NPF-08

2.4 非臨床試験の概括評価

日本製薬株式会社

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 3
2.4.2 薬理試験 4
2.4.3 薬物動態試験 5
2.4.4 毒性試験 6
2.4.5 総括及び結論 8
2.4.6 参考文献 9

略号及び用語の定義一覧

略号定義一覧

略号	省略前の表記
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
NOAEL	No Observed Adverse Effect Level：無毒性量
OSP	Oral Sodium Phosphate：経口リン酸ナトリウム

2.4 非臨床試験の概括評価

2.4.1 非臨床試験計画概略

大腸内視鏡検査の前処置として、腸管内容物の除去は必須であり、この前処置に用いられる薬剤は腸管洗浄剤と称される。本邦では、ポリエチレングリコールと各種電解質を含有する製剤及び塩類下剤であるクエン酸マグネシウム製剤が主として用いられている。

本邦で既承認の腸管洗浄剤はその味や服用量が多いことを理由として患者受容性が高いとは言えない状況である。患者受容性が低くなることで、腸管洗浄効果が不十分となる可能性があり、大腸内視鏡検査時における診断、観察及び治療に支障をきたす場合がある。更に、患者受容性が低いことは、被検者の大腸内視鏡検査の受診意欲低下につながることが懸念されることから、臨床現場では有効性、安全性に遜色がなく、より患者受容性が高い製剤の開発が望まれている。

NPF-08（以下、「本剤」）は有効成分として無水硫酸ナトリウム、硫酸カリウム及び硫酸マグネシウム水和物を含有し、これら 3 種の硫酸塩は、日本薬局方に収載されており、いずれも瀉下作用を目的とした医薬品として使用されている。これら硫酸塩の水溶液中で解離して生じる硫酸イオンが、塩類下剤として腸管内の浸透圧を増加させることで体内から腸管内に水分が移動し、腸管内水分量が増加することで腸管洗浄効果を発揮する。

なお、硫酸塩の配合比率は、米国で実施された 3 つの第 I 相臨床試験（Baylor 001-022 試験、Baylor 005-082 試験及び Baylor006-181 試験）の結果から決定されている。

以上の背景から、本剤を用いた新たな薬理試験は実施していないが、効力を裏付ける薬理作用及び安全性薬理に関わる心血管系への作用については、ラット及びイヌを用いた BLI800 の 28 日間反復経口投与毒性試験の結果から考察した。

本剤を用いた非臨床薬物動態試験は実施していない。本剤の有効成分である無水硫酸ナトリウム、硫酸カリウム及び硫酸マグネシウム水和物は、製剤液体中ではいずれも解離して硫酸イオン、ナトリウムイオン、カリウムイオン及びマグネシウムイオンとして存在していると考えられる。それらの薬物動態に関して文献報告並びに米国で実施された BLI800（Braintree 社）の臨床薬物動態試験の結果[1)]から考察した。

本剤の市販予定製剤の処方は、Braintree 社が開発し海外で市販されている製剤とは異なるが、有効成分である硫酸塩の組成は同一であることから、本剤の非臨床安全性については Braintree 社が実施した BLI800 のラット及びイヌを用いた反復投与毒性試験により評価した（表 2.4.1-1）。

表 2.4.1-1 BLI800 の毒性試験一覧

試験の種類	動物種	投与方法	投与期間	GLP 適用
反復投与毒性試験	ラット	経口	7 日間	非適用
反復投与毒性試験	ラット	経口	28 日間	適用
反復投与毒性試験	イヌ	経口	7 日間	非適用
反復投与毒性試験	イヌ	経口	28 日間	適用

なお、本剤は新医療用配合剤であることから、「医薬品の承認申請について」（薬食発 1121 第 2 号、平成 26 年 11 月 21 日）、第 2 項「承認申請書に添付すべき資料」に従い、単回投与毒性、反復投与毒性及び局所刺激性を中心に評価した。

BLI800 の単回投与毒性試験は実施していないが、BLI800 のラット及びイヌを用いた反復投与毒性試験では技術的に投与可能な最大量が投与されており、これらの試験成績から本剤の急性毒性は評価可能であると判断した。併せて、反復投与毒性試験の試験成績から本剤の局所刺激性を評価した。また、本剤の有効成分である 3 種の硫酸塩はいずれも日本薬局方及び食品添加物・指定添加物リストに収載されており、十分なヒトでの使用実績があり安全性が確認されていることから新たな毒性試験は実施しなかった。

2.4.2　薬理試験

本剤の効力を裏付ける試験は実施していないが、以下の各情報から本剤の腸管内洗浄効果が示唆されている。

BLI800 を用いた反復経口投与毒性試験では、ラット（1.25、2.5 及び 5 g/kg/日）及びイヌ（1.25、2.5 及び 5 g/kg/日）において用量依存的に下痢などがみられ、腸管拡張などの浸透圧に起因する下痢などが誘導された（2.4.4.2 及び 2.6.6.3 参照）。

本剤の有効成分である無水硫酸ナトリウム（無水ボウショウ）、硫酸カリウム及び硫酸マグネシウム水和物は、日本薬局方に収載されており、いずれも瀉下作用を有することが古くから知られている。それぞれに関する日本薬局方解説書の記載内容を表 2.4.2-1 に記載する。

表 2.4.2-1　硫酸塩の薬効薬理に関する日本薬局方解説書の記載内容（抜粋）

無水硫酸ナトリウム（無水ボウショウ）	瀉下薬、緩下作用、血液凝固抑制作用。
硫酸カリウム	経口投与により腸管内で解離した硫酸イオンはほとんど吸収されないため、本薬の大量投与は、マグネシウム塩又はナトリウム塩投与の場合と同様に塩類下剤として作用する。硫酸カリウムの瀉下作用は、組織からの水分脱取のほかに、消化管粘膜直接刺激作用に伴う蠕動の亢進もあずかっている。
硫酸マグネシウム水和物	内服において腸管粘膜から吸収されにくいため、腸管内で高張液状態となり、腸内水分及び分泌液の吸収を妨ぐと共に、組織から腸管腔に水分を吸収して貯留させる。そのため、腸壁が刺激され、蠕動運動が亢進し瀉下を招く。

硫酸塩に関する文献報告では、ニワトリに硫酸ナトリウムを飲水投与すると糞中水分量が増加したこと [2] 並びにラット及びブタに硫酸ナトリウムを経口投与すると下痢が誘導されたことが報告されている [3),4)]。また、硫酸イオンの消化管吸収には吸収飽和となる閾値があると考えられており、過剰な硫酸イオンは消化管で吸収されずに糞便中に排泄される。硫酸ナトリウム十水和物 18.1 g（無水和物として 8.0 g 相当）をヒトに単回経口投与すると全例で激しい下痢が生じたと報告されているが、同量を分割投与（1 時間おきに 4 回）すると下痢は穏やかであり又は全く発生せず、投与後 72 時間の累積尿中遊離型硫酸イオン量は単回投与と比較して増加傾向を示したとされている [5]。すなわち、硫酸イオンは短時間では吸収されにくいため消化管内

で瀉下作用を示したと考えられている。

安全性薬理試験は実施していないが、イヌを用いた 28 日間反復経口投与毒性試験（1.25、2.5 及び 5 g/kg/日）において心血管系への影響評価として心電図評価が実施されており、BLI800 投与による影響はないことが示されている。

2.4.3　薬物動態試験

2.4.3.1　吸収

試験は実施していないが、本剤の有効成分である硫酸塩は、硫酸イオン、ナトリウムイオン、カリウムイオン及びマグネシウムイオンに解離した状態で存在すると推定され、経口投与後の吸収に関して以下の報告がなされている。

硫酸イオンは、消化管において短時間に吸収されることはなく、能動的に緩徐に吸収されるが、吸収飽和となる閾値があると考えられており、過剰な硫酸イオンは消化管で吸収されず便中に排泄される[5),6),7)]。また、ナトリウムイオン及びカリウムイオンは腸管（特に小腸）から容易に吸収されると報告されている[8),11)]。マグネシウムイオンの腸管からの吸収率は、成人で平均摂取量が約 300～350 mg/日の場合約 30%～50%であり、必要量のマグネシウムイオンは腸管から吸収される[8)]。

2.4.3.2　分布

試験は実施していないが、各イオンの分布に関して以下の報告がなされている。

硫酸イオンは吸収されにくいが、一旦吸収されると、少なくともその一部は、軟骨及び他の組織中の硫酸化ムコ多糖類、脳のミエリン膜の構成成分であるセレブロシド硫酸といった構成成分として生体に組み込まれる[10)]。ナトリウムイオンは、ヒト体内におよそ 100 g 存在するが、細胞外液及び骨格にそれぞれ 50%及び 40%分布している。当該イオンは細胞外液量を維持すると共に、胆汁、膵液及び腸液などの材料となる[8)]。細胞の浸透圧維持に大きな役割を果たしているカリウムイオンは、生体内の各組織に分布し、98%が細胞内に、残り 2%が細胞外液に存在し、生体内濃度は腎臓における糸球体ろ過、尿細管からの再吸収、及び排泄により厳密にコントロールされている[9),11)]。マグネシウムイオンは、骨や歯の形成並びに多くの体内の酵素反応やエネルギー産生に寄与しており、生体内のマグネシウムイオンの 50%～60%は骨に存在する[8)]。また、米国で実施された健康成人、腎疾患患者及び肝疾患患者を対象とした BLI800 の薬物動態試験では、ナトリウムイオン、カリウムイオン及びマグネシウムイオンの血清中濃度は、BLI800 の投与による影響を受けないことが確認されている[1)]。この結果は、本剤の投与が、これらの陽イオンの分布並びにホメオスタシスに影響を及ぼさないことを示唆している。

2.4.3.3 代謝

試験は実施していないが、前述のとおり（2.4.3.2 参照）以下の報告がなされている。

硫酸イオンは、軟骨及び他の組織中の硫酸化ムコ多糖類、脳のミエリン膜の構成成分であるセレブロシド硫酸といった構成成分として生体に組み込まれると共にその一部は、硫酸抱合体に代謝され、多くの生理活性物質（ステロイド、神経伝達物質、胆汁酸など）の生体内変換並びに生体外異物（フェノール、薬物、重金属など）の解毒/代謝に関与している[10]。

ナトリウムイオン、カリウムイオン及びマグネシウムイオンは、生体内に分布し各器官、組織の構成要素となると共に体液の浸透圧維持に重要な役割を担っている。

2.4.3.4 排泄

試験は実施していないが、各イオンの排泄に関して以下の報告がなされている。

[^{35}S]標識硫酸ナトリウムをラットに腹腔内又は静脈内投与すると、投与量の 75%～85%が尿中に、約 10%が胆汁又は糞中に排泄され、吸収された血中硫酸イオンは腎臓から尿中に速やかに排泄される[7),12),13),14)]。ナトリウムイオン排出の 90%以上は腎臓経由による尿中排泄であり、ナトリウムイオンは糸球体でろ過された後、尿細管と集合管で再吸収され、最終的には糸球体ろ過量の約 1%が尿中に排泄される。糸球体におけるろ過作用と尿細管における再吸収が体内のナトリウムイオンの平衡を保持している[8)]。摂取されたカリウムの 80%～90%は尿に排泄され、残りは糞便に排泄される。アルドステロンの影響下でカリウムをろ過、再吸収、排泄することができる腎臓が正常な血清中濃度を維持している。イオン化カリウムはイオン化ナトリウムの代わりに尿細管交換機構により排泄される[11)]。食事等によってマグネシウムイオン 370 mg/日が経口摂取された場合、内因性のものを含め 100 mg/日が尿中に、270 mg/日が糞便中に排泄されるとの報告がある[15)]。

2.4.4 毒性試験

本剤の非臨床安全性に関しては、有効成分である硫酸塩が同一比率で配合されている BLI800 のラット及びイヌを用いた反復投与毒性試験により評価した。また、2.4.1 に記載したように、単回投与毒性及び局所刺激性についても、反復投与毒性試験の成績を用いて評価した。BLI800 の毒性試験の一覧は表 2.4.1-1 に示したとおりである。

本剤の予定臨床投与経路は経口であることから、毒性試験の投与経路として経口投与を選択した。最高用量は、硫酸塩の脱イオン水における溶解性（0.33 g/mL）、並びにラット及びイヌにおける標準的な最大投与容量（15 mL/kg）を考慮して、投与可能な最大用量である 5 g/kg/日を設定した。また、本剤の 1 回の大腸内視鏡検査の前処置における臨床使用は最長 2 日間であり、有効成分である硫酸塩の最大一日臨床用量は約 44.48 g（無水硫酸塩として）を予定している。ヒト体重を 60 kg とすると体重換算用量は約 0.74 g/kg であり、毒性試験の最高用量（5 g/kg/日）はヒト用量の約 6.74 倍に相当する。本剤は大腸内視鏡検査の前処置として使用され、頻回に又は長期間にわたり使用される薬剤ではないことから、反復投与毒性試験の投与期間は 4 週間（28 日）と設定した。

なお、リン酸塩を有効成分とする同効薬において腎機能への影響が懸念されたため、リン酸ナ

トリウム（oral sodium phosphate、OSP）を投与する群を、ラットを用いた毒性試験の陽性対照に設定した。

2.4.4.1　単回投与毒性試験

単回投与毒性試験は実施していないが、BLI800 の急性毒性を反復投与毒性試験の成績から評価した。BLI800 のラット及びイヌを用いた 7 日間用量設定試験及び 28 日間反復投与毒性試験において、技術的に投与可能な最高用量である 5 g/kg/日で良好な忍容性がみられ、死亡が認められなかったことから、いずれの動物種においても概略の致死量は 5 g/kg 超と推定した。

2.4.4.2　反復投与毒性試験

2.4.4.2.1　ラットを用いた毒性試験

ラットを用いた 28 日間反復投与毒性試験（試験番号[redacted]-382037 ; 4.2.3.2-2）では、脱イオン水に溶解した BLI800 を 1.25、2.5 及び 5 g/kg/日の用量で 1 群雌雄各 10 例の Crl:CD（SD）系ラットに 1 日 1 回 28 日間反復経口投与した。更に、陽性対照として OSP を 5.13 g/kg/日の用量で、雌雄各 10 例のラットに 1 日 1 回 28 日間反復経口投与した。

BLI800 群では良好な忍容性が認められ、生存率、体重、摂餌量及び眼科学的検査において、BLI800 投与に関連した影響は認められなかった。主な一般状態の変化として腹部膨満及び糞便異常（軟便及び下痢）がみられ、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、及び病理組織学的検査では、浸透圧負荷に対する恒常性維持のための代償性生理反応と考えられる変化がみられたが、いずれも浸透圧下剤に予想される薬理作用に関連した変化であることから、毒性変化ではないと判断した。

OSP 群では忍容性はみられず、雄 8 例、雌 7 例に瀕死・死亡が認められた。OSP 投与により既知の腎毒性が発現し、病理組織学的検査では腎臓の尿細管変性及び鉱質沈着が認められた。死亡動物の主な死因は、腎不全に関連したものと推察された。

以上のことから、本試験において BLI800 投与により OSP 投与でみられた腎障害は認められず、BLI800 の無毒性量（NOAEL）は最高用量の 5 g/kg/日と考えられた。

2.4.4.2.2　イヌを用いた毒性試験

イヌを用いた 28 日間反復投与毒性試験（試験番号[redacted]-382039 ; 4.2.3.2-4）では、脱イオン水に溶解した BLI800 を 1.25、2.5 及び 5 g/kg/日の用量で、1 群雌雄各 3 例のビーグル犬に 1 日 1 回 28 日間反復経口投与した。本試験では良好な忍容性が認められ、生存率、体重、摂餌量、眼科学的検査、心電図検査、臨床検査、剖検、器官重量、及び病理組織学的検査において、BLI800 投与に関連した影響は認められなかった。一般状態の変化として、嘔吐及び異常便（軟便、粘液便及び下痢）の発現頻度の増加が認められた。これらの変化は、浸透圧性下剤に予想される局所の生理作用と考えられ、毒性変化ではないと判断した。

以上のことから、本試験の NOAEL は最高用量の 5 g/kg/日と考えられた。

2.4.4.3　局所刺激性試験

BLI800 のラット及びイヌを用いた 28 日間反復経口投与毒性試験の剖検及び病理組織学的検査では、最高用量の 5 g/kg/日群においても BLI800 の局所刺激性を示唆する消化管の変化は認められなかった。したがって、BLI800 に局所刺激性はないものと判断した。

2.4.5　総括及び結論

本剤の非臨床薬理作用、薬物動態及び毒性を、公表文献及び本剤の予定市販製剤と溶液中有効成分を同一比率で配合した BLI800 を用いた非臨床試験により評価した。

本剤と硫酸塩組成が同一の製剤である BLI800 の反復経口投与毒性試験において、BLI800 はラット及びイヌに対して用量依存的に下痢などを誘導した。また、本剤の有効成分である無水硫酸ナトリウム、硫酸カリウム及び硫酸マグネシウム水和物は日本薬局方に収載されており、いずれも瀉下作用を有することが古くから知られている。更に、他の文献報告でも硫酸塩による瀉下作用が示されており、その作用は主として消化管で吸収されなかった硫酸イオンが浸透圧成分として作用すると考えられている。一方、BLI800 の反復経口投与毒性試験において、BLI800 はイヌの心血管系に影響を及ぼさなかった。

以上より、本剤は腸管洗浄効果を発揮する硫酸塩配合剤であり、心血管系への影響は低いことが示唆された。

本剤の有効成分である無水硫酸ナトリウム、硫酸カリウム及び硫酸マグネシウム水和物は、製剤液体中ではいずれも解離して硫酸イオン、ナトリウムイオン、カリウムイオン及びマグネシウムイオンとして存在していると考えられることから、それらの薬物動態に関して文献報告から考察した。

硫酸イオンの消化管からの吸収には閾値があると考えられており、短時間で経口投与された場合、硫酸イオンの多くは吸収されず糞便中に排泄される。この際、腸管内で硫酸イオンが浸透圧成分として作用することにより本剤の腸管洗浄作用が発揮される。一部、吸収された硫酸イオンは軟骨や他組織のムコ多糖類の構成成分として利用されると共に生理活性物質や薬物を含む生体外異物の硫酸抱合に利用される。血中の遊離型硫酸イオンの多くは尿中に排泄され、一部は胆汁を介して糞便中に排泄される。

経口投与後のナトリウムイオン及びカリウムイオンは、いずれも主に小腸で容易に吸収され生体内に広く分布し、各器官、組織の構成要素となると共に体液の浸透圧維持に重要な役割を担っている。いずれも主に尿中に排泄される。一方、マグネシウムイオンの消化管からの吸収は限られており、投与されたマグネシウムイオンのほとんどが吸収されず糞便中に排泄される。一部、吸収されたマグネシウムイオンは骨や歯の形成並びに多くの体内の酵素反応やエネルギー産生に利用される。

なお、米国で実施された健康成人、腎疾患患者及び肝疾患患者を対象とした BLI800 の薬物動態試験で、ナトリウムイオン、カリウムイオン及びマグネシウムイオンの血清中濃度は、BLI800 の投与による影響を受けないことが確認されており、本剤の投与が、これらの陽イオンの分布並びにホメオスタシスに影響を及ぼさないことを示唆している。

本剤の毒性は、有効成分である無水硫酸ナトリウム、硫酸カリウム及び硫酸マグネシウム水和

物を無水和物として本剤と同一比率で含有する BLI800 を被験物質として Braintree 社が実施した反復投与毒性試験の成績より評価した。なお、本剤の有効成分である 3 種の硫酸塩はいずれも日本薬局方収載品であり、各成分は既に下剤などの医薬品として承認されており、安全性は確認されていることから新たな毒性試験は実施しなかった。

BLI800 のラット及びイヌを用いた 28 日間反復投与毒性試験では、良好な忍容性がみられた。一般状態において BLI800 の薬理作用に起因した下痢などの症状並びに下痢に対する恒常性維持のための代償性変化と考えられる臨床検査値の変動がみられたが、BLI800 投与に関連した毒性学的意義のある変化は認められなかった。ラット及びイヌのいずれにおいても NOAEL は 5 g/kg/日と判断した。BLI800 の毒性試験における用量は予定最大一日臨床用量の約 6.74 倍であり、投与期間も予定臨床使用期間を十分に上回るものであったことを考慮すると、BLI800 の非臨床毒性試験成績から本剤の臨床使用を妨げるような安全性上の懸念はないものと考えられた。

以上、本剤は腸管洗浄効果があり安全に臨床使用できる硫酸塩配合剤であると考えられた。

2.4.6　参考文献

1) Pelham RW, Alcorn H Jr, Cleveland Mv. A pharmacokinetics evaluation of a new, low-volume, oral sulfate colon cleansing preparation in patients with renal or hepatic impairment and healthy volunteers. J Clin Pharmacol. 2010;50:350-4.

2) Adams AW, Cunningham FE, Munger LL. Some effects on layers of sodium sulfate and magnesium sulfate in their drinking water. Poult Sci. 1975;54(3):707-14.

3) Krijgsheld KR, Frankena H, Scholtens E, Zweens J, Mulder GJ. Absorption, serum levels and urinary excretion of inorganic sulfate after oral administration of sodium sulfate in the conscious rat. Biochim Biophys Acta. 1979;586:492-500.

4) Backer LC. Assessing the acute gastrointestinal effects of ingesting naturally occurring, high levels of sulfate in drinking water [Review]. Crit Rev Clin Lab Sci. 2000;37(4):389-400.

5) Cocchetto DM, Levy G. Absorption of orally administered sodium sulfate in humans. J Pharm Sci. 1981;70(3):331-3.

6) Brady CE, DiPalma JA, Morowski SG, Santa Ana CA, Fordtran JS. Urinary Excretion of Polyethylene Glycol 3350 and Sulfate After Gut Lavage With a Polyethylene Glycol Electrolyte Lavage Solution. Gastroenterology. 1986;90:1914-8.

7) Life Sciences Research Office Federation of American Societies for Experimental Biology: Evaluation of the Health Aspects of Sulfuric Acid and Sulfates as Food Ingredients, Contact No. FDA 223-75-2004, 1975.

8) 日本人の食事摂取基準（2015 年版）. 1-7 ミネラル（1）多量ミネラル. 厚生労働省（PDF）. Available from: https://www.mhlw.go.jp/stf/shingi/0000041824.html

9) 食品安全委員会. 添加物評価書（硫酸カリウム）. 2013. p. 14.

10) Markovich D. Physiological roles and regulation of mammalian sulfate transporters. Physiol Rev. 2001; 81(4): 1499-533.

11) Whitmire SJ. カリウム. In: Mahan LK and Escott-Stump S. 他 48 名（執筆編集），木村修一，香川靖雄（日本語版監修），食品・栄養食事療法辞典. 11th ed. 東京: 産調出版; 2006. p.172.

12）Dziewiatkowski DD. Rate of excretion of radioactive sulfur and its concentration in some tissues of the rat after intraperitoneal administration of labeled sodium sulfate. J Biol Chem. 1949; 178(1):197-202.

13）Everett NB, Simmons BS. The distribution and excretion of S35 sodium sulfate in the albino rat. Arch Biochem Biophys. 1952;35(1):152-6.

14）Abernathy CO, Dooley IS, Wu J. Sulfate: exposure and potential regulation. Crit Rev Clin Lab Sci. 2000; 37(4):401-5.

15）de Baaij JHF, Hoenderop JGJ, Bindels RJM. Magnesium in man: Implications for health and disease. Physiol Rev. 2015;95:1-46.