アイラミド配合懸濁性点眼液

CTD 第 2 部 CTD の概要（サマリー）

2.4 非臨床試験の概括評価

千寿製薬株式会社

目 次

2.4 非臨床試験の概括評価 3
2.4.1 非臨床試験計画概略 4
2.4.1.1 薬理試験 4
2.4.1.2 薬物動態試験 5
2.4.1.3 毒性試験 5
2.4.2 薬理試験 6
2.4.2.1 効力を裏付ける試験 6
2.4.2.1.1 ブリモニジン酒石酸塩 6
2.4.2.1.1.1 作用機序 6
2.4.2.1.1.2 眼圧下降作用 6
2.4.2.1.2 ブリンゾラミド 7
2.4.2.1.2.1 作用機序 7
2.4.2.1.2.2 眼圧下降作用 7
2.4.2.2 副次的薬理試験 7
2.4.2.2.1 ブリモニジン酒石酸塩 7
2.4.2.2.1.1 神経保護作用 7
2.4.2.2.2 ブリンゾラミド 8
2.4.2.2.2.1 視神経乳頭血流増加作用 8
2.4.2.3 安全性薬理試験 8
2.4.3 薬物動態試験 9
2.4.3.1 分析法 9
2.4.3.2 吸収 9
2.4.4 毒性試験 10
2.4.4.1 ブリンゾラミドの毒性試験 11
2.4.4.1.1 遺伝毒性試験 11
2.4.4.2 ブリモニジン酒石酸塩／ブリンゾラミドの毒性試験 12
2.4.4.2.1 局所刺激性試験 12
2.4.4.2.2 不純物の毒性試験 12
2.4.5 総括及び結論 13
2.4.6 参考文献 15

2.4 非臨床試験の概括評価

本項で使用した用語及び略号を表 2.4-1 に示した。

表 2.4-1 用語及び略語一覧表

用語及び略号	内容
cAMP	Cyclic adenosine monophosphate（環状アデノシン 1 リン酸）
CHL/IU 細胞	チャイニーズ・ハムスター肺由来線維芽細胞株
Dutch	Dutch-belted 種
HCO_3^-	重炭酸イオン
HPLC	高速液体クロマトグラフィー
JW	日本白色種
LC/MS/MS	高速液体クロマトグラフィー／タンデム質量分析
Na^+	ナトリウムイオン
QOL	Quality of life（生活の質）
RGC	Retinal ganglion cell（網膜神経節細胞）
TNF	Tumor necrosis factor（腫瘍壊死因子）
α_1受容体	α_1アドレナリン受容体
α_2受容体	α_2アドレナリン受容体

2.4.1 非臨床試験計画概略

0.1%ブリモニジン酒石酸塩／1%ブリンゾラミド配合懸濁性点眼剤は、緑内障及び高眼圧症治療を目的とした配合点眼剤である。ブリモニジン酒石酸塩及びブリンゾラミドは、それぞれ 0.1%ブリモニジン酒石酸塩点眼剤（アイファガン®点眼液 0.1%、以下アイファガン）及び 1%ブリンゾラミド懸濁性点眼剤の有効成分として既に承認、上市されている。

緑内障は、視神経と視野に特徴的変化を有し、通常、眼圧を十分に下降させることにより視神経障害を改善若しくは抑制しうる眼の機能的構造的異常を特徴とする疾患と定義されている [1)]。緑内障の視野障害の進行を抑制するためのエビデンスに基づいた唯一確実な治療法は眼圧を下降させることであり [2)3)4)]、通常は単剤による薬物療法から開始される。単剤での効果が不十分である場合に 2 剤以上の併用療法が行われるが、利便性の面で患者への負担が大きく、アドヒアランスの低下につながる可能性がある。近年では、多剤併用時においては、配合点眼剤の使用による患者のアドヒアランスや QOL の向上も考慮すべきであるとされているため [1)]、千寿製薬株式会社は、多剤併用療法が必要な患者の利便性及びアドヒアランス向上を目的とし、本剤の開発を開始することとした。

本剤は α_2 受容体作動薬であるブリモニジン酒石酸塩と炭酸脱水酵素阻害薬であるブリンゾラミドの配合点眼剤である。ブリモニジン酒石酸塩及びブリンゾラミドの各単剤（アイファガン又は 1%ブリンゾラミド懸濁性点眼剤）の薬理試験、薬物動態試験及び毒性試験は、それぞれ日本におけるアイファガン及びエイゾプト®懸濁性点眼液 1%の製造承認申請時に既に検討されている。海外で販売されている 1%ブリンゾラミド／0.2%ブリモニジン酒石酸塩配合懸濁性点眼剤（SIMBRINZA®、以下 SIMBRINZA）は、0.2%ブリモニジン酒石酸塩点眼剤及び 1%ブリンゾラミド懸濁性点眼剤の単剤よりも強い眼圧下降作用を示すことが確認されており、両成分の配合によって相加効果が得られることが示されている [5)6)]。また、SIMBRINZA の眼圧下降作用は、0.2%ブリモニジン酒石酸塩点眼剤及び 1%ブリンゾラミド点眼剤併用による眼圧下降作用と同程度であることが示されている [7)]。

2.4.1.1 薬理試験

本剤に配合されているブリモニジン酒石酸塩及びブリンゾラミドはともに、緑内障及び高眼圧症の治療において汎用されている。海外で実施された SIMBRINZA の臨床試験において、両成分を配合することにより相加効果が得られることが報告されており [5)6)]、その効果は、両成分の併用による眼圧下降効果と同程度であったことが示されている [7)]。また、ブリモニジンは眼圧下降作用とは別に直接的な神経保護作用を有しており、RGC を保護することによっても緑内障の視野障害の進行を抑止できると考えられている [8)]。

緑内障の発症及び視野障害の進行に眼血流障害が関与していると報告されており [9)]、眼血流障害の改善が期待できる点眼剤の選択は臨床的に意義があると考えられている [10)]。ブリンゾラミドは視神経乳頭血流増加作用を有していることから [11)12)]、眼血流障害を改善することによっても緑内障の視野障害の進行を抑止できると期待される。

以上の点から、本剤は 0.1%ブリモニジン酒石酸塩及び 1%ブリンゾラミドの配合により相加的な眼圧下降作用を示し、緑内障及び高眼圧症治療剤になり得ると考えられたため、本承認申請にあたり効力を裏付ける試験は実施しなかった。また、両成分の薬理作用も既に明らかになっており臨床使用にあたって懸念すべき事項はないことから、副次的薬理試験及び安全性薬理試験も実施しなかった。

2.4.1.2 薬物動態試験

本剤の点眼投与における薬物動態を明らかにするため、ウサギに単回点眼投与したときの血漿中ブリモニジン及び血液中ブリンゾラミド濃度について、各単剤を単回点眼投与したときと比較した。同様に、本剤又は各単剤を単回点眼投与したときの房水中ブリモニジン及びブリンゾラミド濃度についても比較した。

ブリモニジンの主要な代謝酵素はアルデヒドオキシダーゼであり、その大部分が代謝された後に腎排泄されることが報告されている[13)14)]。一方、ブリンゾラミドの主要な代謝酵素は CYP3A4 であり、その他に少なくとも 4 種の CYP 分子種、CYP2A6、CYP2B6、CYP2C8 及び CYP2C9 が代謝に関与すること、さらにブリンゾラミドは肝代謝のほか、腎排泄によっても消失することがエイゾプト®懸濁性点眼液 1%の製造承認申請時に報告されている。以上のことから、代謝及び排泄過程におけるブリモニジン及びブリンゾラミドの薬物動態学的相互作用が生じる可能性は低いと考え、本剤の代謝及び排泄に関しては新たな検討を実施しなかった。

2.4.1.3 毒性試験

本剤の開発にあたって、0.1%ブリモニジン酒石酸塩／1%ブリンゾラミド配合懸濁性点眼剤の眼局所における刺激性を確認する目的で、ウサギを用いた眼刺激性試験を実施した。本剤で使用するブリンゾラミドの製造方法は　申請法*　であることから、　申請法*　ブリンゾラミドの遺伝毒性についても評価した。

また、変異原性不純物の評価及び管理に関するガイドライン（平成 30 年 6 月 27 日薬生薬審発 0627 第 1 号）に基づき、*in silico* 予測による不純物の変異原性及び発がん性評価を実施した。さらに、ブリンゾラミド原薬の不純物の安全性評価を目的として、反復点眼投与毒性試験及び遺伝毒性試験を実施した。

＊新薬承認情報提供時に置換

2.4.2 薬理試験

2.4.2.1 効力を裏付ける試験

本剤の有効成分であるブリモニジン酒石酸塩及びブリンゾラミドについて、アイファガンの承認申請概要[15)16)]及び公表文献に基づき、作用機序及び眼圧下降作用に関する試験成績を総括した。

2.4.2.1.1 ブリモニジン酒石酸塩

2.4.2.1.1.1 作用機序

ブリモニジンはα_2受容体を選択的に刺激して、毛様体上皮における cAMP 産生を抑制することで房水産生を抑制し、更に、ぶどう膜強膜流出路を介した房水流出を促進させることにより眼圧下降作用を示すと考えられている[17)18)19)]。

1) 各種アドレナリン受容体に対する作用

受容体結合実験において、ブリモニジンは類薬である p-アミノクロニジンに比較して、α_1受容体よりもα_2受容体に高い親和性を示し、そのサブタイプの中でも特にα_{2A}受容体に対する選択性が高かった。

各種 α 受容体関連標本を用いた検討において、α_1受容体関連標本であるウサギ大動脈及び虹彩散大筋の収縮に対するブリモニジンの EC_{50} は p-アミノクロニジンより高く、接合部前 α_2受容体関連標本であるウサギ精輸管及び接合部後α_2受容体関連標本であるウサギ伏在静脈の弛緩に対するブリモニジンの EC_{50} は p-アミノクロニジンよりも低かった。このように受容体結合実験の結果に一致して、ブリモニジンは p-アミノクロニジンに比べてα_2受容体に対する高い選択性を有することが示された。

2) 房水動態に及ぼす影響

有色ウサギにおける房水産生に及ぼす影響を検討した結果、0.3%ブリモニジン酒石酸塩溶液は単回点眼投与により房水産生を投与前に比べて最大 43.9%減少させた（フルオロフォトメトリー法）。また、ウサギにおいてぶどう膜強膜流出路を介した房水流出を促進することも報告されていることから[20)]、ブリモニジンの眼圧下降作用は房水産生の抑制及びぶどう膜強膜流出路を介した房水流出の促進の 2 つの作用機序によるものと考えられた。

2.4.2.1.1.2 眼圧下降作用

正常眼圧の白色ウサギに 0.000015%–0.15%ブリモニジン酒石酸塩溶液を単回点眼投与した結果、最低用量から最高用量まで用量依存的な眼圧下降作用がみられた。

白色ウサギを用いた飲水負荷による高眼圧モデルにおいて、0.15%ブリモニジン酒石酸塩溶液を単回点眼投与した結果、基剤投与群に比べて有意な眼圧下降作用を示し、更に、2 度目の飲水負荷による眼圧上昇も抑制した。

正常眼圧の白色ウサギに 0.5%ブリモニジン酒石酸塩点眼剤を 1 日 2 回 28 日間点眼投与した結果、α_2作動に基づく眼圧下降作用の減弱は認められなかった。

正常眼圧の白色ウサギに 0.08%–0.8%ブリモニジン酒石酸塩点眼剤を 1 日 2 回 3 ヵ月間及び 6 ヵ月間点眼投与した結果、3 ヵ月目及び 6 ヵ月目のいずれの測定時点においても基剤投与群に比べて有意な眼圧下降が認められ、薬剤耐性を疑わせる作用の減弱は認められなかった。

2.4.2.1.2 ブリンゾラミド

2.4.2.1.2.1 作用機序

ブリンゾラミドは毛様体突起部のII型炭酸脱水酵素を特異的に阻害してHCO_3^-の生成を抑制し、それに伴いNa^+及び水の後房への輸送を抑えることで、房水産生を抑制して眼圧下降作用を示すと考えられている[21)22)23)24)25)]。

有色ウサギを用いたフルオロフォトメトリー試験では、1%ブリンゾラミド懸濁性点眼剤の点眼投与によって房水産生が抑制されることが示されている[25)]。また、サルを用いたレーザー誘発高眼圧モデルにおいても、1%ブリンゾラミド懸濁性点眼剤の点眼投与によって房水産生が抑制されることが示されている[25)]。一方で、ブリンゾラミドは房水流出には影響を及ぼさなかったことから、ブリンゾラミドの眼圧下降作用は房水産生の抑制によるものと考えられている[25)]。

2.4.2.1.2.2 眼圧下降作用

マウスを用いたマイクロビーズの前房内投与による高眼圧モデルにおいて、1%ブリンゾラミド懸濁性点眼剤の単回点眼投与によって、有意な眼圧下降作用が認められている[26)]。また、有色ウサギにおいても、1%ブリンゾラミド懸濁性点眼剤の点眼投与によって有意な眼圧下降作用が認められている[25)]。更に、サルを用いたレーザー誘発高眼圧モデルにおいて、1%ブリンゾラミド懸濁性点眼剤の点眼投与によって有意な眼圧下降作用が認められている[25)]。

2.4.2.2 副次的薬理試験

本剤の有効成分であるブリモニジン酒石酸塩及びブリンゾラミドについて、アイファガンの承認申請概要[15)16)]及び公表文献に基づき、神経保護作用及び視神経乳頭血流増加作用に関する試験成績を総括した。

2.4.2.2.1 ブリモニジン酒石酸塩

2.4.2.2.1.1 神経保護作用

EAAC1ノックアウトマウスの正常眼圧緑内障モデルにおいて、1.0%ブリモニジン酒石酸塩溶液を1日1回4週間点眼投与した結果、眼圧非依存的に進行するRGC死が抑制されることが確認されている[27)]。

ラットを用いた視神経挫滅モデルにおいて、部分的に与えた傷害は直接傷害されなかったRGCにも二次的に細胞死を誘導する。ブリモニジン酒石酸塩を0.15 mg/kgの用量で腹腔内投与した結果、この二次的な傷害が抑制され、基剤に比べて約2倍の数のRGCを生存させることが確認されている[28)]。その作用はα_2受容体を介しており、β遮断薬ではRGCの減少は抑制されなかった。

ラットを用いたTNF誘発視神経変性モデルにおいて、1、10及び100 μMブリモニジン酒石酸塩溶液を硝子体内投与した結果、TNFに誘導される軸索変性が用量依存的に抑制されることが確認されている[29)]。

RGC及びその軸索の消失は緑内障性視神経障害の本質であり[30)]、ブリモニジンが有する神経保護作用は緑内障の視野障害の進行抑止につながると期待される。更に、正常眼圧緑内障患者を対象とした臨床試験において、0.2%ブリモニジン酒石酸塩点眼剤が0.5%チモロール点眼剤よりも有意に視野障害の進行を抑制することが確認されている[8)]。

2.4.2.2.2 ブリンゾラミド

2.4.2.2.2.1 視神経乳頭血流増加作用

有色ウサギにおいて、レーザースペックルフローグラフィー法[11)]及びレーザードップラーフローメトリー法[12)]を用いて視神経乳頭血流量を測定した結果、1%ブリンゾラミド懸濁性点眼剤[11)]及び 2%ブリンゾラミド懸濁液[12)]の点眼投与によって有意な視神経乳頭血流量の増加が認められている。

緑内障の発症及び視野障害の進行に眼血流障害が関与していると報告されており[9)]、眼血流障害の改善が期待できる点眼剤の選択は臨床的に意義があると考えられている[10)]。したがって、ブリンゾラミドが有する視神経乳頭血流増加作用は緑内障の視野障害の進行抑止につながると期待される。

2.4.2.3 安全性薬理試験

本剤は、α_2 受容体活性化作用を有するブリモニジン酒石酸塩と炭酸脱水酵素阻害作用を有するブリンゾラミドの配合剤である。ブリモニジン酒石酸塩及びブリンゾラミドの各単剤は本邦において十分な併用実績があるため[31)]、本剤は医薬品の臨床試験及び製造販売承認申請のための非臨床安全性試験の実施についてのガイダンス（平成 22 年 2 月 19 日薬食審査発 0219 第 4 号、以下、ICH M3 ガイダンス）の「臨床での十分な併用投与経験がある後期開発ステージの 2 つの被験薬による配合剤」に該当する。当該配合剤について、ICH M3 ガイダンスでは「臨床試験あるいは製造販売承認のための配合剤としての毒性試験は、毒性学的に大きな懸念がない限り、一般的に必要ない」とされている。薬理作用として、ブリモニジン酒石酸塩では中枢神経系、心血管系及び膵臓への影響[32)]が、ブリンゾラミドを含む炭酸脱水酵素阻害剤では水・電解質代謝への影響[33)]が一般的に知られている。両有効成分の作用機序の違いから、これらを配合した際に薬理作用の相加的あるいは相乗的な増強による安全性上の懸念が生じる可能性は低いと考えられた。

以上のことから、本剤の安全性薬理試験は実施しなかった。

2.4.3 薬物動態試験

2.4.3.1 分析法

ウサギ血漿及び房水中ブリモニジン並びに血液及び房水中ブリンゾラミド濃度は、HPLC 法又は LC/MS/MS 法より測定した（2.6.4.2）。

2.4.3.2 吸収

ウサギに本剤を単回点眼投与したときの血漿中ブリモニジン及び血液中ブリンゾラミド並びに房水中ブリモニジン及びブリンゾラミド濃度を、各単剤を単回点眼投与したときと比較した。これらの濃度は、いずれも本剤と各単剤で同程度であった（2.6.4.3）。

2.4.4 毒性試験

ブリモニジン酒石酸塩及びブリンゾラミドをそれぞれ有効成分とする点眼剤は既に国内で上市されており、両点眼剤の安全性は評価されている。また、ブリモニジン酒石酸塩及びブリンゾラミドの各単剤は本邦において十分な併用実績があるため[31]、本剤はICH M3ガイダンスの「臨床での十分な併用投与経験がある後期開発ステージの2つの被験薬による配合剤」に該当する。当該配合剤について、ICH M3ガイダンスでは「臨床試験あるいは製造販売承認のための配合剤としての毒性試験は、毒性学的に大きな懸念がない限り、一般的に必要ない」とされている。さらに、米国ではブリモニジン酒石酸塩を本剤の2倍量含有する1%ブリンゾラミド／0.2%ブリモニジン酒石酸塩配合懸濁性点眼剤であるSIMBRINZAが既に上市されている。

以上のことから、本剤の開発においては、臨床における併用投与実績に基づき配合剤としての慢性毒性試験は必要ないと判断し、製剤の評価としては本剤の眼刺激性試験のみを実施した。また、本剤の原薬であるブリンゾラミドの製造方法*として　申請法*　を選択したことから（2.3.S.2.2）、　申請法*　ブリンゾラミドの遺伝毒性を評価した。さらに、その他の試験として、*in silico*予測による不純物の変異原性及び発がん性評価、並びにブリンゾラミド原薬の不純物について、一般毒性試験、細菌を用いる復帰突然変異試験及び哺乳類培養細胞を用いる染色体異常試験を実施した。表 2.4-2に本剤の毒性試験プログラムを示した。

＊新薬承認情報提供時に置換

表 2.4-2　毒性試験プログラム

試験の種類及び期間	投与経路	試験系	GLP 適用	項目番号
遺伝毒性試験				
細菌を用いる復帰突然変異試験（　申請法*　ブリンゾラミド）	*In vitro*	ネズミチフス菌、大腸菌	適	2.6.6.4.1.1
哺乳類培養細胞を用いる染色体異常試験（　申請法*　ブリンゾラミド）	*In vitro*	CHL/IU 細胞	適	2.6.6.4.1.2
マウスを用いる小核試験（　申請法*　ブリンゾラミド）	経口	Crl:CD1 マウス	適	2.6.6.4.2.1
小核誘発機序解明のための試験				
マウスを用いる小核試験（　非申請法*　ブリンゾラミド及び　申請法*　ブリンゾラミド）	経口	Crl:CD1 マウス	非適	2.6.6.4.2.2
マウスを用いる染色体異常試験（　申請法*　ブリンゾラミド）	経口	Crl:CD1 マウス	非適	2.6.6.4.2.3
マウスを用いる小核誘発機序解明のための試験（　申請法*　ブリンゾラミド）	経口	Crl:CD1 マウス	非適	2.6.6.4.2.4
局所刺激性試験				
7 日間眼刺激性試験	点眼	JW ウサギ	適	2.6.6.7
その他の毒性試験 不純物の毒性試験				
In silico 予測による不純物の変異原性及び発がん性評価試験	–	*In silico*	非適	2.6.6.8.1.1
13 週間反復点眼投与毒性試験	点眼	Dutch ウサギ	適	2.6.6.8.1.2
細菌を用いる復帰突然変異試験	*In vitro*	ネズミチフス菌、大腸菌	適	2.6.6.8.1.3
哺乳類培養細胞を用いる染色体異常試験	*In vitro*	CHL/IU 細胞	適	2.6.6.8.1.4

2.4.4.1　ブリンゾラミドの毒性試験

2.4.4.1.1　遺伝毒性試験

細菌を用いた復帰突然変異試験において、　申請法*　ブリンゾラミドを 156～5000 μg/プレートの計 6 用量で評価した結果、代謝活性化の有無に関わらず遺伝子突然変異誘発性は認められなかった（2.6.6.4.1.1）。また、CHL/IU 細胞を用いた染色体異常試験では、384 μg/mL（1 mM）を最高濃度とし、以下 192 及び 96.0 μg/mL の計 3 濃度について染色体異常を観察した結果、代謝活性化の有無に関わらず　申請法*　ブリンゾラミドは染色体異常を誘発しなかった（2.6.6.4.1.2）。

マウスを用いた小核試験において、1000 mg/kg を最高用量として以下 500 及び 250 mg/kg の計 3 用量を単回経口投与し、投与 24、48 及び 72 時間後に骨髄塗抹標本を作製した。その結果、小核を有する多染性赤血球の出現頻度は 250 mg/kg 群では陰性対照群と比較して統計学的に有意な増加は認められなかったが、500 及び 1000 mg/kg 群では統計学的に有意な増加が認められた（2.6.6.4.2.1）。

ブリンゾラミドへの　申請法*　と小核誘発との関連性を明らかにするために、　申請法*　及び非申請法ブリンゾラミド*を用いた *in vivo* 小核試験を実施した。　申請法*　ブリンゾラミドは 1000 mg/kg の 1 用量、　非申請法*　ブリンゾラミドは 1000 mg/kg を最高用量として以下 500 及

＊新薬承認情報提供時に置換

び 250 mg/kg の計 3 用量をマウスに単回経口投与し、それぞれ投与 48 及び 72 時間後に骨髄塗抹標本を作製した。その結果、　申請法*　の有無に関わらずブリンゾラミドは小核誘発性を示した（2.6.6.4.2.2）。

ブリンゾラミドの小核誘発機序を明らかにするため、*in vivo* 染色体異常試験及び抗動原体抗体を用いた検討を行った。*In vivo* 染色体異常試験では　申請法*　ブリンゾラミド 1000 mg/kg をマウスに単回経口投与し、投与 24、48 及び 72 時間後に染色体異常の有無を確認した。その結果、

申請法*　ブリンゾラミドは骨髄細胞への染色体構造異常及び倍数性異常誘発作用を有さなかった（2.6.6.4.2.3）。また、抗動原体抗体を用いた検討では、　申請法*　ブリンゾラミド 1000 mg/kg をマウスに単回経口投与し、投与 48 及び 72 時間後に骨髄塗抹標本を作製した。その結果、　申請法*　ブリンゾラミドの投与により動原体を有する幼若赤血球の有意な増加が認められたことから、異数性変化により小核が誘発されていることが示唆された。なお、　申請法*　ブリンゾラミドを投与したマウスでは、小核を誘発することが知られている血中 pH 及び体温の低下も認められた。このことから、ブリンゾラミドの小核誘発性は生理的変化に伴う二次的な反応であり、染色体構造への直接的な作用ではないと考えられた（2.6.6.4.2.4）。

2.4.4.2 ブリモニジン酒石酸塩／ブリンゾラミドの毒性試験

2.4.4.2.1 局所刺激性試験

白色ウサギに本剤を 1 回 50 µL、1 日 4 回、約 3 時間間隔で 7 日間反復点眼投与し眼刺激性を評価した試験では、被験物質投与に関連した眼の異常は認められなかった（2.6.6.7）。

2.4.4.2.2 不純物の毒性試験

本剤及びその原薬であるブリンゾラミドの不純物について、変異原性不純物の評価及び管理に関するガイドライン（平成 30 年 6 月 27 日薬生薬審発 0627 第 1 号）に従い、*in silico* 予測による不純物の変異原性及び発がん性評価を実施した結果、評価した不純物のうち 物質イをクラス 2 に、物質ロ*をクラス 3 に分類した。これらの不純物の許容限度値は 1.5 µg/day に設定した。その他の不純物は、いずれもクラス 5 に分類した（2.6.6.8.1.1）。

0.1%ブリモニジン酒石酸塩／1%ブリンゾラミド配合懸濁性点眼剤にブリンゾラミド原薬の不純物（類縁物質 B [redacted]%、類縁物質 C [redacted]%、類縁物質 D [redacted]%及び類縁物質 E [redacted]%）を添加した投与液、並びに 0.1%ブリモニジン酒石酸塩／1%ブリンゾラミド配合懸濁性点眼剤を有色ウサギに 1 日 4 回、13 週間反復点眼投与した試験では、不純物の存在による毒性プロファイルの違いは認められなかった（2.6.6.8.1.2）。

0.1%ブリモニジン酒石酸塩／1%ブリンゾラミド配合懸濁性点眼剤にブリンゾラミド原薬の不純物（類縁物質 B [redacted]%、類縁物質 C [redacted]%、類縁物質 D [redacted]%及び類縁物質 E [redacted]%）を添加した被験液を、細菌を用いた復帰突然変異試験により評価した結果、代謝活性化の有無に関わらずいずれの菌株においても、遺伝子突然変異誘発性は認められなかった（2.6.6.8.1.3）。また、0.1%ブリモニジン酒石酸塩／1%ブリンゾラミド配合懸濁性点眼剤にブリンゾラミド原薬の不純物（類縁物質 B [redacted]%、類縁物質 C [redacted]%、類縁物質 D [redacted]%及び類縁物質 E [redacted]%）を添加した被験液を、CHL/IU 細胞を用いた *in vitro* 染色体異常試験により評価した結果、385 µg/mL（ブリンゾラミド量として）の濃度では代謝活性化の存在下で染色体異常を誘発したが、193 µg/mL（ブリンゾラミド量として）の濃度では染色体異常を誘発しなかった（2.6.6.8.1.4）。

＊新薬承認情報提供時に置換

2.4.5 総括及び結論

本剤に配合されているブリモニジン酒石酸塩及びブリンゾラミドはともに、緑内障及び高眼圧症の治療において汎用されている。海外で実施された SIMBRINZA の臨床試験において、両成分を配合することにより、0.2%ブリモニジン酒石酸塩点眼剤及び 1%ブリンゾラミド懸濁性点眼剤の単剤よりも強い眼圧下降作用を示し、相加効果が得られることが報告されている。また、その効果は、各単剤の併用による眼圧下降作用と同程度であったことが示されていることから、効力を裏付ける試験は実施しなかった。さらに、両成分の薬理作用は明らかになっており臨床使用にあたって懸念すべき事項はないことから、副次的薬理試験及び安全性薬理試験も実施しなかった。

本剤の点眼投与における薬物動態を明らかにするため、ウサギを用いて本剤を点眼投与後の全身及び房水移行について評価した。本剤を点眼投与後の全身及び房水移行は、各単剤を点眼投与したときと同程度であった。

本剤の眼局所における安全性を確認する目的で、ウサギを用いた 7 日間反復点眼投与による眼刺激性試験を実施した結果、特記すべき所見は認められなかった。

ブリンゾラミドの 製造方法* が　申請法*　であることから、　申請法*　ブリンゾラミドの遺伝毒性について評価した。また、原薬であるブリンゾラミド由来の不純物が含まれることから、反復点眼投与毒性試験及び遺伝毒性試験により不純物が及ぼす影響についても評価した。

申請法*　ブリンゾラミドの遺伝毒性について評価した結果、　申請法*　ブリンゾラミドの遺伝毒性試験では、復帰突然変異試験及び哺乳類培養細胞を用いた染色体異常試験においては陰性であったが、小核試験において陽性となった。しかし、ブリンゾラミドの小核誘発性に　申請法*　の有無による違いはなく、また、ブリンゾラミドは生理的変化を伴う二次的な反応により小核を誘発し、その機序には異数性が関与していると考えられた。本剤の臨床使用における全身用量は小核試験の陰性用量に比べて約 7500 倍低いことから、本剤の臨床使用にあたり遺伝毒性の懸念はないと判断した。

ブリンゾラミド原薬の不純物の安全性評価の一環として、製剤にこれら不純物を添加した被験液を用いて哺乳類培養細胞を用いた染色体異常試験を実施した結果、代謝活性化の存在下において、最高用量の 385 μg/mL（ブリンゾラミドの量として）で染色体構造異常及び倍数性異常誘発作用が認められた。しかし、マウスを用いた *in vivo* 染色体異常試験では、ブリンゾラミド 1000 mg/kg 投与群で染色体構造異常及び倍数性異常誘発作用は認められなかった。すなわち、*in vivo* 染色体異常試験ではブリンゾラミド不純物が推定 [redacted]μg/mL 全身で曝露されており、*in vitro* 染色体異常試験で陽性反応が認められた被験液中に含まれる不純物の最大量（[redacted]μg/mL）より約 2 倍多くブリンゾラミド不純物が曝露されているが、陰性であることから、生体で染色体異常を誘発することはないと判断した。

ブリンゾラミド原薬の規格値からブリンゾラミド不純物の臨床 1 日最大投与量を算出すると約 [redacted]μg/kg/日である。マウスを用いた小核試験における陰性用量（250 mg/kg）では、ブリンゾラミド不純物は最小でも [redacted] μg/kg/日投与されている。このことから、ブリンゾラミド不純物の臨床 1 日最大投与量より約 750 倍多く投与された試験条件においても小核誘発が認められていないことから、不純物の遺伝毒性の懸念はないと考える。さらに、不純物を含有した被験液又は投与液を使用した細菌を用いた復帰突然変異試験において遺伝毒性は認められず、13 週間反復点眼試験において明らかな毒性は認められなかった。

したがって、本剤の臨床使用における安全性の懸念はないと判断した。

＊新薬承認情報提供時に置換

以上のことから、本剤は各単剤よりも強い眼圧下降作用を示し、さらに臨床使用上安全性の懸念はないと考えられ、緑内障及び高眼圧症の治療において有用であると期待された。

2.4.6 参考文献

1)日本緑内障学会緑内障診療ガイドライン作成委員会. 緑内障診療ガイドライン 第 4 版. 日眼会誌. 2018;122:5-53.

2)The Collaborative Normal-Tension Glaucoma Study group. Comparison of glaucomatous progression between untreated patients with normal-tension glaucoma and patients with therapeutically reduced intraocular pressures. Am J Ophthalmol. 1998;126:487-97.

3)The Collaborative Normal-Tension Glaucoma Study group. The effectiveness of intraocular pressure reduction in the treatment of normal-tension glaucoma. Am J Ophthalmol. 1998;126:498-505.

4)The Advanced Glaucoma Intervention Study Investigators. The Advanced Glaucoma Intervention Study (AGIS): 7. The relationship between control of intraocular pressure and visual field deterioration. Am J Ophthalmol. 2000;130:429-40.

5)Katz G, Dubiner H, Samples J, Vold S, Sall K. Three-month randomized trial of fixed-combination brinzolamide, 1%, and brimonidine, 0.2%. JAMA Ophthalmol. 2013;131:724-30.

6)Aung T, Laganovska G, Hernandez Paredes TJ, Branch JD, Tsorbatzoglou A, Goldberg I. Twice-daily brinzolamide/brimonidine fixed combination versus brinzolamide or brimonidine in open-angle glaucoma or ocular hypertension. Ophthalmology. 2014;121:2348-55.

7)Gandolfi SA, Lim J, Sanseau AC, Parra Restrepo JC, Hamacher T. Randomized trial of brinzolamide/brimonidine versus brinzolamide plus brimonidine for open-angle glaucoma or ocular hypertension. Adv Ther. 2014;31:1213-27.

8)Krupin T, Liebmann JM, Greenfield DS, Ritch R, Gardiner S; Low-Pressure Glaucoma Study Group. A randomized trial of brimonidine versus timolol in preserving visual function: results from the low-pressure glaucoma treatment tudy. Am J Ophthalmol. 2011;151: 671-81.

9)Nakazawa T. Ocular Blood Flow and Influencing Factors for Glaucoma. Asia Pac J Ophthalmol 2016;5: 38-44.

10)安樂礼子．緑内障点眼薬の持つ血流改善作用．眼科グラフィック．2017;6: 332-44.

11)Dong YR, Huang SW, Cui JZ, Yoshitomi T. Effects of brinzolamide on rabbit ocular blood flow in vivo and ex vivo. Int J Ophthalmol. 2018;11:719-25.

12)Barnes GE, Li B, Dean T, Chandler ML. Increased Optic Nerve Head Blood Flow After 1 Week of Twice Daily Topical Brinzolamide Treatment in Dutch-Belted Rabbits. Surv Ophthalmol. 2000;44.Suppl 2: S131-40.

13)アイファガン®点眼液 0.1% CTD2.4 非臨床に関する概括評価 2.4.3.4 代謝. 千寿製薬株式会社.

14)アイファガン®点眼液 0.1% CTD2.4 非臨床に関する概括評価 2.4.3.5 排泄. 千寿製薬株式会社.

15)アイファガン点眼液 0.1% CTD 2.4 非臨床に関する概括評価 2.4.2 薬理試験. 千寿製薬株式会社.

16)アイファガン点眼液 0.1% CTD 2.6 非臨床試験の概要文及び概要表 2.6.2 薬理試験の概要文. 千寿製薬株式会社.

17)Burke J, Schwartz M. Preclinical evaluation of brimonidine. Surv Ophthalmol. 1996;41 Suppl 1:S9-18.

18)Burke JA, Potter DE. Ocular effects of a relatively selective α2 agonist (UK-14, 304-18) in cats, rabbits and monkeys. Curr Eye Res. 1986;5:665-76.

19)Toris CB, Gleason ML, Camras CB, Yablonski ME. Effects of brimonidine on aqueous humor dynamics in human eyes. Arch Ophthalmol. 1995;113:1514-7.

20)Lee PY, Serle JB, Podos SM, Severin C. Time course of the effect of UK 14304-18 (brimonidine tartrate) on rabbit uveoscleral outflow. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 1992;33 Suppl:1118.

21)中島　正之．新しい緑内障治療薬：点眼用炭酸脱水酵素阻害剤．あたらしい眼科．1993;10:

959-64.
22)Gabelt BT, Kaufman PL. Production and flow of aqueous humor. In: Levin LA, Nilsson SFE, Hoeve JV, Wu SM, Kaufman PL, Alm A. Adler's physiology of the eye. 11th ed. Amsterdam: Elsevier; 2011. 274-307.
23)DeSantis L. Preclinical overview of brinzolamide. Surv Ophthalmol. 2000;44 Suppl 2: S119-29.
24)Iester M. Brinzolamide ophthalmic suspension: a review of its pharmacology and use in the treatment of open angle glaucoma and ocular hypertension. Clin Ophthalmol. 2008;2:517-23.
25)Toris CB, Zhan GL, McLaughlin MA. Effects of brinzolamide on aqueous humor dynamics in monkeys and rabbits. J Ocul Pharmacol Ther. 2003;19:397-404.
26)Yang Q, Cho KS, Chen H, Yu D, Wang WH, Luo G, et al. Microbead-Induced Ocular Hypertensive Mouse Model for Screening and Testing of Aqueous Production Suppressants for Glaucoma. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 2012;53:3733-41.
27)Semba K, Namekata K, Kimura A, Harada C, Mitamura Y, Harada T. Brimonidine prevents neurodegeneration in a mouse model of normal tension glaucoma. Cell Death Dis. 2014;5:e1341.
28)Yoles E, Wheeler LA, Schwartz M. α2-adrenoreceptor agonists are neuroprotective in a rat model of optic nerve degeneration. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 1999;40:65-73.
29)Kitaoka Y, Kojima K, Munemasa Y, Sase K, Takagi H. Axonal protection by brimonidine with modulation of p62 expression in TNF-induced optic nerve degeneration. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol. 2015;253:1291-6.
30)三宅　誠司、稲谷　大．緑内障の病態．Frontiers in Glaucoma, 2017;53:44-50.
31)2014 年 4 月～2018 年 3 月における縮瞳薬及び緑内障治療剤：局所用の使用状況．株式会社 JMDC.
32)アイファガン®点眼液 0.1% CTD2.6.2 薬理試験の概要文 2.6.2.4 安全性薬理試験 千寿製薬株式会社.
33)Edwin KJ. 第 28 章 利尿薬．In: 高折 修二、福田 英臣、赤池 昭紀、石井 邦雄、監訳．グッドマン・ギルマン薬理書［上巻］薬物治療の基礎と臨床．第 11 版．東京：廣川書店；2007. p. 929-34.