYP 分子種及びトランスポーターを介したブデソニドによる相互作用の可能性は低いと考えられる (Chen et al 2018)。

In vitro 試験でホルモテロールは濃度 100 $\mu\text{mol/L}$ で CYP2D6 による代謝を 40%阻害したが、他の CYP (CYP1A2、CYP2A6、CYP2E1 及び CYP3A) に対する阻害率は 25%未満と小さかった。しかしながら、ホルモテロールの臨床用量での血漿中濃度は低いことから、他剤との薬物相互作用が生じる可能性は低いと考えられる。

以下にはグリコピロニウムについて実施した CYP 阻害、CYP 誘導、トランスポーター阻害及びトランスポーター基質に関する *in vitro* 相互作用試験の結果を記載する。

2.4.3.6.1 CYP が関与する薬物相互作用

グリコピロニウムによる CYP の可逆的及び時間依存的阻害作用についてヒト肝ミクロソームを用いて検討した。ヒト主要 CYP (CYP1A2、2A6、2B6、2C8、2C9、2C19、2D6、2E1 及び 3A4/5) に対する可逆的阻害作用は認められなかった (検討濃度範囲：0.1～30 $\mu\text{mol/L}$)。また、CYP1A2、2C9、2C19、2D6 及び 3A4/5 に対する時間依存的阻害作用も認められなかった (検討濃度：0.1 及び 1 $\mu\text{mol/L}$)。

グリコピロニウムによる CYP1A2、2B6 及び 3A4 誘導作用についてヒト肝細胞を用いて検討した。CYP1A2、2B6 及び 3A4 の mRNA 発現量並びに酵素活性に誘導作用は認められなかった (検討濃度範囲：0.206～50 $\mu\text{mol/L}$)。

したがって、臨床においてグリコピロニウムの CYP 阻害又は誘導により相互作用が生じる可能性は低いと考えられた。

2.4.3.6.2 トランスポーターが関与する薬物相互作用

各種トランスポーター発現細胞を用い、グリコピロニウムのトランスポーター阻害作用及び基質である可能性を検討した。グリコピロニウムは OCT1、OCT2、OATP1B1、MATE1 及び MATE2-K を阻害したが、これらトランスポーターに対する 50%阻害濃度 (IC_{50}) と臨床用量における血漿中濃度の比較から、相互作用が生じる可能性は低いと考えられた。グリコピロニウムの P-gp、BCRP、OAT1、OAT3 及び OATP1B3 に対する阻害作用は認められなかった。また、グリコピロニウムは OCT1、OCT2、MATE1、MATE2-K、OATP1B1 及び OATP1B3 の基質であったが、OAT1、OAT3、P-gp 及び BCRP の基質ではなかった。

2.4.4 毒性試験

3 剤固定用量配合剤（BGF MDI）開発のために、ブデソニド（BD）、グリコピロニウム臭化物（GP）及びホルモテロールフマル酸塩水和物（FF）の 3 剤固定用量配合剤を用いた GLP 適用毒性試験を実施した。BGF MDI 製剤を用いて実施した試験は、ラット及びイヌにおける単回吸入投与毒性試験（非 GLP）及び 14 日間反復吸入投与毒性試験、並びにイヌにおける 3 カ月間反復吸入投与毒性試験である。これらの毒性試験に使用した BGF MDI 製剤は、有効成分含量が臨床試験用製剤に酷似しており [160/9.0/5.0 µg（ブデソニド／グリコピロニウム臭化物／ホルモテロールフマル酸塩水和物）]、臨床試験用製剤とほぼ同量の添加物（HFA-134a、DSPC 及び CaCl₂）を含有するものであった（表 1）。

表 1 毒性試験で使用した BGF MDI 製剤の組成（アクチュエーターからの放出量、µg）

	ブデソニド	グリコピロニウム臭化物	ホルモテロールフマル酸塩水和物	DSPC	CaCl ₂	HFA-134a
溶媒対照 MDI	0	0	0	249	17.6	62.5
BGF MDI	160	9.0	5.0	249	17.6	62.5

グリコピロニウム臭化物 9.0 µg はグリコピロニウム 7.2 µg に相当、ホルモテロールフマル酸塩水和物 5.0 µg はホルモテロール 4.8 µg に相当

更に、BD、FF 及び GP の各単剤について、ラット及びイヌを用いた単回吸入投与毒性試験及び 14 日間反復吸入投与毒性試験、並びにイヌを用いた 3 カ月間反復吸入投与毒性試験を実施し、2 剤配合剤 [ブデソニド／ホルモテロール（BFF）、ブデソニド／グリコピロニウム（BGP）及びグリコピロニウム／ホルモテロール（GFF）] についても同様に実施した。また、GP についてのみ、ラット及びイヌを用いた 6 カ月間試験、遺伝毒性試験、マウス及びラットを用いたがん原性試験、並びに生殖発生毒性試験を実施した。GP の遺伝毒性試験及び生殖発生毒性試験以外の吸入投与毒性試験で使用した製剤は、キャニスターの大きさ、充填重量及び製剤の濃度が様々であったが、吸入投与毒性試験はすべて、定性的に同様の MDI 製剤（DSPC、CaCl₂ 及び HFA-134a を含有）並びに容器及び施栓系を用いて実施し、溶媒対照群及び空気対照群を設けた。よって、これらの試験についても簡潔に報告し、有効成分及び添加物の安全性を裏付ける広範なデータを提示する。

本 3 剤固定用量配合剤（BGF）の遺伝毒性、がん原性及び生殖発生毒性は、個々の有効成分について広範なデータが存在し、本申請資料には各単剤の情報として提示するため、BGF の配合剤としてのこれら毒性試験は実施しなかった。個々の有効成分におけるデータを本申請書類に提示する。

2.4.4.1 単回吸入投与毒性試験

単回吸入投与毒性試験は、ラット及びイヌにおいて、3 剤固定用量配合剤（BGF）、単剤（BD、GP 及び FF）、並びに 2 剤配合剤（BFF、BGP 及び GFF）を用いて実施した。いずれの試験にお

いても各試験の MDI 製剤において投与可能な最大用量まで、忍容性は良好であり、すべての試験を通して一貫した結果が示された。ホルモテロールを含有するすべての製剤で、予測された心血管系及び呼吸器への影響が認められ、また、予測されたとおり、検討した用量範囲ではブデソニド又はグリコピロニウムに起因するいかなる所見も認められなかった。

2.4.4.2 反復吸入投与毒性試験

2.4.4.2.1 単剤

ブデソニド (BD) を用いた試験で観察された主な影響は、体重増加抑制、肥満、皮膚炎及び脱毛の発生頻度増加、リンパ系器官及び副腎の萎縮、胃潰瘍、総白血球数及びリンパ球数の減少、肝グリコーゲン増加、並びに高用量でみられた肝酵素上昇又は病理組織学的変化であり、糖質コルチコイドの薬理作用による典型的な影響であった。

ホルモテロール (FF) を用いた試験では、 β_2 -刺激薬の投与に関連してみられる一般的な所見（充血、頻脈、並びに高用量でみられた不整脈、心重量増加及び心筋線維化など）を除いて、有意な所見は認められなかった。

グリコピロニウム (GP) を用いた試験では、MDI 製剤によって制限される投与可能な最大用量まで投与したが、いずれの用量においても有意な所見は認められなかった。

2.4.4.2.2 2 剤配合剤

各 2 剤配合剤 (BFF、BGP、GFF) の同様の MDI 製剤を用いたラット（最長期間は 14 日間）及びイヌ（最長期間は 3 カ月間）における試験データから、各成分の用量及び配合比との関連において一貫した結果が得られた。ブデソニドを含有する製剤ではブデソニドにおいて予測される影響のみが認められ、グリコピロニウム／ホルモテロールの配合剤ではホルモテロールに予測される影響のみが認められたことから、これらの成分間に有害な相互作用が起こる可能性はないことが確認された。

2.4.4.2.3 3 剤配合剤

ラットでは、BGF を 1890/100/58、3810/204/118 及び 7910/421/244 $\mu\text{g/kg/日}$ （ブデソニド／グリコピロニウム／ホルモテロール）の用量で経鼻吸入によって 1 日 1 回、14 日間反復吸入投与した結果、副腎、肝臓、胃、並びに胸腺、脾臓、リンパ節及び骨髄を含むリンパ組織に病理組織学的変化が生じ、器官重量及び臨床病理学的検査を含む複数の評価項目にわたってこれを裏付ける変化が認められた。気道内にみられた変化は軽微であり、非特異的な影響であると判断された。また、体重減少が用量依存的に認められた。すべての被験物質投与群で早期死亡が用量依存的に観察され、ブデソニドの免疫抑制作用に起因する全身性細菌感染が原因であると考えられた。全用量群で、投与の影響がみられたパラメータの完全又は部分的な回復が認められた。この試験で観察された病理組織学的検査及び臨床病理学的検査における変化は、糖質コルチコイドの影響と考えられる特徴に一致しており、BGF 配合剤中のブデソニドに対する反応である可能性が高いと考えられた。この試験では、非常に高い用量を用いたため、NOAEL は決定できなかった。

イヌでは、BGF を 132/6.7/4.2、260/13/8.5 及び 428/22/14 $\mu\text{g/kg/日}$ （ブデソニド／グリコピロニウム／ホルモテロール）の用量でフェイスマスクを用いて 14 日間反復吸入投与した結果、臨床病理学的検査所見、器官重量及び病理組織学的所見に、糖質コルチコイドに対する特徴的な反応

を裏付ける変化が生じた。主な所見は、末梢血中の好中球数増加及びリンパ球数減少と器官重量の変化（副腎及び胸腺重量の減少並びに代謝要求の増大及び／又は脂質／グルコース代謝の変化に起因すると考えられる肝重量の増加）であり、これに一致する所見（副腎皮質萎縮、肝細胞の変化、並びに胸腺及びリンパ節皮質の細胞数減少）が病理組織学的検査において観察された。製剤中にグリコピロニウム及びホルモテロールが含有されていても、全体として予測されるブデソニドへの反応には影響を及ぼさないと考えられた。14 日間の回復期間後には、大半の動物で、投与の影響がみられたすべての組織に回復が認められ、血液学的検査、血液生化学的検査及び大部分の器官重量（胸腺を除く）のパラメータはすべて正常に回復した。病理組織学的所見は、肝臓では正常に回復したが、副腎及び胸腺では、軽減はしたものの依然としてある程度の変化が認められた。反復投与後に観察された一般状態所見は、主として水様便又は軟便であった。体重、眼科学的検査、心電図検査又は呼吸パラメータには、被験物質に関連した重大な変化は認められなかった。この試験では、比較的高用量を用いたため、NOAEL は決定されなかった。

同様に、イヌを用いた 3 カ月間反復吸入投与毒性試験では、雄雌のビーグル犬に、3 剤を配合した BGF MDI を 3.3/0.21/0.11、17/1.1/0.62 及び 60/3.5/2.0 µg/kg/日（ブデソニド／グリコピロニウム／ホルモテロール）の用量でフェイスマスクを用いて 90 日間反復吸入投与した。その結果、副腎、肝臓及び胸腺に、糖質コルチコイド投与の影響に一致する反応が生じ、これを裏付ける変化が病理学的評価項目（器官重量、臨床病理学的検査、病理組織学的検査など）に認められた。病理学的評価項目の全体を通じて、性差を示す一貫した変化は認められなかった。気道への影響は、いずれの投与群においても観察されなかった。投与に起因する特異的な器官重量の変化は、副腎重量の減少、肝重量の増加、及び胸腺重量の減少であった。これらの器官重量の変化は、副腎皮質萎縮（束状帯及び網状帯）の組織学的所見、グリコーゲン蓄積及び／又は代謝活性亢進（適応性変化）に一致する肝細胞の変化、並びに胸腺皮質のリンパ球数減少に一致する所見であった。臨床病理学的検査パラメータにみられた投与に起因する変化は、血液生化学的検査値における軽微な変化（肝酵素であるアルカリホスファターゼ及び γ-グルタミルトランスフェラーゼの軽微な上昇、並びにアルブミン及びトリグリセリドの軽微な上昇）であった。この試験では明確な NOEL は決定できなかったが、全体として低用量群でみられた影響（少数のイヌにおける軽微な肝細胞変化、及び軽微な胸腺皮質のリンパ球数減少）は軽微なものであり、この用量が NOAEL に相当すると判断された。この試験で観察された病理組織学的変化及び臨床病理学的検査における変化は、これまでに報告されている糖質コルチコイドの影響と考えられる特徴に一致していたことから、ブデソニドに起因する変化であると考えられた。本 3 剤配合剤の構成成分含有比率のために、グリコピロニウム又はホルモテロールに関連する有意な影響が生じないものと考えられた。

吸入投与毒性試験のまとめ：

結論として、ブデソニド、グリコピロニウム臭化物及びホルモテロールフマル酸塩水和物は既に幅広く研究され、医療用医薬品に利用されている。本 3 剤固定用量配合剤の毒性試験においては、有害な相互作用は発現しないことが確認され、本 3 剤配合剤の成分比率から予測された、ブデソニドに起因する有意な影響のみが認められた。

2.4.4.3 遺伝毒性試験

個々の有効成分について遺伝毒性が検討されていることから、BGF MDI を用いた遺伝毒性試験は実施していない。

一連の遺伝毒性試験において個別に検討した結果、ブデソニド、ホルモテロール及びグリコピロニウムはいずれも遺伝毒性を示さないと判断された（毒性試験の概要文 2.6.6.4 遺伝毒性試験を参照）。したがって、BGF MDI 製剤の遺伝毒性については、安全性上の懸念はない。

2.4.4.4 がん原性試験

個々の有効成分についてがん原性が検討されていることから、BGF MDI を用いたがん原性試験は実施していない。ブデソニド、ホルモテロール及びグリコピロニウムを用いて実施したがん原性試験の概要は、毒性試験の概要文 2.6.6.5 がん原性試験に示した。

ブデソニド（薬効クラスとしては糖質コルチコイド薬）がラットに肝腫瘍を誘発したのに対し、ホルモテロール（薬効クラスとしては β_2 刺激薬）はげっ歯類において子宮平滑筋腫又は卵巣間膜平滑筋腫を誘発した。しかし、これまでのところ、動物におけるこのようなクラスエフェクトと臨床との関連性は示されていない。グリコピロニウムには、がん原性は認められなかった。

2.4.4.5 生殖発生毒性試験

ブデソニド、ホルモテロール及びグリコピロニウムの個々の活性成分について生殖発生毒性が検討されているため、これら 3 剤の配合剤を用いた生殖発生毒性試験は実施していない。ブデソニド、ホルモテロール及びグリコピロニウムの生殖毒性試験の概要を 2.6.6.6 生殖発生毒性試験に示す。

ブデソニドの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、雄雌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、骨化遅延等がみられた。胎児の器官形成期投与試験では、母体の摂餌量の減少、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、胎児の胸骨の骨化遅延、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の周産期及び授乳期投与試験では、母体の摂餌量の減少、体重増加抑制、母体の胸腺の退縮・重量低下、出生児の眼瞼開裂日齢の促進が認められた。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、母体の体重増加抑制、体重減少、胎児体重の低下、発育遅延による骨格異常の増加が認められた（第 1 部 13 項シムビコート® タービュヘイラー® 毒性試験の概要文）。

ホルモテロールのラット妊娠前及び妊娠中・授乳期経口投与試験では、15 mg/kg/日群において、雄ラットの授胎能の低下、受精率及び胎児の形態異常が軽度に見られた。一方、3 mg/kg/日を投与した母動物では、胎児及び同腹児重量の減少が認められた。ラット胚・胎児発生に関する試験では、最高 1.2 mg/kg/日までホルモテロールを吸入投与したが、ラットの胎児発生に影響は認められなかった。ウサギ胚・胎児発生に関する経口投与試験では、3.5 mg/kg/日群では胎児発生に影響は認められなかったが、60 mg/kg/日群では肝臓被膜下嚢胞を伴う胎児の出現率の増加及び骨格変異を呈する胎児数の増加がみられた。ラット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では、ホルモテロールを高用量（3.4 mg/kg/日）経口投与しても出生児の発育、生殖機能あるいは受胎能力に影響は認められなかった（第 1 部 13 項シムビコート® タービュヘイラー® 毒性試験の概要文）。

グリコピロニウムについては、皮下投与による生殖発生毒性試験を実施した。

受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験では、雄ラットには交配前 4 週間、交配期間、及びその後剖検まで、雌ラットには交配前 2 週間以上、交配期間、及びその後妊娠 6 日（すなわ

ち、着床)まで皮下注射による投与を行った。雄における投与期間は 52 日間以上であった。生殖器系への影響として、卵巣、精巣上体及び精巣の絶対及び／又は相対器官重量の変化がみられたが、これらの変化は著しい体重減少に起因するものと考えられた。生殖能力には投与による影響が認められなかったことから、生殖機能に対するグリコピロニウムの NOAEL は雄雌ともに 10 mg/kg/日であった。しかし、投与期間中に観察された体重及び体重増加量の変化に基づくと、雄雌親動物に対する NOAEL は 1 mg/kg/日未満であった。

ラットの胚・胎児発生に関する試験では、妊娠 6～17 日の器官形成期に皮下投与した結果、10 mg/kg/日の投与で母体及び胎児の体重に影響がみられたことから、グリコピロニウムの母体毒性及び胚・胎児発生に対する NOAEL は 1 mg/kg/日であった。

ウサギの胚・胎児発生に関する試験では、妊娠 6～18 日の器官形成期にウサギに皮下投与した。最高用量の 10 mg/kg/日群で胎児体重のわずかな減少がみられたが、胚・胎児の生存又は発生に対する影響は認められなかった。1 mg/kg/日群では、胚・胎児発育への影響は認められなかった。母体毒性に対する NOAEL は、母動物の体重/体重増加量に変化が認められなかったことに基づいて 0.1 mg/kg/日とされたが、胚・胎児発生に対する NOAEL は 10 mg/kg/日群の胎児体重の減少に基づいて 1 mg/kg/日とされた。

ラットの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では、F₀ラットに、妊娠 6 日(着床)から分娩後 21 日目(離乳)まで皮下投与を行った。一部の F₁ 出生児を選択し、離乳後から性成熟期まで、交配試験及び離乳までの F₂ 出生児の哺育を含めて、評価を行った。1 及び 10 mg/kg/日群の F₁ 世代における新生児では、離乳前の期間に体重減少がみられたが、これら新生児に身体的、機能的及び行動の発達に影響は認められなかった。F₀ 世代の全身毒性に対する NOAEL は、高用量で、摂餌量、体重及び体重増加の減少が認められたことから、0.1 mg/kg/日であった。F₀ 世代の生殖毒性に対する NOAEL は受胎能、分娩及び母体に対する影響が認められなかったことから 10 mg/kg/日であった。F₁ 世代の雄及び雌の生殖毒性に対する NOAEL は、交配率、受胎能及び母体に対する影響が認められなかったことから、10 mg/kg/日であった。一方、F₁ 世代の出生児の生後発達に対する NOAEL は、10 mg/kg/日で一貫した出生児の体重減少(F₁ 世代の離乳前体重)が認められたため、1 mg/kg/日であった。

2.4.4.6 幼若動物を用いた毒性試験

予定している適応は成人のみを対象とした COPD の治療であるため、ブデソニド、ホルモテロール及びグリコピロニウムの配合剤については幼若動物を用いた毒性試験は実施していない。また、本申請資料では、個々の有効成分の試験についても言及しない。

2.4.4.7 局所刺激性試験

BGF MDI を用いた特別な局所刺激性試験は実施していない。BGF MDI については、ラット及びイヌを用いた 14 日間反復吸入投与毒性試験、並びにイヌを用いた 3 カ月間反復吸入投与毒性試験を実施している。また、単一成分及び 2 剤配合剤の MDI を用いた毒性試験(GP MDI を用いて実施した 6 カ月間反復吸入投与毒性試験及び 2 年間がん原性試験を含む)も実施されており、これらのすべての試験で同一の添加物及び製剤システムを使用した。これらの試験では、気道に、臨床使用において関連すると考えられる刺激反応、又は局所刺激性を示唆する病理組織学的所見は認められなかった。

2.4.4.8 添加剤

BD MDI、FF MDI 及び GP MDI（単剤）、BFF MDI、BGP MDI 及び GFF MDI（2 剤配合剤）及び BGF MDI（3 剤配合剤）は、多孔質粒子の技術を用いて製剤化されている。MDI 技術は、吸入可能な空気動学的粒子径の [] 多孔質粒子を基盤としている。[] 多孔質粒子は、DSPC 及び CaCl_2 で構成されている。本邦において、DSPC は新規添加物であることから、DSPC の安全性を評価した。

DSPC/ CaCl_2 を溶媒対照とした BD MDI、FF MDI 及び GP MDI の各単剤、2 剤配合剤、及び 3 剤配合剤の反復吸入毒性試験を実施したが、いずれの試験でも溶媒対照群と空気対照群（空気のみ吸入投与）の間に臨床的に意味のある差は認められなかった。BGF MDI を用いたイヌ 3 カ月間反復吸入投与毒性試験、並びに GP MDI のラット及びイヌにおける 6 カ月間反復吸入投与毒性試験、そして GP MDI のマウス及びラットを用いたがん原性試験において、溶媒対照群と空気対照群では影響に差が認められなかった。更に、DSPC+ CaCl_2 の 14 日間反復吸入毒性試験並びに DSPC 単独の遺伝毒性試験及び生殖発生毒性試験を実施した結果、BGF MDI の添加物としての DSPC の使用は安全であることが確認された。

2.4.4.9 不純物及び分解生成物に関する試験

2.4.4.9.1 ブデソニド

ブデソニドの原薬は、局外規収載品につき、不純物は局外規の規格により管理されている。ブデソニドに含まれる不純物/分解物の規格値は製剤の不純物に関するガイドラインにおける安全性確認の必要な閾値（1.0%）以下である（第 1 部 13 項シムビコート® タービューヘイラー® 毒性試験の概要文）。

2.4.4.9.2 ホルモテロール

ホルモテロールの原薬は、日本薬局方収載品につき、不純物は日本薬局方の規格により管理されている。ホルモテロールに含まれる不純物/分解物の規格値は製剤の不純物に関するガイドラインにおける安全性確認の必要な閾値（1.0%）以下である（第 1 部 13 項シムビコート® タービューヘイラー® 毒性試験の概要文）。

2.4.4.9.3 グリコピロニウム

BGF MDI 製剤の安定性試験において、3.2.P.5.5 Characterisation of Impurities in Drug Product に記載されているいずれの保管条件においても、グリコピロニウムの分解を示す所見は得られなかった。原薬の規格には、グリコピロニウムの個別規格設定不純物が 4 種類含まれている。製剤の規格には、欧州薬局方の不純物 [] も含まれている。原薬の強制分解試験から、主な分解経路は、エステル部分の加水分解による不純物 [] の生成であることが示された。欧州薬局方の不純物 [] 、不純物 [] 、及び不純物 [] は、原薬製造中の不純物であり、保管中に濃度が増大することはない。したがって、これらの不純物は原薬レベルで管理されており、製剤の規格には含まれていない。

類縁物質の構造は明らかになっており、製剤中における濃度は、ICH ガイドライン Q3A 及び Q3B に概略が示されている ICH の安全性確認閾値である原薬中 0.15%、製剤中 1.0%を下回る。毒性試験に用いたバッチにおけるこれら化合物の濃度及び予定されている製剤規格を毒性試験概要表 2.6.7.4 毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧 表 10 Toxicology: Drug Substance (Glycopyrrolate; inhalation aerosol) 及び表 11 Toxicology : Drug Substance (Glycopyrrolate; micronized powder) に示す。

2.4.5 総括及び結論

BGF MDI は、ICS であるブデソニド、LAMA であるグリコピロニウム及び LABA であるホルモテロールから成る固定用量 3 剤配合剤であり、COPD 患者に対する長期維持治療薬として開発された。

ブデソニドは、特有の動態学的特性を示す強力な糖質コルチコイドで、非臨床薬理試験において各種の抗アレルギー作用及び抗炎症作用を示した。吸入ブデソニドは、主に気道組織で不活性な脂肪酸エステルとして保持され、細胞内リパーゼによってブデソニドが徐々に再生されるため、長時間持続性の局所抗炎症作用を示すと考えられた。さらに、吸入ブデソニドは、全身循環に移行後、肝臓で速やかに不活化されることから、局所投与時の抗炎症作用と全身性副作用との分離に優れていると考えられた。ホルモテロールは強力で選択的な LABA で、摘出気管支収縮に対して迅速かつ持続的な弛緩作用を示した。また、喘息モデルへの吸入投与によって経口投与よりも低用量で気管支拡張作用を示し、その作用はサルブタモールより強力であった。グリコピロニウムは、気管及び気管支内の平滑筋細胞に存在するムスカリン受容体に作用して気管支拡張作用を示す LAMA である。ムスカリン受容体を発現させた CHO 細胞における競合結合データから、グリコピロニウムは、他のムスカリン受容体サブタイプに比較して M_2 受容体に対する選択性がわずかに低いことが示唆された。 M_3 受容体発現 CHO 細胞で、グリコピロニウムのメサコリン誘発細胞内カルシウム流入に対する抑制作用はアトロピンより約 10 倍強力であった。モルモット摘出気管のメサコリン誘発収縮に対する作用の評価では、グリコピロニウムの pA_2 値は 10.2 ± 0.1 （平均値 $\pm$ 標準誤差、 $n=4$ ）であった。また、ラットへの気管内投与によりメサコリン誘発気管支収縮を抑制した。

ホルモテロールとグリコピロニウムは作用機序が異なるため薬力学的薬物相互作用は生じないと考えられることから、併用時の効力を裏付ける試験及び副次的薬理試験は実施していないが、作用機序が異なるこれら 2 剤の気管支拡張薬を配合することにより、各成分を単独で使用した場合と比較して、肺機能に対して相加的な有効性が得られる可能性があると考えられた（Cazzola et al 2010）。

ブデソニド、グリコピロニウム及びホルモテロールのうちの 1 成分又は 2 成分を含む吸入剤は既に市販され、それぞれ臨床経験が十分蓄積され、安全性プロファイルが確認されている。そのため、ブデソニド／グリコピロニウム／ホルモテロール併用時の非臨床薬理試験を実施していないが、それぞれ固有の作用機序を有するホルモテロール及びグリコピロニウム等の気管支拡張薬に加え、ブデソニド等の抗炎症薬を併用することにより、気管支作用薬のみと比較すると臨床において肺機能や症状により大きな改善が得られると推察された。

安全性薬理に関連した項目について、BD MDI、FF MDI、GP MDI、GFF MDI 及び BGF MDI の反復吸入投与毒性試験の一部として評価した結果、中枢神経系、心血管系及び呼吸器系に対する新たな作用及び異常な作用は認められなかった。

ブデソニド、グリコピロニウム及びホルモテロール 3 剤配合投与時の薬物動態は、ラット及びイヌにおける 14 日間吸入投与毒性試験、並びにイヌにおける 3 カ月間吸入投与毒性試験の TK の結果から評価した。いずれの有効成分も吸収は速やかであり、概して初回の採血時点で最高血漿中濃度を示した。また、イヌに 3 カ月間吸入投与後の各有効成分の AUC は 3 剤配合及び各有効成分単独投与間で概ね同程度であり、TK の結果に薬物動態学的相互作用は認められなかった。

また、各有効成分の主な消失経路は異なっており、ブデソニドは主に CYP3A4 で代謝され、グリコピロニウムは主に未変化体として尿中排泄され、ホルモテロールは主にグルクロン抱合により消失する。したがって、薬物動態特性及び TK の評価結果から、ヒトにおいて 3 剤配合投与により薬物動態学的相互作用が生じる可能性は低いと考えられる。

同様に、ブデソニド、グリコピロニウム及びホルモテロールを配合剤として投与したとき、予期しない毒性は認められなかった。曝露量及び毒性には、概ね用量依存性が認められた。主要試験である 3 カ月間試験で、イヌに最高 60/3.5/2.0 µg/kg/日までの用量で本配合剤を投与したところ、ホルモテロールに起因する一過性かつ軽度の心拍数増加が認められたが、観察された影響の大半は、ブデソニドに起因するものであった（体重増加抑制、胸腺及び副腎皮質の萎縮、並びに肝細胞の変化等）。BGF MDI 製剤中の成分比率に基づいて予測されたとおり、投与に用いた用量範囲では、グリコピロニウムの投与と関連があると考えられる毒性は認められなかった。気道には、BGF MDI の有効成分及び添加物の投与と関連があると考えられる刺激徴候又は形態学的変化は観察されなかった。また、3 剤配合剤としての投与時に、個々の成分の効果に相乗作用は認められなかった。

BGF 及び個々の成分（BD、GP、FF）を投与したイヌにおける 3 カ月間試験で得られた NOAEL、並びに予定最大臨床用量（ブデソニド／グリコピロニウム／ホルモテロールを 640/36/20 µg/日）に対する曝露量比を表 2 に示す。

2.4 非臨床試験の概括評価

一般名：ブデソニド／グリコピロニウム臭化物／ホルモテロールフマル酸塩水和物

表 2 主要な 3 カ月間毒性試験における曝露量及びヒト対イヌの曝露量比

用量 ($\mu\text{g/kg/日}$)	ブデソニド		グリコピロニウム		ホルモテロール	
	AUC ($\text{pg}\cdot\text{h/mL}$) ^a	曝露量比 ^b	AUC ($\text{pg}\cdot\text{h/mL}$) ^a	曝露量比 ^b	AUC ($\text{pg}\cdot\text{h/mL}$) ^a	曝露量比 ^b
ブデソニド／ グリコピロニウム ／ホルモテロール						
3.3/0.21/0.11	356	0.06	nd^c	-	nd^c	-
17/1.1/0.62	2540	0.4	34	0.2	43	0.4
60/3.5/2.0	13500	2.2	661	4.5	347	3.2
ブデソニド						
3.4/-/-	263	0.04				
31/-/-	9590	1.6				
104/-/-	23100	3.8				
グリコピロニウム						
-/87/-			11400	77		
ホルモテロール						
-/-/4.5					1105	10
-/-/10					2995	27
-/-/14					2870	26

^a:試験 13 週のデータに基づく雌雄合算値。

^b:ヒトに対する動物の曝露量の比。ヒトにおける曝露量は、PT010018 臨床試験で、中等度ないし重度の COPD 患者に BGF を 1 日 2 回、7 日間投与した後に測定した。 C_{max} 及び AUC_{0-12} の平均値はそれぞれ 663/18/8.4 pg/mL 及び 3005/74/55 $\text{pg}\cdot\text{h/mL}$ であったことから、24 時間 AUC は 6010/148/110 $\text{pg}\cdot\text{h/mL}$ であると考えられる。

^c: nd : 検出限界以下

イヌを用いた 3 カ月間の反復吸入投与毒性試験では、NOAEL (3.3/0.21/0.11 $\mu\text{g/kg/日}$) における曝露量がヒトの曝露量に比べて低値であったが、この結果は予測できないものではない。ラット及びイヌはいずれも、 β_2 刺激薬及び糖質コルチコイドの薬理作用に対する感受性が高い動物であり、特にイヌは、 β_2 刺激薬及び糖質コルチコイドの双方に対してヒトよりも高い感受性を示すことが知られている。ヒトでは、BGF MDI の臨床用量で、気道においてブデソニド、グリコピロニウム及びホルモテロールのすべての望ましい薬理効果が得られ、かつ全身性副作用は少ないと予想される。

ブデソニドは、他の糖質コルチコイド薬と同様に、ラット及びウサギを用いた試験で催奇形性並びに胚傷害性を示した。ホルモテロールは、非常に高い用量においてのみ胚・胎児毒性、催奇形性及び雄の受胎能低下をもたらすことが示され、グリコピロニウムは、治療量の何倍もの用量においても生殖機能に対して有意な影響は認められなかった。糖質コルチコイドの使用経験に

より、げっ歯類はヒトよりも糖質コルチコイドによる催奇形作用を受けやすいことが示唆されており、妊婦を対象とした試験では、妊娠中にブデソニドを吸入しても異常が生じるリスクは増加しないことが示されている。しかしながら、妊娠中及び授乳中の BGF MDI の使用を検討する適切かつよく管理された臨床試験は実施されていないことから、妊娠中又は授乳中は、期待されるベネフィットが潜在的リスクを上回る場合にのみ BGF MDI を使用するべきである。

添加物として DSPC/CaCl₂ 及び HFA-134a を含有する種々の MDI 製剤において、複数の吸入投与毒性試験が実施されている。これらのすべての試験で、溶媒対照群（添加物のみ）及び空気対照群を設けた。BGF MDI を用いたイヌにおける 3 カ月間試験、GP MDI を用いたラット及びイヌにおける 6 カ月間試験並びにマウス及びラットにおけるがん原性試験で、溶媒対照群において空気対照群と比較して有害な所見は認められなかったことから、これらの添加物の安全性が裏付けられている。加えて、DSPC/CaCl₂ の反復吸入投与毒性試験、並びに DSPC 単独による遺伝毒性試験及び生殖毒性試験も実施しており、これらの試験でも安全性上の問題は認められていない。

ブデソニド、グリコピロニウム及びホルモテロールは、それぞれの一連の遺伝毒性試験において遺伝毒性を示さなかった。がん原性試験では、グリコピロニウムによる影響は認められなかったが、ブデソニドは肝腫瘍を誘発し、ホルモテロールはマウスで子宮平滑筋腫、ラットで卵巣間膜平滑筋腫を誘発した。しかし、この結果は、動物におけるこれらの化合物のクラスエフェクトに一致するものであり、臨床との関連性はない。したがって、BGF MDI には、がん原性に対する懸念はないと考えられる。

上記のように、各単剤についての毒性学的評価、配合剤を用いた吸入投与毒性試験、添加物に関する追加試験、並びに分解物の安全性確認試験により、BGF MDI の安全性が裏付けられた。

結論として、ブデソニド、グリコピロニウム及びホルモテロールは、炎症及び気管支収縮を軽減することにより COPD に対して相補的に強力な有効作用を発揮すると考えられる。また、3 剤配合投与による薬物動態学的相互作用が生じる可能性は低いと考えられる。ブデソニド、グリコピロニウム及びホルモテロールの配合剤を吸入投与したときに観察された毒性プロファイルは、糖質コルチコイドの毒性プロファイルに一致した。成分比率に起因して、β₂ 刺激薬による影響はほとんど認められず、グリコピロニウムによる影響は全くみられなかった。添加物又は本配合剤による予期しない毒性は観察されなかった。また、同時投与したときに慢性毒性又はがん原性が認められなかったことにより、添加物の安全性が裏付けられた。これらの結果は、ブデソニド、グリコピロニウム及びホルモテロールのそれぞれの完全な前臨床データとともに、BGF MDI の臨床使用を支持するものである。

2.4.6 参考文献一覧

Abrams et al 2006

Abrams P., Andersson K.E., Buccafusco J.J., Chapple C., de Groat W.C., Fryer A.D., et al. Muscarinic receptors: their distribution and function in body systems, and the implications for treating overactive bladder. Br J Pharmacol. 2006 Jul; 148(5): 565-578.

Cazzola et al 2010

Cazzola M, Molimard M. The scientific rationale for combining long-acting beta2-agonists and muscarinic antagonists in COPD. Pulm Pharmacol Ther. 2010 Aug; 23(4): 257-267.

2.4 非臨床試験の概括評価

一般名：ブデソニド／グリコピロニウム臭化物／ホルモテロールフマル酸塩水和物

Chen et al 2018

Chen N, Cui D, Wang Q, Wen Z, Finkelman RD, Welty D. In vitro drug–drug interactions of budesonide: inhibition and induction of transporters and cytochrome P450 enzymes. *Xenobiotica* 2018 June; 48(6):637-646

Sykes et al 2012

Sykes DA, Dowling MR, Leighton-Davies J, Kent TC, Fawcett L, Renard E, et al. The influence of receptor kinetics on the onset and duration of action and the therapeutic index of NVA237 and tiotropium. *J Pharmacol Exp Ther*. 2012 Nov; 343(2): 520-528.

Trifilieff et al 2015

Trifilieff A, Ethell BT, Sykes DA, Watson KJ, Collingwood S, Charlton SJ, et al. Comparing the cardiovascular therapeutic indices of glycopyrronium and tiotropium in an integrated rat pharmacokinetic, pharmacodynamic and safety model. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2015 Aug 15; 287(1): 9-16.