NPF-08

2.6.6 毒性試験の概要文

日本製薬株式会社

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 4
2.6.6.3 反復投与毒性試験 4
2.6.6.4 遺伝毒性試験 7
2.6.6.5 がん原性試験 7
2.6.6.6 生殖発生毒性試験 7
2.6.6.7 局所刺激性試験 8
2.6.6.8 その他の毒性試験 8
2.6.6.9 考察及び結論 8
2.6.6.10 参考文献 8

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

2.6.6　毒性試験の概要文

2.6.6.1　まとめ

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の 3 種の硫酸塩を含有する新医療用配合剤である。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。

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 2.6.6.1-1、表 2.6.6.1-2）。

表 2.6.6.1-1　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

表 2.6.6.1-2　毒性試験で使用した BLI800 の組成

成分	無水塩含有比率
Na_2SO_4	35.02
K_2SO_4	6.26
$MgSO_4$	3.2
総量	44.48

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。

反復投与毒性試験の最高用量は、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。

ラットを用いた28日間反復投与毒性試験では、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、臨床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、毒性変化は認められなかった。したがって、本試験の無毒性量（NOAEL）は最高用量の5 g/kg/日と考えられた。
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、浸透圧性下剤で予想される局所の生理作用と考えられる嘔吐及び異常便（軟便、粘液便及び下痢）の発現頻度の増加が認められた。したがって、本試験のNOAELは最高用量の5 g/kg/日と考えられた。
これら反復投与毒性試験成績より、ラット及びイヌにおいて最高用量である5 g/kg/日で良好な忍容性がみられ、一般状態においてBLI800の薬理作用に起因する下痢並びに下痢に対する代償性の生理反応がみられたが、BLI800に関連する毒性変化は認められず、いずれの動物種においてもNOAELは5 g/kg/日と判断した。また、投与部位である胃及び薬効発現部位である大腸を含む消化管全域の評価において局所刺激性は認められなかった。なお、1回の大腸内視鏡検査の前処置における本剤の臨床使用は最長2日間であり、最大一日臨床用量は、有効成分を無水硫酸塩として換算して約44.48 g（480mL製剤を2本）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。

2.6.6.2 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超と考えられた。

2.6.6.3 反復投与毒性試験

2.6.6.3.1 ラットを用いた反復投与毒性試験

2.6.6.3.1.1 ラットを用いた7日間用量設定試験

（試験番号[redacted]-382036；4.2.3.2-1、概要表2.6.7.6）

本試験は、BLI800のラットにおける最大耐量を求めることを目的として実施した。脱イオン水に溶解したBLI800を5 g/kg/日（近似浸透圧は101 mmol/kg/日）の用量で1群雌雄各3例のCrl:CD

(SD) 系ラットに 1 日 1 回 7 日間反復経口投与した。更に、1 群雌雄各 3 例のラットを用いて媒体対照群及び陽性対照群を設定し、媒体対照群には脱イオン水を 15 mL/kg の投与容量で、陽性対照群には OSP を 5.13 g/kg/日 (10 mL/kg) の用量で、1 日 1 回 7 日間反復経口投与した。一般状態の観察、体重及び摂餌量測定、剖検及び腎臓の病理組織学的検査を実施した。

いずれの群においても瀕死・死亡は認められなかった。一般状態の変化として、BLI800 群及び OSP 群の雄雌で腹部膨満、異常糞便 (軟便、下痢)、並びに腹側、後肢及び下腹部等の黄色又は褐色物質付着が認められた。BLI800 群では体重及び摂餌量の変化はみられず、剖検及び腎臓の病理組織学的検査で異常は認められなかった。一方、OSP 群では、雄で体重増加の抑制、雌雄で摂餌量の減少が認められた。剖検では腎臓の淡色化、腫大及び皮髄境界部の変色、病理組織学的検査では腎臓の皮質、髄質及び乳頭尿細管に鉱質沈着が認められた。追加検討において、コッサ染色 [1] を用いた病理組織学的検査、及び偏光顕微鏡を用いた負の複屈折性の検討から、腎臓の鉱質沈着はリン酸カルシウムである可能性が示唆された。

以上のことから、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た。

2.6.6.3.1.2 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、概要表 2.6.7.7.1)

本試験は、BLI800 の反復経口投与における毒性プロファイルを評価し、OSP の毒性と比較することを目的として実施した。脱イオン水に溶解した BLI800 を 1.25、2.5 及び 5 g/kg/日 (近似浸透圧は 25.3、50.5 及び 101 mmol/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、1 群雌雄各 10 例の媒体対照群及び陽性対照群を設定し、媒体対照群には脱イオン水を 15 mL/kg の投与容量で、陽性対照群には OSP を 5.13 g/kg/日 (近似浸透圧は 91 mmol/kg/日) の用量で、同様に 1 日 1 回 28 日間反復経口投与した。一般状態の観察、体重及び摂餌量測定、眼科学的検査、血液学的検査、凝固系検査、血液生化学的検査、尿検査、剖検、器官重量測定及び病理組織学的検査を実施した。

BLI800 群では瀕死・死亡は認められなかった。一般状態の変化として、腹部膨満、糞便異常 (軟便、下痢、糞量減少) 及び下腹部の黄色又は褐色物質付着が認められた。これらの変化は浸透圧性下剤である BLI800 で予測される生理作用に関連した変化と考えられた。投薬に関連した体重及び摂餌量への影響はみられず、眼科学的検査で異常は認められなかった。

血液学的検査では、5 g/kg/日群の雄で好中球数及び単球数の増加が認められた。血液生化学的検査では、1.25 g/kg/日以上の群の雌雄でクロールの減少、雌で血清浸透圧の減少、2.5 g/kg/日以上の群の雌雄でカリウムの減少、雄で重炭酸塩の増加、雌でナトリウムの減少、5 g/kg/日群の雌雄でグロブリンの減少及び A/G 比の増加、雌で総たん白の減少が認められた。尿検査では、1.25 g/kg/日以上の群の雌雄でナトリウムの増加、2.5 g/kg/日群の雄及び 2.5 g/kg/日群の以上の群の雌でカリウムの増加、5 g/kg/日群の雌雄で pH の増加がみられ、代謝性アルカローシスが示唆された。これらの臨床検査値の変動は、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た。凝固系検査で異常は認められなかった。

剖検では BLI800 投与に関連した異常は認められなかった。器官重量の変化として、5 g/kg/日群の雄で胸腺重量の減少がみられたが、関連する病理組織学的変化は認められなかった。病理組

繊学的検査では、1.25 g/kg/日以上の群の雄及び5 g/kg/日群の雌で副腎皮質の空胞化、1.25 g/kg/日以上の群の雌雄で結腸の拡張、雄で空腸の拡張が用量依存的に認められた。いずれの変化も、浸透圧負荷による腸管における水分又は電解質バランスの不均衡、並びにそれに伴う適応性変化と考えられ、毒性変化ではないと判断した。

OSP群の雄10例中8例、雌10例中7例に瀕死又は死亡が認められた。これらの動物の一般状態の変化として、体躯又は四肢の冷触感、皮膚弛緩、自発運動低下、平衡障害、間欠性振戦、呼吸数減少又は努力性呼吸、部分閉眼（両眼／片眼）、腹臥位及び削痩が認められた。これらの変化は、主に病理組織学的検査でみられた腎不全に関連した二次的変化と考えられた。生存例の一般状態の変化として、軟便、下痢、糞量減少、腹部膨満、及び体表に黄色、赤色又は褐色物質付着が認められた。雄では、投与期間中を通して体重増加の抑制又は体重減少、及び摂餌量の減少が認められた。

血液学的検査では、雌で白血球数、好中球数、単球数及び大型非染色細胞数の増加が認められた。血液生化学的検査では、雌でリン及び重炭酸塩の増加、アルブミン、総たん白、グロブリン、クロール、カルシウム及びカリウムの減少が認められた。尿検査では雌雄でナトリウムの増加及びカリウムの減少が認められた。

剖検では腎臓の淡色化及び皮髄境界部の変色が認められた。器官重量の変化として胸腺重量の減少が認められた。病理組織学的検査では、腎臓の尿細管変性及び鉱質沈着、胃及び大動脈の鉱質沈着、心臓の心筋変性、肝臓の肝細胞壊死、空腸及び結腸の拡張が認められた。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。なお、腎臓の鉱質沈着は、偏光顕微鏡検査によりリン酸カルシウムであることが示唆された。

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NOAELは最高用量の5 g/kg/日（101 mmol/kg/日）と考えられた。

2.6.6.3.2　イヌを用いた反復投与毒性試験

2.6.6.3.2.1　イヌを用いた7日間用量設定試験

（試験番号[redacted]-382038；4.2.3.2-3、概要表2.6.7.6）

本試験は、BLI800の反復経口投与における忍容性及び毒性プロファイルを評価することを目的として実施した。脱イオン水に溶解したBLI800を5 g/kg/日（近似浸透圧は101 mmol/kg/日）の用量で1群雌雄各2例のビーグル犬に1日1回7日間反復経口投与した。媒体対照群には、脱イオン水を同様に投与した。7日間の投与期間終了後に、すべての動物を安楽死処分した。すべての動物の死亡及び瀕死は1日2回観察した。一般状態の観察、体重及び摂餌量測定、剖検及び腎臓の病理組織学的検査を実施した。

本試験では瀕死・死亡は認められなかった。一般状態の変化として、雌雄で異常便（軟便、粘液便及び下痢）、嘔吐（時に飼料、白色物質、透明物質又は黄色物質を含む）及び口腔周囲に透明湿潤白色泡沫物質付着の発現頻度の増加が認められた。いずれの変化も浸透圧性下剤で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。体重及び摂餌量の変化はみられず、剖検及び腎臓の病理組織学的検査（偏光顕微鏡検査を含む）で異常は認められなかった。

以上のことから、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た。

2.6.6.3.2.2 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、概要表 2.6.7.7.2）

本試験は、BLI800 の反復経口投与における毒性プロファイルを評価することを目的として実施した。脱イオン水に溶解した BLI800 を 1.25、2.5 及び 5 g/kg/日（近似浸透圧は 25.3、50.5 及び 101 mmol/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。媒体対照群には、脱イオン水を 15 mL/kg/日の投与容量で同様に反復経口投与した。一般状態の観察、体重及び摂餌量測定、眼科学的検査、心電図検査、血液学的検査、凝固系検査、血液生化学的検査、尿検査、剖検、器官重量測定及び病理組織学的検査を実施した。

本試験では瀕死・死亡は認められなかった。一般状態の変化として、すべての BLI800 群で嘔吐（飼料、又は白色、黄色又は透明物質を含む）、口腔周囲に透明湿潤物質付着、流涎過多、口腔周囲白色泡状物質付着、過度の摂水及び異常便（軟便、粘液便及び下痢）が用量依存的に認められた。これらの変化は、浸透圧性下剤で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。BLI800 投与に関連した体重及び摂餌量の変化はみられず、眼科学的検査及び心電図検査で異常は認められなかった。血液学的検査、凝固系検査及び血液生化学的検査では、BLI800 投与に関連した変化は認められなかった。尿検査では、BLI800 群でナトリウム及び pH の変動がみられたが、他の尿検査値及び腎機能パラメータ、並びに関連する腎臓の病理学的変化がみられていないことから、採尿中（16 時間畜尿）の糞便混入による影響と考えられ、毒性変化ではないと判断した。剖検、器官重量及び病理組織学的検査で異常は認められなかった。腎臓の偏光顕微鏡検査では、複屈折性物質は認められず、鉱質沈着は発現していないものと考えられた。

以上のことから、本試験の NOAEL は最高用量の 5 g/kg/日（101 mmol/kg/日）と考えられた。

2.6.6.4 遺伝毒性試験

遺伝毒性試験は実施していない。なお、本剤の有効成分はいずれも日本薬局方及び食品添加物・指定添加物リスト収載品であり、遺伝毒性の懸念はないものと考えられている。

2.6.6.5 がん原性試験

がん原性試験は実施していない。本剤の予定臨床使用期間は最大 2 日間であり、間欠的に繰り返し使用されることも想定されないことから、がん原性試験の実施は不要と考える。なお、本剤の有効成分はいずれも日本薬局方及び食品添加物・指定添加物リスト収載品であり、発がん性の懸念はないものと考えられている。

2.6.6.6 生殖発生毒性試験

生殖発生毒性試験は実施していない。本剤の有効成分はいずれも日本薬局方及び食品添加物・指定添加物リスト収載品であり、発生毒性の懸念はないものと考えられている。また、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、いずれの動物種においても雌雄生殖

器への影響を示唆する変化は認められなかった。更に、本剤は既に海外で市販されており、安全性情報に生殖発生毒性を示唆する報告はない。しかしながら、米国における胎児リスク分類はPregnancy category Cであり、妊婦への本剤投与におけるリスクは不明とされていることから、本邦の添付文書では「治療上の有益性が危険性を上回ると判断される場合にのみ投与すること」と記載する予定である。また、授乳婦に関しては、本剤の乳汁移行は不明であり授乳中の女性への投与は注意が必要とされていることから、添付文書では「治療上の有益性及び母乳栄養の有益性を考慮し、授乳の継続又は中止を検討すること」と記載し注意喚起する予定である。

2.6.6.7 局所刺激性試験

局所刺激性試験は実施していない。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考える。

2.6.6.8 その他の毒性試験

その他の毒性試験は実施していない。

2.6.6.9 考察及び結論

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、各成分は既に下剤等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等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。

2.6.6.10 参考文献

1) von Kossa J. Uber die im organismus kunstlich erzeugen verkalkungen. Beitr Path Anat. 1901; 29:163–202.